

**CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, FÍSICO-  
QUÍMICAS E SENSORIAIS DE BEBIDA  
FERMENTADA DE LICHIA (*Litchi chinensis*  
Sonn)**

**JULIANA ALVARENGA ALVES**

**2009**

**JULIANA ALVARENGA ALVES**

**CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E  
SENSORIAIS DE BEBIDA FERMENTADA DE LICHIA (*Litchi  
chinensis* Sonn)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
Lavras como parte das exigências do curso de  
Mestrado em Ciência dos Alimentos, para a  
obtenção do título de “Mestre”.

**Orientador**

**Prof. Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS- BRASIL  
2009**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Alves, Juliana Alvarenga.

Características químicas, físico-químicas e sensoriais de bebida fermentada de lichia (*Litchi chinensis* Sonn) / Juliana Alvarenga

Alves. – Lavras : UFLA, 2009.

169 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Luiz Carlos de Oliveira Lima.

Bibliografia.

1. Lichia. 2. *Litchi chinensis* Sonn. 3. Bebida fermentada. 4. *Saccharomyces cerevisiae*. 5. Fermentação espontânea. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 664.024

**JULIANA ALVARENGA ALVES**

**CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E  
SENSORIAIS DE BEBIDA FERMENTADA DE LICHIA (*Litchi  
chinensis* Sonn)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, para obtenção a do título de “Mestre”.

**APROVADA em 03 de março de 2009**

**Profa. Dra. Rosane Freitas Schwan**

**UFLA**

**Prof. Dr. Disney Ribeiro Dias**

**UNILAVRAS**

**Prof. Dr. José Guilherme Lembi F. Alves**

**UFLA**

**Prof. Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima - UFLA  
(Orientador)**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS- BRASIL**

*A Deus,*

*Aos meus pais, Sônia e Zezé;*

*Aos meus irmãos, André e Fernando;*

*Ao meu sobrinho, Pedro;*

*Ao meu esposo, Cristiano;*

*À minha avó, Dalva;*

***Dedico este trabalho.***

## **AGRADECIMENTO**

A vitória que hoje parece fácil é o resultado de pequenas vitórias que passaram despercebidas. Por isso agradeço...

Primeiramente a Deus, por ter colocado em minha vida pessoas que muito contribuíram para minha conquista e concretização deste trabalho. E, principalmente, por iluminar meus passos e me fortalecer espiritualmente nos momentos mais difíceis que enfrentei nesta jornada.

Àqueles a quem dediquei este trabalho, reforço meu carinho e eterno agradecimento por ser minha fonte de inspiração.

Ao meu orientador pela orientação, amizade e confiança em mim depositada.

À co-orientadora, Profa. Dra. Rosane Freitas Schwan, pelo apoio, atenção e disponibilidade incondicional em todos os momentos em que precisei e por ter me oferecido condições para desenvolver este trabalho nos Laboratórios de Microbiologia e Fisiologia de Microrganismos do Departamento de Biologia - DBI/UFLA, meus sinceros agradecimentos.

Ao co-orientador, prof. Disney Ribeiro Dias, agradeço pela sua prestimosa ajuda na realização deste trabalho e pela atenção e disponibilidade para me atender sempre que precisei.

À FAPEMIG, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, pelo apoio financeiro.

A Cidinha, do Laboratório de Microbiologia, pela realização das análises cromatográficas, pela paciência, dedicação e seriedade em seu trabalho.

Aos alunos e funcionários do Laboratório de Microbiologia DBI/ UFLA, principalmente a Ivani, Danielle e Gabriela, agradeço imensamente pelo apoio durante minha estadia em seus laboratórios. Em especial ao Washley, pela ajuda nas análises cromatográficas e por todas as vezes que me ajudou a sanar dúvidas.

Aos meus colegas do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Pós-Colheita de Frutos e Hortaliças, Rita, Susana, Dani, Luizinho, Edson, Juliana Audi e Andréa, pela convivência, momentos de descontração e longas horas de convívio, meus agradecimentos.

Ao prof. Dr. Mário César Guerreiro, pela utilização do CG-EM para realização das análises de perfil volátil das bebidas fermentadas, e ao Cleiton, pela ajuda na realização destas análises e das análises quimiométricas.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para que esse trabalho chegasse ao fim.....

Muito Obrigada!!!!!!!!!!!!!!

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO GERAL .....	i
GENERAL ABSTRACT .....	iii
CAPÍTULO 1: Bebida fermentada de fruta e fermentação.....	1
1 Introdução geral .....	2
2 Referencial teórico.....	4
2.1 Lichia .....	4
2.1.1 Escurecimento do pericarpo.....	6
2.2 Bebida alcoólica obtida por fermentação.....	7
2.2.1 Breve histórico.....	7
2.3 Processo fermentativo.....	8
2.3.1 Fermentação alcoólica .....	8
2.3.1.1 Fermentação espontânea .....	11
2.3.1.2 Fermentação inoculada .....	12
2.3.1.3 Fermentação malolática .....	13
2.4 Vinho e vinificação .....	14
2.5 Produtos da fermentação- a constituição do vinho .....	14
2.5.1 Álcoois .....	15
2.5.1.1 Etanol .....	15
2.5.1.2 Glicerol .....	16
2.5.1.3 Metanol .....	17
2.5.1.4 Álcoois superiores.....	17
2.5.2 Compostos carbonílicos.....	20
2.5.3 Ácidos orgânicos.....	20
2.5.4 Ésteres.....	22
2.5.5 Compostos sulfurados.....	24
2.5.6 Compostos nitrogenados.....	25
2.5.7 Lactonas.....	25
2.5.8 Fenóis voláteis .....	26
2.6 Classificação dos vinhos.....	27
2.7 Etapas da vinificação .....	29
2.7.1 Esmagamento e desengaçamento.....	29
2.7.2 Mosto .....	29
2.7.3 Chaptalização.....	30
2.7.4 Sulfitação .....	30
2.7.5 Colagem.....	33
2.7.6 Trasfega .....	33

2.7.7 Filtração .....	33
2.7.8 Atesto .....	34
2.8 Bebida fermentada de frutas .....	34
2.9 Perfil volátil .....	37
2.9.1 Tipos de aroma.....	38
2.9.1.1 Aroma varietal .....	39
2.9.1.2 Aroma pré-fermentativo .....	39
2.9.1.3 Aroma fermentativo.....	40
2.10 Microextração em fase sólida (SPME) para análise em vinhos.....	40
3 Referências bibliográficas.....	45
CAPITULO 2 Características químicas, físico-químicas e sensoriais de bebida alcoólica de lichia ( <i>Litchi chinensis</i> Sonn) elaborada por fermentação espontânea e inoculada.....	
1 Resumo .....	61
2 Abstract.....	62
3 Introdução .....	63
4 Material e métodos.....	65
4.1 Matéria-prima .....	65
4.1.1 Obtenção da polpa .....	65
4.1.2 Rendimento em polpa .....	65
4.1.2 Caracterização química da polpa .....	65
4.2 Procedimentos experimentais para a produção de bebida alcoólica fermentada.....	68
4.2.1 Preparo do mosto .....	68
4.2.1.1 Chaptalização.....	68
4.2.1.2 Autoclavagem .....	69
4.2.1.3 Tratamento enzimático .....	69
4.2.1.4 Sulfitagem.....	69
4.2.1.5 Inoculação .....	70
4.2.1.6 Fermentação.....	70
4.3 Obtenção da bebida.....	71
4.3.1 Colagem.....	71
4.3.2 Trasega .....	71
4.3.3 Filtração .....	71
4.4 Análises das bebidas fermentadas de lichia .....	72
4.4.1 Análises físico-químicas .....	72
4.4.1.1 Teor alcoólico. ....	72
4.4.1.2 Acidez total titulável.....	72
4.4.1.3 Acidez volátil.....	73
4.4.1.4 Anidrido sulfuroso total e livre.....	73
4.4.1.5 Extrato seco a 100 °C.....	73
4.4.2 Álcoois, ácidos orgânicos, aldeídos, ésteres e carboidratos.....	74

4.4.3 Variáveis de resposta do bioprocesso .....	75
4.4.3.1 Fator de rendimento da produção de etanol ( $Y_{P/S}$ ).....	76
4.4.3.2 Produtividade em etanol ( $P_{et}$ ).....	76
4.4.3.3 Eficiência fermentativa ( $E_f$ ).....	76
4.4.4 Análise sensorial.....	76
4.4.5 Análise estatística.....	77
5 Resultados e discussão.....	78
5.1 Caracterização da polpa de lichia.....	78
5.2 Análises dos mostos durante a fermentação.....	80
5.3 Análises realizadas nas bebidas fermentadas de lichia.....	90
5.3.1 Caracterização físico-química das bebidas.....	90
5.3.1.1 Análises quimiométricas.....	97
5.3.2 Composição química das bebidas fermentadas de lichia.....	100
5.3.2.1 Ácidos orgânicos.....	100
5.3.2.2 Álcoois, aldeídos e ésteres.....	106
5.3.3 Análises quimiométricas.....	113
5.4 Análise sensorial das bebidas fermentadas de lichia.....	116
6 Conclusões.....	121
7 Referências bibliográficas.....	122
CAPÍTULO 3 Efeito da fermentação espontânea e inoculada com diferentes linhagens de leveduras sobre o perfil volátil de bebidas fermentadas de lichia ( <i>Litchi chinensis</i> Sonn).....	133
1Resumo.....	134
2Abstract.....	135
3 Introdução.....	136
4 Material e métodos.....	138
4.1 Elaboração da bebida fermentada de lichia.....	138
4.1.1 Preparo do mosto.....	138
4.2 Extração dos compostos voláteis.....	140
4.3 Identificação dos compostos voláteis.....	141
5 Resultados e discussão.....	143
5.1 Perfil volátil das bebidas fermentadas de lichia.....	143
5.2 Análises quimiométricas.....	153
6 Conclusões.....	158
7 Referências bibliográficas.....	159
Anexos.....	164

## RESUMO GERAL

ALVES, Juliana Alvarenga. **Características químicas, físico-químicas e sensoriais de bebida fermentada de lichia (*Litchi chinensis* Sonn)**. 2009. 169p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

A lichia (*Litchi chinensis* Sonn) é um fruto que possui um grande valor nutricional, porém, devido a seu caráter perecível e à sazonalidade da sua produção, o excedente deve ser processado rapidamente para evitar perdas. Assim, como uma alternativa para evitar desperdícios decorrentes da baixa vida útil deste fruto, além de agregar valor ao mesmo, foi estudada a elaboração de bebida fermentada de lichia utilizando três leveduras *Saccharomyces cerevisiae* selecionadas (UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174) e fermentação espontânea. A fermentação dos mostos de lichia, conduzidos por diferentes agentes fermentativos, foi monitorada diariamente através das análises de sólidos solúveis, pH, acidez titulável, etanol, sacarose, glicose e frutose. Ao término da fermentação as bebidas foram submetidas às análises químicas (ácidos orgânicos, carboidratos, álcoois, ésteres e aldeídos), físico-químicas (grau alcoólico, acidez volátil, acidez total, extrato seco, SO<sub>2</sub> livre e SO<sub>2</sub> total) e à análise sensorial. O perfil de compostos voláteis das quatro bebidas fermentadas também foi comparado. As bebidas elaboradas apresentaram diferente composição quanto aos constituintes analisados com maiores variações quantitativas que qualitativas. Os resultados das análises físico-químicas das bebidas fermentadas de lichia mostram que somente a bebida fermentada com a levedura UFLA CA1183 apresentou resultados dentro do limite estabelecido pela Legislação Brasileira para vinho. As quatro bebidas apresentaram perfis voláteis distintos. A levedura UFLA CA1183 apresentou um perfil volátil mais complexo, produziu compostos que não foram identificados nas outras bebidas. A análise sensorial, através da escala hedônica, indicou que as bebidas fermentadas pelas leveduras UFLA CA1183 e UFLA CA116 obtiveram notas superiores, com índices de aceitabilidade acima de 75%. A análise dos componentes principais separou as bebidas em dois grupos de acordo com os compostos analisados. Através das análises de composição química, físico-química e sensorial, a bebida produzida pela inoculação com a levedura UFLA

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: Luiz Carlos de Oliveira Lima – DCA/UFLA (Orientador), Rosane Freitas Schwan – DBI/UFLA (Co-Orientadora), Disney Ribeiro Dias - UNILAVRAS (Co-orientador).

CA1183 mostrou-se como a mais indicada para a produção da bebida fermentada de lichia.

## GENERAL ABSTRACT

ALVES, Juliana Alvarenga. **Chemical, physical-chemical and sensory characteristics of fermented alcoholic beverage from lychee (*Litchi chinensis* Sonn)**. 2009. 169p. Dissertation (Master in Food Science)-Federal University of Lavras, Lavras, MG.<sup>2</sup>

The lychee (*Litchi chinensis* Sonn) is a fruit that has a high nutritional value, but due to their perishable nature and seasonality of production, the excess must be processed quickly to avoid losses. Thus, as an alternative to prevent waste arising from the low shelf-life of this fruit, and add value to it, we studied the preparation of fermented beverage of lychee, using three selected yeast *Saccharomyces cerevisiae* (UFLA CA116, UFLA CA1183 and UFLA CA1174) and spontaneous fermentation. The fermentation of lychee, conducted by different fermentative process, was monitored through daily analysis of soluble solids, pH, titratable acidity, ethanol, sucrose, glucose and fructose. At the end of fermentation the drinks were subjected to chemical analysis (organic acids, carbohydrates, alcohols, esters and aldehydes), physico-chemical (alcohol (° GL), volatile acidity, total acidity, dry extract, free SO<sub>2</sub> and total SO<sub>2</sub>) and sensory analysis. The profile of volatile compounds from four fermented beverages was also compared. Beverages produced had different composition as the major constituents analyzed with quantitative changes to qualitative. The results of physico-chemical analysis of fermented beverages of lychee showed that only the beverage inoculated with yeast UFLA CA1183 presented results within the limits established by Brazilian Legislation for wine. The four beverages had distinct volatile profiles. The yeast UFLA CA1183 volatile profile showed the more complex, produced compounds that were not identified in other beverages. The sensory evaluation by hedonic scale, indicated that the fermented beverages by yeasts UFLA CA1183 and UFLA CA116 were higher notes, with acceptance rates over 75%. The analysis of main components separated the drinks in two groups according to the compounds analyzed. Through the analysis of chemical, physical-chemical and sensory, the beverage produced by inoculation with the yeast UFLA CA1183 proved to be the most suitable for the production of the brew of lychee.

---

<sup>2</sup> Guidance Committee: Luiz Carlos de Oliveira Lima – DCA/UFLA (adviser), Rosane Freitas Schwan – DBI/UFLA (Co-adviser), Disney Ribeiro Dias – UNILAVRAS (Co-adviser).

## **CAPÍTULO 1**

### **BEBIDAS FERMENTADAS DE FRUTAS E FERMENTAÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO

Desde 2000 anos a.C., o vinho é uma das bebidas mais apreciadas entre os povos do Oriente e do Ocidente. Embora, tradicionalmente, o vinho seja a bebida fermentada do suco de uvas, muitos países, notadamente europeus, produzem vinhos de frutas. Bebidas fermentadas de frutas constituem produtos promissores devido à tendência de aceitação em pesquisas de consumo, além de contribuírem para a redução de perdas pós-colheita de frutos perecíveis (Sandhu & Joshi, 1995).

Tradicionalmente, a fermentação de vinhos é proveniente de mostos de uvas, que são utilizadas como matérias-primas principais para produção de vinhos. Mas se para países de clima frio estes são os seus vinhos e suas frutas, nós, de clima tropical, temos um enorme potencial vinificável.

Assim, muitos grupos de pesquisa, principalmente nos países tropicais, empregam, naturalmente, os mesmos processos de fabricação, variando as frutas de onde se extraem sucos com açúcares fermentáveis, a exemplos de goiaba, abricó, abacaxi (Sandhu & Joshi, 1995), caju (Torres Neto et al., 2006), maçã (Joshi & Bhutani, 1991; Joshi et al., 1991), manga (Reddy & Reddy, 2005), laranja (Corazza et al., 2001) e jabuticaba (Asquieri et al., 2004). Dias, D. et al. (2003) e Dias et al. (2007) realizaram estudos com diferentes espécies de frutos tropicais como cajá (*Spondias mombin*) e cacau (*Theobroma cacao*), alcançando resultados promissores, demonstrando, dessa forma, mais uma opção para o aproveitamento destes frutos tropicais.

Outro fruto tropical que pode ser usado para produção de bebidas alcoólicas fermentadas é a Lichia (*Litchi chinensis* Sonn). A lichieira é uma planta da família Sapindaceae, originária do sul da China, onde é considerada a fruta nacional. É adaptada às regiões tropicais e subtropicais. Apesar de ter

chegado ao Brasil ainda na época do império, como um presente do imperador chinês a D. Pedro I, essa fruta ainda é desconhecida por grande parte do consumidor brasileiro (Vieira & Wilder, 2000). Ela é perfeitamente adaptada às condições climáticas do Estado de São Paulo, por exemplo Bastos, Taquaritinga, Limeira e outros, onde a produção corresponde a 97% dentre as principais áreas cultivadas com lichia e as culturas pioneiras estão produzindo excelentes safras, com resultados econômicos compensadores. Também é muito encontrada em fundo de quintais, e há plantios também em Minas Gerais (Gomes, 1982; Sacramento et al., 1989).

O pericarpo da lichia contém uma grande quantidade de antocianinas, que são responsáveis pela cor vermelha do mesmo. Desde a década passada, a indústria da lichia tem mostrado uma considerável expansão (Loeillet, 1994). Entretanto, a produção de alta qualidade dos frutos é afetada pela excessiva descoloração da cor vermelha do pericarpo, o qual rapidamente se torna marrom depois da colheita, resultando em uma significativa perda pós-colheita (Snowdon, 1990).

A lichia é um fruto que possui um grande valor nutricional; porém, devido a seu caráter perecível, o excedente de produção deve ser processado rapidamente para evitar perdas. Portanto, a produção de uma bebida fermentada de lichia é uma alternativa para evitar desperdícios decorrentes da baixa vida útil deste fruto, além de agregar valor ao mesmo.

Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar a adequação da lichia para a produção de bebida alcoólica fermentada, bem como avaliar o uso de fermentação espontânea e inoculada com diferentes cepas de leveduras selecionadas sobre as características químicas e sensoriais e o perfil volátil de cada bebida.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Lichia

A lichia é a mais renomada de um grupo de frutas comestíveis da família Sapindaceae, entre elas akee (*Bligia sapida*), longan (*Dimocarpus longan*), rambutam (*Nephelium lappaceum*), pulasan (*Nephelium mutabile*) e fijian logan (*Pometia pinnata*). É considerada em todo mundo como a rainha das frutas, por sua aparência e sabor delicado. Compara-se às melhores frutas, além de ser rica em minerais e vitaminas; tem sabor agradável, lembrando ao da uva ‘Itália’, e apresenta alto valor econômico. É conhecida botanicamente como *Litchi chinensis* Sonn., e por nomes comuns como lychee, litchi, leechie, lichee, lichi e lichia (Martins et al., 2001).

A lichia é originária das baixas províncias de Kwangtung e Fukien, região subtropical do sul da China (Província de Cantão). Assume o mesmo aspecto histórico e cultural para os chineses que a manga para os hindus. A primeira referência que se tem da lichia remonta à época da dinastia Han (140 – 86 a.C.). Encontram-se numerosas referências sobre o fruto da lichia na literatura e poesia chinesas, sendo que, em 1059 d.C, Ts’ai Hsiang fez a primeira monografia sobre esta fruta de que se tem notícia (Martins et al., 2001). Foi introduzida no Brasil por volta de 1810, no Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Gomes, 1982).

A lichieira é uma planta vigorosa e pode chegar a 10-12 m de altura, mas normalmente atinge cerca de 3-5 m, embora plantas de 25-30 anos possam atingir 20 m. As cultivares de lichia são autoférteis e, portanto, frutificam mesmo com uma planta isolada ou mais de uma da mesma cultivar (Donadio, 1987). Além do seu grande porte, vale à pena destacar sua beleza ornamental,

com suas folhas verdes bem escuras, formando um belo contraste na época da colheita.

O ciclo anual de produção inicia com a floração, entre os meses de junho e julho, seguido pelo aparecimento da pequena fruta verde entre os meses de agosto e setembro, finalizando com o amadurecimento e a colheita entre novembro e dezembro. Pode ocorrer uma variação de um a dois meses neste ciclo, de acordo com as condições climáticas da região (Donadio, 1987).

O fruto (Figura 1) é uma drupa de forma, tamanho e peso variáveis, podendo ser arredondado, ovóide ou cordiforme; quanto ao tamanho, pode chegar a 5,0 cm de comprimento por 4,0 cm de largura, com peso variando de 10 a 35 g. Os frutos distribuem-se na periferia da copa. O pericarpo, nas melhores cultivares, é de coloração vermelho brilhante e recoberto por pequenas protuberâncias. A polpa, botanicamente denominada arilo, é branca, translúcida, subácida, sucosa e doce, com consistência que lembra uma uva e com excelente aroma. O caroço, brilhante e marrom-escuro, representa cerca de 10-18% do fruto (Taylor, 1993; Menzel & Simpson, 1994).



**FIGURA 1** Frutos de lichia (*Litchi chinensis* Sonn).

Segundo Martins (1992), o fruto é rico em minerais e vitaminas, contendo, em 100 g de polpa, água (82,1 g), calorias (65 cal), proteína (0,8 g), gorduras (0,4 g), carboidratos (16,3 g), fibras (0,2 g), Ca (10 mg), P (29 mg), Fe (0,3 mg), Na (3 mg), K (170 mg), tiamina (0,6 mg), niacina (0,6 mg), riboflavina (0,6 mg) e vitamina C (50 mg).

A lichia é considerada um fruto não climatérico e, portanto, não continua a amadurecer após a colheita, não apresentando, ainda, resposta ao etileno (Holcroft & Mitcham, 1996). Segundo Akamine & Goo (1973), durante o desenvolvimento dos frutos ocorre declínio na respiração e na produção de etileno, com os frutos imaturos (20 dias depois da antese) apresentando uma taxa respiratória oito a dez vezes maior que a dos frutos maduros ( $20\mu\text{L de CO}_2 \text{ kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  à 25 °C). Durante o amadurecimento, os sólidos solúveis e os açúcares totais aumentam drasticamente. Os principais açúcares em frutos maduros de lichia são a sacarose, a frutose e a glicose (Paull et al., 1984). Tem-se observado, também, aumento nos teores de pectina, total e solúvel em água, durante o amadurecimento, com declínio dos ácidos pécticos solúveis (Singh & Abidi, 1986). A acidez total titulável diminui durante o desenvolvimento e o pH aumenta. Na maturidade, o ácido málico responde por 80% da acidez titulável, enquanto o cítrico e o succínico correspondem aos 20% restantes (Paull et al., 1984). Os compostos voláteis predominantes nos frutos são os  $\beta$ -fenetil álcoois e seus derivados e os terpenóides (Johnston et al., 1980).

### **2.1.1 Escurecimento do pericarpo**

A lichia (*Litchi chinensis* Sonn.) é uma fruta com alto valor comercial no mercado internacional. Entretanto, frutos de lichia perdem rapidamente sua atrativa cor vermelha depois de colhidas devido ao escurecimento superficial do pericarpo. O escurecimento do pericarpo reduz o valor comercial da lichia e tem sido considerado o maior problema pós-colheita (Holcroft & Mitcham, 1996).

Embora esta seja somente uma injúria “cosmética”, que não tem efeito no sabor, torna os frutos impróprios para a venda em mercados da Europa e dos Estados Unidos da América (Holcroft & Mitcham, 1996).

Os consumidores orientais, mais familiarizados com a lichia, consomem frutos com este defeito de aparência. O escurecimento tem sido atribuído à degradação da antocianina devido à ação das enzimas oxidativas, polifenoloxidase (PPO), peroxidase (POD) e ácido ascórbico oxidase (Underhill & Critchley, 1992). Há evidência de que o papel da PPO sobre o escurecimento da lichia é indireto e que ela é ativada pela perda de umidade dos frutos e, portanto, tratamentos para a redução da perda de umidade podem diminuir a ação desta enzima (Taylor, 1993).

## **2.2 Bebida alcoólica obtida por fermentação**

### **2.2.1 Breve histórico**

A origem das bebidas fermentadas deve ser procurada nas próprias origens do homem (Lona, 1997). Segundo Real (1981), não se pode apontar precisamente o local e a época em que o vinho foi feito pela primeira vez. O vinho não teve que esperar para ser inventado: ele estava lá, onde quer que uvas fossem colhidas e armazenadas em um recipiente que pudesse reter seu suco. Provavelmente o vinho é mais antigo que a história, foram encontradas sementes de uvas nas cavernas dos homens pré-históricos.

A história do vinho acompanha a história do homem. A fermentação tem sido realizada como arte durante muitos séculos, pois historiadores acreditam que há 10.000 anos a.C. já se elaborava vinho (Ward, 1991). O processo fermentativo é considerado um dos mais antigos métodos de conservação de alimentos. No período de 2.000 a 4.000 anos a.C. tem-se registro do desenvolvimento da fermentação alcoólica, pelos povos Egípcios e Sumérios,

com emprego na fabricação de vinhos e cervejas (Ward, 1991; Ross et al., 2002).

Embora, por muitos anos, a fermentação tenha sido explorada como método de conservação de alimentos e bebidas, apenas em um passado mais recente é que Louis Pasteur identificou os microorganismos como os responsáveis pelo processo. Pois somente em 1850 ele concluiu que a transformação do açúcar a etanol dependia da existência de células vivas, as leveduras (Pereira Júnior, 1999), amplamente distribuídas na natureza.

Lima et al. (2001) mencionaram que depois da formulação da estequiometria da fermentação em 1815 por Gay-Lussac, Pasteur, em 1863, demonstrou a natureza microbiológica da fermentação alcoólica como um processo anaeróbico e, ainda, que durante as primeiras décadas de 1900 as pesquisas culminaram com a elucidação das reações enzimáticas responsáveis pela transformação química do açúcar em etanol e gás carbônico no interior da levedura. De acordo com Stryer (1996) e Borzani et al. (2001), a via glicolítica completa foi elucidada por volta de 1940, principalmente devido às contribuições de Gustav Embden, Otto Meyerhoff, Cal Neuberg, Jacob Parnas, Otto Warburg, Gerty Cori e Carl Cori.

Com o decorrer do tempo, em função dos avanços das pesquisas houve a necessidade de se buscarem novas tecnologias para obtenção de produtos de valor econômico. Recentemente a fermentação tem emergido como uma tecnologia fundamental e vital, como uma força integrante da biotecnologia moderna.

## **2.3 Processo fermentativo**

### **2.3.1 Fermentação alcoólica**

Dá-se o nome de fermentação ao processo anaeróbico que ocorre com a transformação de açúcares em álcool e gás carbônico, catalisado por enzimas.

Este processo é realizado principalmente por leveduras, em âmbito citoplasmático, com o objetivo de produzir energia, a qual será empregada na realização de suas atividades fisiológicas, e ainda para seu crescimento e reprodução, sendo o etanol tão somente um subproduto desse processo (Lima et al., 2001).

De forma geral pode-se representar a fermentação alcoólica pela Equação de Gay-Lussac, na qual se observa que 1 mol de glicose (180g) produz 2 mols de etanol (92g) e dois mols de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (88g) e 57 kcal de energia (Lehninger et al., 2000; Kolb, 2002).



Na fermentação inicial, o mosto apresenta uma quantidade de oxigênio necessária para a multiplicação inicial das leveduras, na qual se observa somente o crescimento da colônia de levedura. A fermentação principal é iniciada quando o oxigênio do mosto termina, caracterizando-se pela paralisação da produção das leveduras que passam a elaborar enzimas, que reagem com os açúcares, transformando-os em etanol e gás carbônico (Lima, 1983).

A fermentação alcoólica constitui uma das etapas mais importantes para elaboração de vinhos e bebidas fermentadas, podendo ser conduzida com várias leveduras. Mesmo que, em maior ou em menor quantidade, possa intervir certo número de espécies e inclusive de gêneros de leveduras, o papel principal é desempenhado pela *Saccharomyces cerevisiae*, pela alta produção e tolerância a elevadas concentrações de etanol (Barre et al., 2000).

O objetivo primordial da levedura, ao metabolizar o açúcar, é gerar uma forma de energia química (ATP) que será empregada na realização dos diversos

trabalhos fisiológicos e biossínteses necessários à manutenção da vida, crescimento e multiplicação, perpetuando, desta forma, a espécie. O etanol e CO<sub>2</sub> resultantes constituem produtos de excreção, sem utilidade metabólica para a célula em anaerobiose. Entretanto, o etanol e outros produtos de excreção podem ser oxidados metabolicamente, gerando mais ATP e biomassa, mas apenas em condições de aerobiose (Amorim et al., 1996).

Ainda segundo Amorim et al. (1996), durante a fermentação, na seqüência de reações de produção de ATP, rotas metabólicas alternativas aparecem para propiciar a formação de materiais necessários à produção de biomassa (polissacarídeos, proteínas, ácidos nucléicos), bem como para a formação de outros produtos secundários de interesse metabólico, relacionados direta ou indiretamente com a adaptação e a sobrevivência, o que pode vir a reduzir a produção de etanol.

A transformação do açúcar até resultar etanol e gás carbônico envolve 12 reações em seqüência ordenada, cada qual catalisada por uma enzima específica. Tais enzimas sofrem a ação de diversos fatores (nutrientes minerais, vitaminas, inibidores, substâncias do próprio metabolismo, pH e temperatura, entre outros), alguns que estimulam, outros que reprimem a ação enzimática, afetando, assim, o desempenho do processo (Amorim et al., 1996).

Neste sentido, torna-se necessário o acompanhamento da fermentação, e este pode ser feito por meio de medições de teor de °Brix, da temperatura, do tempo de fermentação, do cheiro característico, da acidez e do pH. Pode-se ainda realizar análises microscópicas do inóculo para determinar o rendimento e a produtividade da fermentação e também verificar a produção de compostos secundários (Yokoya, 1995). Sabe-se que os processos fermentativos para produção de bebidas devem ser controlados de forma que os carboidratos sejam assimilados e convertidos a etanol e/ou compostos desejáveis ao processo e, ainda, minimizem a formação de aromas e sabores indesejáveis (Ward, 1991).

A fermentação alcoólica é uma fase decisiva na elaboração do vinho. Todas as qualidades potenciais do vinho existem já na uva e podem exteriorizar-se durante a vinificação ou, então, desaparecer. A fermentação a partir da polpa ou suco de frutas pode ser conduzida de maneira natural (ou espontânea) ou por meio de inoculação de culturas selecionadas.

### **2.3.1.1 Fermentação espontânea**

As fermentações espontâneas são aquelas produzidas de maneira natural, ou seja, realizadas pelas leveduras provenientes das cascas das uvas, sem nenhum tipo de inoculação externa. Isto faz com que as fermentações espontâneas não sejam produto da ação de uma única espécie de levedura, e sim uma sucessão de espécies de leveduras diferentes ao longo do processo fermentativo (Fleet, 1998, 2003; Torija et al., 2001).

Mesmo considerando que as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* são as principais leveduras do vinho, a fermentação espontânea do mosto de uvas é um processo complexo, realizado pela ação seqüencial de diferentes gêneros e espécies de leveduras (Heard & Fleet, 1988) encontradas na uva, no mosto e no vinho e que contribuem para o aroma deste (Lambrechts & Pretorius, 2000).

As fases iniciais do processo de fermentação alcoólica são dominadas pelo crescimento das leveduras não-*Saccharomyces*, caracterizado por um baixo poder fermentativo. Destas, *Hanseniaspora (Kloeckera)* e *Candida* (por exemplo, *Candida stellata*, *C. pulcherrima*) são freqüentemente as principais leveduras (Heard & Fleet, 1985; Pardo et al., 1989). O seu crescimento é significativo e pode influenciar a composição química do vinho. No entanto, a sensibilidade ao etanol limita o crescimento das leveduras nos primeiros dias de fermentação e com concentrações de etanol acima de 5% a 6% (v/v) o seu crescimento diminui rapidamente (Kunkee, 1984). Nestas condições, as linhagens de *S. cerevisiae* e espécies afins, que são mais tolerantes ao etanol e

mais competitivas para o crescimento em meios com alta concentração de açúcar (Querol et al., 1992), tornam-se as leveduras dominantes e concluem o processo. Assim, o estágio final da fermentação espontânea é, invariavelmente, dominado pelo grupo de leveduras álcool-tolerantes, as leveduras *Saccharomyces*. Este grupo consiste de quatro espécies: *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces paradoxus* e *Saccharomyces pastorianus*. Uma vez que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é encontrada quase que exclusivamente nos ambientes fermentativos e é universalmente preferida como iniciadora de fermentações, tornou-se conhecida como *levedura vínica*, sendo a principal responsável pela fermentação alcoólica (Redzepović et al., 2002).

As diferentes e dinâmicas atividades destas leveduras apresentam grande impacto sobre muitos aspectos no processo fermentativo vínico. Algumas espécies são benéficas para a produção do vinho; outras atuam prejudicialmente como microrganismos deteriorantes. A contribuição individual e coletiva destas leveduras selvagens varia de acordo com o número e diversidade de espécies presentes no mosto de fermentação (Pretorius, 2000).

#### **2.3.1.2 Fermentação inoculada**

Pela necessidade de assegurar a fermentação alcoólica, assim como a qualidade e reprodutibilidade das características dos vinhos, muitos produtores têm utilizado culturas puras de leveduras isoladas de seu próprio vinho como cultivos iniciadores. Estas culturas, na forma de leveduras secas ativas, são fornecidas aos produtores e inoculadas no mosto a fim de conduzir a fermentação e o vinho produzido terá, em sucessivas vindimas, as propriedades sensoriais típicas daquela região (González-Perez et al., 1993).

As leveduras selecionadas têm sido utilizadas com excelentes resultados em muitos países, onde os produtos finais obtidos são de qualidade mais uniforme que os produzidos por fermentações espontâneas. Portanto, a seleção

da levedura adequada para cada tipo de fermentação é uma estratégia importante para garantir uma fermentação completa, assim como para melhorar as características finais do vinho. Ainda que seja evidente que a qualidade do vinho esteja associada à variedade e à qualidade da uva, as leveduras podem produzir compostos que proporcionem um toque de distinção ao produto final obtido (Dequin, 2001).

Para a seleção de leveduras é essencial estabelecer suas propriedades enológicas. Existem diferentes critérios de seleção que podem ser divididos em: favoráveis, como tolerância ao etanol, bom rendimento na transformação dos açúcares em etanol, capacidade de crescer em altas concentrações de açúcares; e desfavoráveis, como a produção de sulfeto de hidrogênio, produção de espuma e acidez volátil (Esteve-Zarzo et al., 2000).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é um microrganismo atrativo de se trabalhar por ser não-patogênico e, devido à sua longa história de aplicação na produção de produtos consumíveis, ela foi classificada como *microrganismo geralmente considerado seguro* (GRAS – generally regarded as safe) (Ostergaard et al., 2000).

### **2.3.1.3 Fermentação malolática**

Para a produção de bebidas alcoólicas, a fermentação é fato. A mais importante delas, a fermentação alcoólica, não é um fenômeno isolado durante a degradação do mosto. No caso da obtenção do vinho, especificamente o tinto, e também podendo ocorrer no vinho branco, a fermentação malolática (bioconversão do ácido málico em ácido lático) trata a suavidade da bebida, melhorando-a.

A principal importância da fermentação malolática é normalmente atribuída à redução de acidez e à subida de pH, o que provoca uma melhoria no sabor dos vinhos muito ácidos pela substituição do ácido málico (dicarboxílico e

que constitui mais da metade dos ácidos das uvas), bastante agressivo ao paladar pelo ácido láctico (monocarboxílico) (Ferreira, 1982).

#### **2.4 Vinho e vinificação**

O célebre químico e biólogo Luís Pasteur afirmou que “o vinho é a mais higiênica e saudável das bebidas”. Esta frase simplifica a essência do vinho: é um produto resultado da ação da natureza em toda sua plenitude. O vinho não é uma mistura de diversas matérias-primas, por isso não é um produto fabricado. É resultado da transformação natural dos açúcares do suco da uva em álcool etílico, dióxido de carbono e mais uma centena de outros componentes. Por isso é um produto elaborado, em que o homem simplesmente conduz o processo de modo que nada interfira negativamente sobre ele (Lona, 1997).

Desta forma, sua composição, bem como sua evolução, são diretamente ligadas aos fenômenos bioquímicos. Essa definição permite compreender a extrema complexidade de sua composição química e define, ainda, o valor alimentar do vinho: provinda de células vivas, contém quantidade diluída de elementos necessários à vida (Real, 1981).

#### **2.5 Produtos da fermentação - a constituição do vinho**

As leveduras do vinho durante a fermentação do mosto produzem, como resultado do seu metabolismo, uma grande variedade de compostos ao lado do etanol, o principal produto. Os principais fatores que afetam estes produtos são a espécie da levedura, o tipo de mosto e as condições de fermentação. Estes produtos são liberados durante a fermentação e contribuem para o sabor do vinho, de maneira que a qualidade do vinho depende do tipo destes compostos e suas concentrações. Estes compostos compreendem álcoois superiores, cetonas, aldeídos, ácidos graxos, acetatos e ésteres e, em menor quantidade, compostos

azotados, lactonas, compostos sulfurados e fenóis voláteis (Mauricio et al., 1997).

A diferença entre os vinhos obtidos a partir de um mesmo mosto, fermentado por distintas leveduras, em condições idênticas, deve ser atribuída a estes produtos secundários formados durante a fermentação. Entre esses produtos, os alcoóis e os ésteres desempenham um papel preponderante (Nurgel et al., 2002).

## **2.5.1 Álcoois**

### **2.5.1.1 Etanol**

Segundo Aquarone et al. (1983), o etanol (álcool etílico) é o constituinte mais importante do vinho após a água, que representa cerca de 85% a 90%.

Etanol é um composto formado a partir da via Embden-Meyerhoff-Parnas (EMP) ou via glicolítica. Duas reações relacionadas a essa via conduzem à produção de etanol, por meio da fermentação alcoólica. Na primeira reação, o piruvato é descarboxilado, produzindo acetaldeído e liberando CO<sub>2</sub>. Em uma segunda reação, o acetaldeído é então reduzido para produzir etanol e, ao mesmo tempo, uma molécula de NADH é oxidada a NAD<sup>+</sup> para cada molécula de etanol produzida (Campbell, 2001).

Os compostos do aroma do vinho surgem principalmente durante a fermentação pelas leveduras. O Etanol é o principal componente, seguido por dióis, outros álcoois superiores e ésteres. A presença de etanol é essencial para reforçar as características sensoriais dos outros componentes dos vinhos. O excesso de etanol, no entanto, pode interferir na percepção global do aroma e do sabor do vinho (Swiegers et al., 2005). O etanol determina a viscosidade (corpo) do vinho e atua como fixador de aroma (Mingorance-Carzola et al., 2003).

### 2.5.1.2 Glicerol

O glicerol, propanotriol ou glicerina, é um composto formado em grandes quantidades nas fermentações realizadas por *Saccharomyces cerevisiae*. Sua presença no vinho confere maior viscosidade, textura e doçura (Abbas, 2006). Forma-se no princípio da fermentação, pela redução da diidroxiketona-fosfato a glicerol-fosfato, o qual é fosforilado e gera o glicerol (Lehninger et al., 2000), e a sua proporção depende da quantidade inicial de açúcares, das leveduras e das condições do processo fermentativo (Peynaud, 1989).

A produção de glicerol está envolvida com a regulação da produção de etanol. Em condições normais de crescimento, a maioria da glicose assimilada pela levedura é convertida a etanol. Nesse processo, o  $\text{NAD}^+$  é reduzido a NADH, que será reoxidado durante a redução do acetaldeído para a formação de etanol. Uma pequena porção do NADH é desviada e usada na redução da diidroxiketona-fosfato, a qual é desfosforilada e gera glicerol. Por um mecanismo de retroalimentação, devido ao excesso de etanol, pode haver um desvio de rota e o NADH formado será utilizado para a formação de glicerol em vez de etanol (Berry & Brown, 1987).

A sua formação também está ligada à produção de succinato e de acetato, compostos cuja síntese está acompanhada da produção de NADH (Barre et al., 2000). Para a formação de um mol de succinato e um mol de acetato há, conseqüentemente, produção de 5 e 2 mols de NADH (reduzido), respectivamente. Para restabelecer o equilíbrio redox da célula é necessário o consumo deste NADH, que é feito através da produção do glicerol na proporção de 1:1. A produção de um mol de glicerol consome um mol de NADH. (Madigan et al., 1997).

Ribereau-Gayon (1978) reportam que, por seu sabor doce, quase igual ao da glicose, e por sua untuosidade, o glicerol contribui de forma importante para

as propriedades organolépticas do vinho, que podem ser percebidas com as primeiras impressões gustativas.

### **2.5.1.3 Metanol**

O metanol ou álcool metílico é constituinte naturalmente presente nas bebidas alcoólicas, em quantidades pequenas em relação aos demais componentes. Entretanto, essa afirmação diz respeito à maioria das bebidas, devendo-se dar muita atenção quando se tratar de bebidas elaboradas de frutas (Blinder et al., 1988).

O metanol não é um produto normal da fermentação, ou seja, não é produzido pela levedura, e sim pela hidrólise da pectina metilada presente em algumas matérias-primas. Este processo é catalisado por uma enzima pécica, a pectinametilesterase (PME) (EC 3.1.1.11), que hidrolisa o grupo metil éster da pectina a metanol e poligalacturonato (Zoelein et al., 2001).

De acordo com a Legislação vigente para vinhos (Portaria 229 de 25/10/1988 publicada em 31/10/1988), o máximo permitido desse composto é de 350 mg L<sup>-1</sup>, pois o metanol em concentrações elevadas pode causar intoxicações (Nagato et al., 2001).

No organismo, o metanol é oxidado a ácido fórmico e, posteriormente, a CO<sub>2</sub>, provocando uma acidose grave (diminuição do pH sanguíneo), afetando o sistema respiratório e podendo levar ao coma e até mesmo à morte (Maia, 1994). Sua ingestão, mesmo em quantidades reduzidas, em longos períodos de consumo, pode ocasionar cegueira e a morte (Windholtz, 1976).

### **2.5.1.4 Álcoois superiores**

Os álcoois superiores são álcoois com mais de dois átomos de carbono formados durante o processo oxidativo. A sua formação está ligada ao metabolismo dos aminoácidos, que é fortemente influenciado pela fonte de

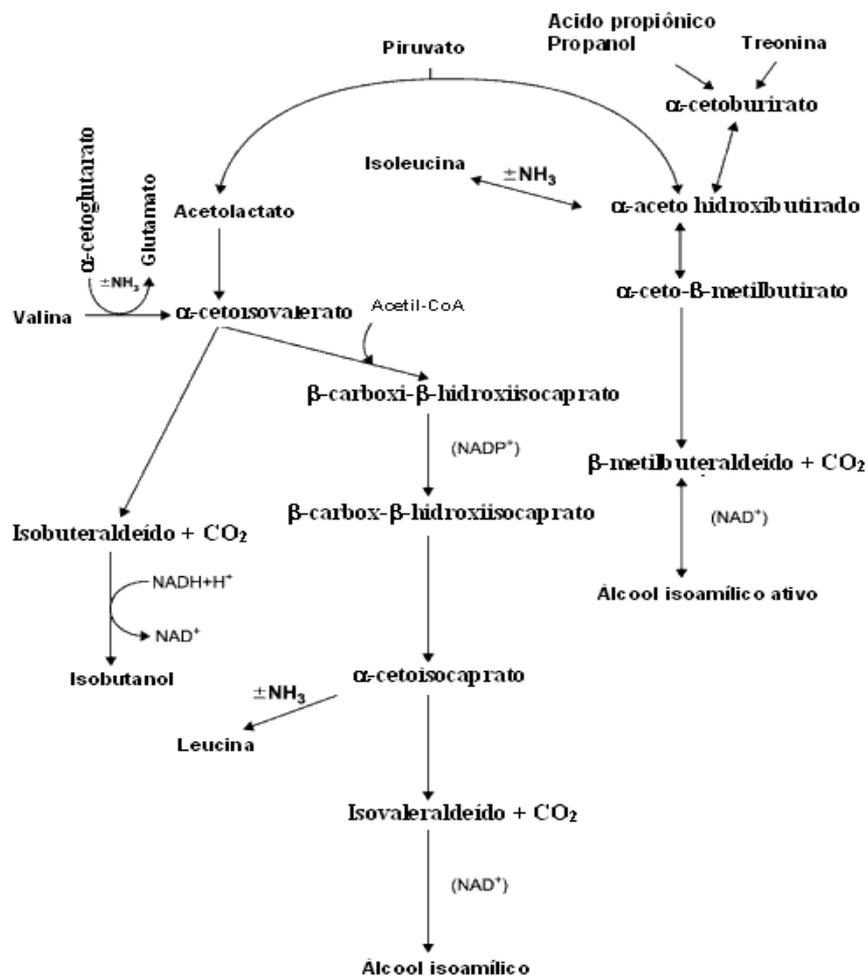
nitrogênio no mosto. Existem duas vias para a biossíntese destes compostos: uma via catabólica dos aminoácidos por descarboxilação, seguida de redução dos alfa-cetoácidos obtidos por transaminação (mecanismo de Ehrlich); e uma via anabólica dos aminoácidos via os  $\alpha$ -cetoácidos correspondentes, a partir dos açúcares. Geralmente as proporções relativas das duas vias são de 25% e 75%, respectivamente (Bayonove et al., 1998).

Os principais álcoois superiores sintetizados durante a fermentação alcoólica são o 1-propanol ou n-propanol, 2-metil-1-propanol ou isobutanol, 2-metil-1-butanol ou álcool amílico, 3-metil-1-butanol ou álcool isoamílico, feniletanol, 2,3-butanediol, butanol e pentanol (Barre et al., 2000). As vias de formação de alguns destes álcoois estão mostradas na Figura 2.

Quando presentes em concentrações muito baixas, os álcoois superiores proporcionam características desejáveis às bebidas; no entanto, concentrações elevadas resultam em aroma forte e sabor picante (Swiegers et al., 2005). Segundo Mateo et al. (2001), concentrações menores que  $300 \text{ mg L}^{-1}$  de álcoois superiores contribuem com o aroma, enquanto concentrações superiores a  $400 \text{ mg L}^{-1}$  influenciam negativamente a qualidade.

Com o aumento do número de carbonos, o aroma modifica-se substancialmente e os álcoois tornam-se oleosos, alguns deles lembram fortemente aroma de flores e são chamados óleo fúsel e diminuem o valor comercial e a qualidade das bebidas fermentadas (Maia, 1994).

Entre as variáveis que afetam a concentração de álcoois superiores formados encontram-se o tipo de levedura, o estado nutricional do mosto, a temperatura da fermentação, o pH, a quantidade de sólidos em suspensão e o oxigênio (Zoecklein et al., 2001).



**FIGURA 2** Formação de álcoois superiores a partir de aminoácidos em leveduras fermentativas. Modificado de Swiergers et al. (2005).

### **2.5.2 Compostos carbonílicos**

Os aldeídos são compostos muito voláteis, de odor penetrante, que afetam o aroma das bebidas alcoólicas. São compostos intermediários da formação dos álcoois, sendo formados pela descarboxilação de oxo-ácidos ou, então, pela oxidação dos respectivos álcoois, como ocorre com o furfural e o hidroximetilfurfural e possuem aroma penetrante e enjoativo (Maia, 1994).

Os compostos carbonilados susceptíveis de influenciar o aroma do vinho são o acetaldeído, a acetoína, o diacetil, a 3-hidroxi-pentano-2-ona, o pentano-2,3-diona, o piruvaleído, o acetol e o feniletanal (Bayonove et al., 1998).

No caso do vinho, atenção especial é dada ao acetaldeído, pois este é o aldeído encontrado em maior quantidade nesta bebida e suas concentrações podem variar de 10 a 300 mg L<sup>-1</sup>, podendo, em algumas bebidas, corresponder a 90% da fração aldeído (Swiergers et al., 2005).

Segundo Façanha (1998), a adição de sais, especialmente sulfitos, altera consideravelmente o curso da fermentação, sendo produzidas grandes quantidades de glicerol e acetaldeído. Vários compostos presentes no vinho ligam-se ao SO<sub>2</sub>, especialmente aqueles que possuem carbonila em sua estrutura. A combinação do SO<sub>2</sub> com os compostos carbonílicos em geral resulta em compostos de adição com baixa estabilidade, à exceção da combinação com o acetaldeído. O acetaldeído reage rapidamente com o sulfito ou o bissulfito formando os ácidos  $\alpha$ -hidroxietanossulfônico (AHES), produto de adição pouco volátil e de pouco odor, justificando também o uso do SO<sub>2</sub> para mascarar o excesso deste aldeído no vinho (Azevêdo et al., 2007).

### **2.5.3 Ácidos orgânicos**

Os ácidos orgânicos são compostos de grande importância, pois têm influência sobre diversas propriedades organolépticas, como aroma, sabor e cor,

e também estão relacionados ao controle da estabilidade microbiológica das bebidas (Mato et al., 2005).

Os ácidos contidos no vinho podem ser provenientes da uva (tartárico, málico e cítrico) ou da fermentação (succínico, láctico, acético, butírico, fórmico, propiônico, carbônico) e estão presente em quantidades que variam de 5 a 7 g L<sup>-1</sup>, o equivalente a 1 - 8% em volume.

Existem outros ácidos orgânicos em pequenas quantidades: galacturônico, glucurônico, glucônico, citramático, dimetilglicérico, pirúvico e cetoglutárico, entre outros (Aqarone et al., 1983).

Os ácidos orgânicos encontram-se nos vinhos sob dois estados: a maior parte na forma livre, e constituem acidez total, e a outra parte na forma combinada ou salificada com as bases do vinho, sendo determinada pela alcalinidade de cinzas. Um vinho pobre em ácidos perde o sabor de maneira a ficar “enjoativo”, ao passo que, com excesso de ácidos, fica “desequilibrado” (Aqarone et al., 1983) Ainda seguindo os conceitos deste autor, a acidez fixa no vinho é basicamente formada pelos ácidos tartárico, málico, láctico, succínico e cítrico.

Durante a fermentação alcoólica são formados mais de uma centena de ácidos orgânicos, sendo que sua origem depende principalmente de três vias do metabolismo da levedura. Um determinado número de compostos como acetato, succinato,  $\alpha$ -cetoglutarato, malato e citrato derivam diretamente do piruvato pelo funcionamento limitado do ciclo dos ácidos tricarbóxicos, sendo que estes ácidos orgânicos têm um efeito direto sobre as características organolépticas do produto acabado e intervêm no valor do pH da bebida fermentada. Outros ácidos orgânicos (ácidos isovalérico e isobutírico) derivam das vias de síntese dos aminoácidos e dos álcoois superiores. A maioria dos ácidos orgânicos restante é produzida durante a via de síntese dos ácidos graxos, a partir de malonil-CoA.

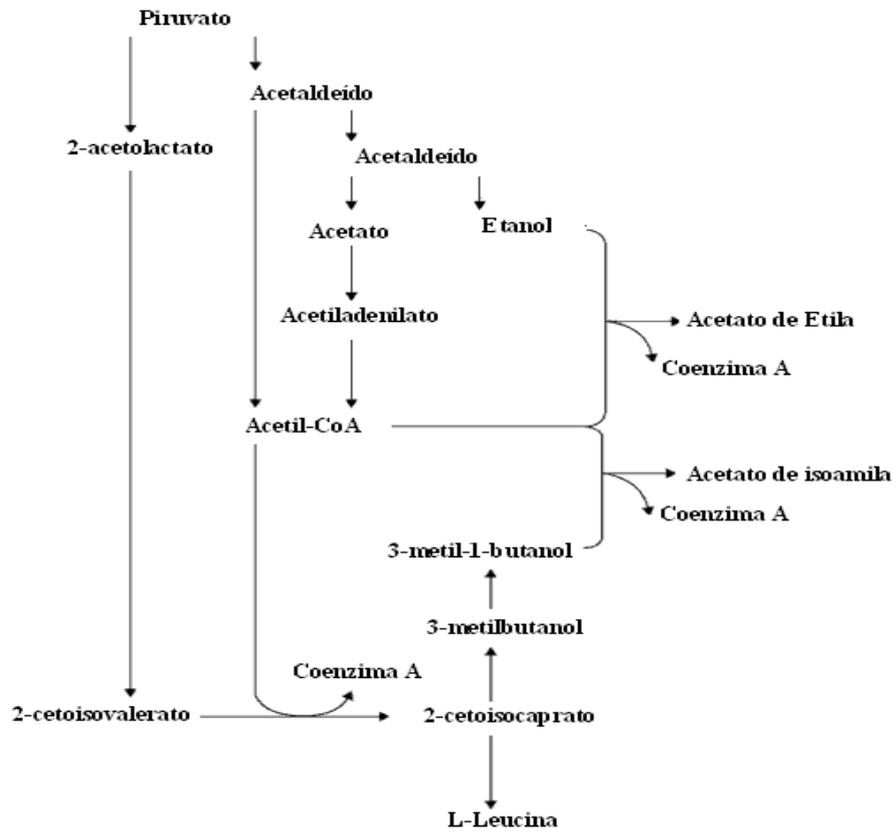
Os ácidos graxos possuem odores considerados negativos, mas a sua concentração raramente atinge o limiar de percepção; eles desempenham, antes, um papel de equilíbrio no aroma fermentativo (Etiévant, 1991).

Ácidos com cadeia de carbono variando entre C3 e C16 são sintetizados pelas leveduras durante a fermentação alcoólica e têm influência sobre o aroma. Os principais ácidos graxos produzidos pelas leveduras durante a fermentação alcoólica são os ácidos palmítico (C16:0), palmitoléico (C16:1), esteárico (C18:0) e oléico (C18:1). Os ácidos de cadeia carbonada mais curta, como capríco (C6:0), ácido caprílico (C8:1) e ácido cáprico (C10:0), são também produzidos por esta via, embora também possam ser derivados pela oxidação de ácidos graxos de cadeia mais longa. São considerados os precursores dos ésteres, compostos de forte impacto sensorial, que representam o maior grupo de substâncias químicas produzidas na fermentação alcoólica (Abbas, 2006).

#### **2.5.4 Ésteres**

Estes compostos, juntamente com os alcoóis superiores, são os principais constituintes do aroma fermentativo. Os ésteres são compostos cuja presença nas bebidas alcoólicas está direta e fortemente ligada ao aroma, sendo considerados os compostos produzidos por leveduras que maior influência tem sobre o aroma das bebidas (Berry & Slaughter, 2003; Abbas, 2006).

Os ésteres etílicos e os acetatos de alcoóis superiores são biogeneticamente derivados do acil-CoA que dão origem aos ésteres etílicos dos ácidos graxos e aos acetatos de alcoóis superiores por alcoólise (Bayonove et al., 1998). A Figura 3 mostra as rotas de formação do acetato de etila e acetato de isoamila



**FIGURA 3** Rota de formação dos ésteres acetato de etila e do acetato de isoamila em leveduras fermentativas. Modificado de Swiergers et al. (2005).

Os éteres etílicos mais importantes para o aroma são os de cadeia curta, e apresentam aroma frutado (Araújo, 2004). Quando presentes em pequenas porções são responsáveis pela incorporação de um aroma agradável de frutas. Por outro lado, em grandes quantidades, confere à bebida um sabor enjoativo e indesejado (Windholtz, 1976). Pelo fato de apresentar odor agradável de frutas, os ésteres são considerados compostos importantes de aroma nas bebidas alcoólicas (Lehtonem & Jounela- Eriksson, 1983).

Swiegers et al. (2005) relatam que vários ésteres estão relacionados ao aroma frutado dos vinhos e os que mais se destacam são o acetato de etila (aroma frutado-solvente), o acetato de isoamila (aroma de pera), o acetato de isobutila (aroma de banana), o etilcaprato (aroma de maçã) e o 2-fenilacetato (aroma de mel, flores, frutas). Entre os ésteres presentes no vinho destaca-se o acetato de etila, o qual, em função da abundante presença de acetil-CoA e etanol, é o éster encontrado em maior concentração em processos fermentativos tradicionais conduzidos por leveduras para elaboração de bebidas alcoólicas (Mamede & Pastore, 2004).

### **2.5.5 Compostos sulfurados**

Os compostos sulfurados são classificados em dois grupos: os de baixo peso molecular e os de peso molecular superior. Para o primeiro, o grupo funcional sulfurado é predominante sobre o odor; eles são conhecidos sobretudo pela ligação a defeitos do aroma (cheiro de “ovo podre”). Para os segundos, também conhecidos por compostos sulfurados superiores, a participação no aroma é mais complexa (Etiévant, 1991; Dubois, 1994).

No grupo dos compostos sulfurados leves de baixo peso molecular detectados no vinho no final da fermentação estão o sulfeto de hidrogênio, o dióxido de enxofre, o sulfeto de carbonila, os metil- e etil-mercaptanos e os seus

tioacetatos, sulfureto e dissulfuretos, respectivamente. Estes compostos encontram-se geralmente no vinho em concentrações muito baixas, mas existem vários fatores que podem aumentar seu teor, nomeadamente a estirpe da levedura, a temperatura de fermentação, a turbidez do mosto e a presença de resíduos fitossanitários (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Os compostos mais abundantes do grupo dos compostos sulfurados superiores são produtos secundários do metabolismo da cisteína, por um lado, e da metionina e da homometionina por outro. Neste grupo encontram-se principalmente o 2-mercaptoetanol e o seu dissulfeto, o 2-metiltio-etanol, o 3-metiltio-propanol (metionol) e o seu acetato, o 3-metiltiopropanal (metional), o ácido 3-metiltiopropanóico e os seus ésteres, a N-(3-metiltiopropil)-acetamida e o 4-metiltiobutanol. Estes compostos participam do aroma do vinho e raramente são responsáveis por defeitos no aroma (Schreier, 1979; Rapp et al., 1985).

#### **2.5.6 Compostos nitrogenados**

Os compostos nitrogenados voláteis mais abundantes do vinho são as acetamidas de aminas primárias e suas aminas correspondentes.

As acetamidas mais abundantes obtidas por acetilação das aminas pela levedura são: N-(2-metilbutil)-acetamida, N-(3-metilbutil)-acetamida, N-(2-feniletil)-acetamida, N-(3-metiltiopropil)-acetamida, N-pentilacetamida e N-etilacetamida (Dubois, 1994; Bayonove et al., 1998).

#### **2.5.7 Lactonas**

As lactonas são compostos aparentados dos hidroxiácidos pois resultam da esterificação intramolecular desses ácidos. Os 4-hidroxiácidos conduzem às  $\gamma$ -lactonas (ciclo com cinco átomos) e os 5-hidroxiácidos, às  $\delta$ -lactonas (ciclo com 6 átomos) (Bayonove et al., 1998).

As lactonas mais abundantes no vinho são as  $\gamma$ -lactonas, que podem ser divididas em duas classes. A primeira classe reúne as  $\gamma$ -butirolactonas, substituídas ou não na posição 4 por grupos alcoxi (etoxi e isopentiloxi), pelos grupos acetil, 1-hidroxietila e pelo grupo carboxi. A segunda classe reúne as 4-alquil- $\gamma$ -lactonas, a 2-hidroxi-3,3-dimetil- $\gamma$ -butirolactona (pantolactona) e a 2-hidroxi-3-metil-2-penteno- $\gamma$ -lactona (soloton). Ainda segundo este autor, as lactonas, com poucas exceções, exercem pouca influência no aroma dos vinhos (Araújo, 2004).

#### **2.5.8 Fenóis voláteis**

Os principais fenóis voláteis produzidos pelas leveduras são o 4-vinilfenol e o 4-vinilgaiacol. São obtidos por descarboxilação enzimática dos ácidos *p*-cumárico e ferrúlico, respectivamente (Araújo, 2004).

A maior parte das leveduras enológicas não tem o mecanismo enzimático capaz de reduzir a dupla ligação dos derivados fenólicos de cadeia lateral insaturada para conduzir aos etilfenóis. A formação desses compostos pode ser atribuída à contaminação por leveduras *Brettanomyces/Dekkera* ou, em quantidades mais baixas, à intervenção de bactérias (Chatonnet et al., 1995). O aumento e a produção do 4-etilfenol são inibidos por aumento da concentração de etanol, sendo inteiramente impedidos para teores de cerca de 13% (v/v) (Dias, L. et al., 2003). As condições de higiene das adegas e tratamentos com anidrido sulfuroso dos barris podem evitar a formação destes compostos (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Em casos extremos, teores elevados destes compostos originam aromas desagradáveis. No entanto, em teores reduzidos, estes compostos podem contribuir para a complexidade aromática e para a qualidade do vinho (Dubois, 1994).

## 2.6 Classificação dos vinhos

O vinho é uma bebida alcoólica fermentada por difusão, que é obtida genericamente pela fermentação alcoólica de um suco de fruta natural madura, principalmente a uva (*Vitis vinifera*). Admite-se, tradicionalmente, que o nome vinho seja reservado só para a bebida proveniente da uva. Para bebidas produzidas por fermentação alcoólica que não sejam da uva, deve-se indicar o nome da fruta, como, por exemplo, o vinho de laranja.

Segundo a Legislação Brasileira (Brasil, 2004), que altera dispositivos da Lei no 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, os vinhos são classificados quanto à classe em: de mesa, leve, fino, espumante, frisante, gaseificado, licoroso e composto. Vinho de mesa é o vinho com teor alcoólico de 8,6% a 14% em volume, podendo conter até uma atmosfera de pressão a 20°C; vinho frisante é o vinho com teor alcoólico de 7% a 14% em volume e uma pressão mínima de 1,1 a 2,0 atmosferas a 20°C, natural ou gaseificado; vinho fino é o vinho de teor alcoólico de 8,6% a 14% em volume, elaborado mediante processos tecnológicos adequados que assegurem a otimização de suas características sensoriais e exclusivamente de variedades *Vitis vinifera* do grupo Nobres, a serem definidas em regulamento; vinho leve é o vinho com teor alcoólico de 7% a 8,5% em volume, obtido exclusivamente da fermentação dos açúcares naturais da uva, produzido durante a safra nas zonas de produção, vedada sua elaboração a partir de vinho de mesa.” Champanha (Champagne), Espumante ou Espumante Natural é o vinho cujo anidrido carbônico provém exclusivamente de uma segunda fermentação alcoólica do vinho em garrafas (método Champenoise/tradicional) ou em grandes recipientes (método Chaussepied/Charmad), com uma pressão mínima de 4 atmosferas a 20°C e com teor alcoólico de 10% a 13% em volume.” Vinho moscato espumante ou Moscatel Espumante é o vinho cujo anidrido carbônico provém da fermentação

em recipiente fechado, de mosto ou de mosto conservado de uva moscatel, com uma pressão mínima de 4 atmosferas a 20°C, e com um teor alcoólico de 7% a 10% em volume, e no mínimo 20 gramas de açúcar remanescente”; vinho gaseificado “é o vinho resultante da introdução de anidrido carbônico puro, por qualquer processo, devendo apresentar um teor alcoólico de 7% a 14% em volume, e uma pressão mínima de 2,1 a 3,9 atmosferas a 20°C”; vinho licoroso “é o vinho com teor alcoólico ou adquirido de 14% a 18% em volume, sendo permitido, na sua elaboração, o uso de álcool etílico potável de origem agrícola, mosto concentrado, caramelo, mistela simples, açúcar e caramelo de uva”; e vinho composto “é a bebida com teor alcoólico de 14% a 20% em volume, elaborado pela adição ao vinho de mesa de macerados ou concentrados de plantas amargas ou aromáticas, substâncias de origem animal ou mineral, álcool etílico potável de origem agrícola, açúcar, caramelo e mistela simples”.

Os vinhos ou fermentados de frutas são divididos em três classes quanto à cor: tinto; rosado, rose ou clarete e branco. No que se refere ao teor de açúcar, os vinhos podem ser divididos em sete classes: nature; extra-brut; brut; seco, sec ou dry; meio doce, meio seco ou demi-sec; suave e doce. A primeira classe apresenta os vinhos do tipo seco, com até 5 g.L<sup>-1</sup>; a segunda, vinhos entre 5 e 20 g.L<sup>-1</sup>, são os do tipo meio seco; e a terceira é a classe dos vinhos suaves, com mais de 20 g.L<sup>-1</sup> (Rizzon et al., 1994). Geralmente, o fermentado de fruta apresenta pH variando entre 3,0 e 4,0. A análise de pH facilita na avaliação da resistência do produto à infecção bacteriana ou tendência a casse férrica. O pH igual a 3,4 é o ideal para que o produto aumente a resistência às infecções (Hashizume, 2001).

Muitos são os tipos de vinhos existentes de acordo com a uva (e a região) de onde provêm, com a concentração alcoólica final, com as condições que sofrem conforme o tipo de fermentação e mesmo com determinadas adições que lhe fazem (Lona, 1997).

## **2.7 Etapas da vinificação**

Por vinificação entende-se aplicação de um conjunto de técnicas e operações conhecidas com o objetivo de se obter o vinho por meio da fermentação controlada do mosto da uva (Rosier, 1995).

### **2.7.1 Desengace e esmagamento**

Desengace é o termo referente à separação das bagas da uva de seu respectivo pedúnculo, pois a presença deste no mosto em fermentação provocaria a produção de vinho de qualidade inferior devido a alta acidez, adstringência e concentração de taninos. Já o esmagamento consiste em uma ação mecânica sobre as bagas de uva para que, delas, extraia-se o mosto (Pato, 1982; Cataluña, 1988).

### **2.7.2 Mosto**

Brasil (1988) define mosto simples de uva como sendo “o produto obtido pelo esmagamento ou prensagem da uva sã, fresca e madura, com a presença ou não de suas partes sólidas”. Ainda define o mosto concentrado, “produto obtido pela desidratação parcial do mosto não fermentado”; o mosto sulfitado, “mosto simples estabilizado pela adição de anidrido sulfuroso ou metabissulfito de potássio”; o mosto cozido, “produto resultante da concentração avançada de mostos, a fogo direto ou a vapor, sensivelmente caramelizado, com um teor de açúcar a ser fixado em regulamento; e o mosto em fermentação, “ao qual poderão ser adicionados os corretivos álcool vínico, e/ou mosto concentrado e/ou sacarose, dentro dos limites e normas estabelecidos em regulamentos.

Mosto é todo líquido capaz de fermentar. O seu preparo tem por objetivo garantir uma qualidade ideal de açúcares fermentescíveis, uma menor

contaminação inicial possível por microorganismos e pH e nutrientes ótimos para o metabolismo da levedura (Aquarone et al., 1983).

### **2.7.3 Chaptalização**

Chaptalização é a prática que consiste na correção da deficiência de açúcar da uva com sacarose, sendo difundida por Jean Antoine Chaptal (1756-1832). Além de favorecer o equilíbrio do vinho através da elevação do grau alcoólico, a chaptalização também contribui na extração dos compostos fenólicos e aromáticos durante a maceração da uva (Chaptal, 1981). A sacarose é o açúcar recomendado para efetuar a chaptalização (Ribéreau-Gayon et al., 1998). A correção do mosto, quando efetuada, não deve incorporar substâncias estranhas ao vinho. A sacarose transforma-se em etanol e produtos secundários da fermentação, o mesmo que ocorre com a glicose e a frutose, ambas presentes no mosto (Rizzon & Miele, 2005). Segundo Ribéreau-Gayon & Peynaud (1964), para elevar o teor alcoólico em um grau GL são necessários, teoricamente, 17 gramas de sacarose por litro, ou 1,7 kg de sacarose por hL de mosto. Esta adição é calculada em função do rendimento fermentativo. Em média, 1°Brix eleva em 0,60 °GL o teor alcoólico da bebida. Portanto, a elevação de 1 °GL requer o aumento dos açúcares do mosto em 1,8 °Brix. Daí, para atingir esses valores são necessários cerca de 25,2 g de açúcar por litro de mosto. Hashizume (1993) também menciona estes valores, comentando que são válidos quando a vinificação ocorre a baixas temperaturas. Este autor cita que, na prática, 1,8 kg de sacarose por hL de mosto elevam o seu grau alcoólico de 1 °GL.

### **2.7.4 Sulfitação**

A utilização de certas substâncias químicas em enologia proporciona melhor domínio ao processo de fermentação e maior segurança de obtenção de bons vinhos. A adição de compostos à base de enxofre ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ou  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ -

metabissulfito de sódio ou potássio e/ou  $\text{KHSO}_3$  - bissulfito de potássio) é o recurso mais utilizado para solucionar os problemas de oxidação e interferências microbianas indesejadas durante a fermentação. A justificativa para a sulfitação é que, no mosto, não existem apenas boas leveduras; assim, a sulfitação tem por objetivo principal inibir o desenvolvimento de microorganismos contaminantes oriundos da fruta (Rosier, 1995; Hashizume, 2001).

A sulfitação do mosto é uma prática bastante importante e necessária na vinificação. O anidrido sulfuroso ou dióxido de enxofre,  $\text{SO}_2$ , é, há muito tempo, empregado como desinfetante. O enxofre é acrescentado ao mosto antes de sua fermentação, com algumas finalidades de: *efeito antioxidante* - protegendo o mosto do oxigênio atmosférico; *efeito antisséptico* - inibindo o crescimento de bactérias e leveduras indesejáveis; exercendo efeito seletivo da flora microbiana, pois o enxofre inibe o crescimento das leveduras não produtoras de álcool e deixam livres as produtoras de álcool; *efeito antioxidásico* - o  $\text{SO}_2$  destrói a oxidase, enzima que catalisa as reações de oxidação; *efeito dissolvente* - facilita a dissolução das matérias corantes, permitindo obter vinhos mais coloridos; e *efeito estimulante* - em doses pequenas exerce um efeito estimulante sobre as leveduras e ativa a reação de transformação do açúcar em álcool e anidrido carbônico, favorecendo a produção de um vinho com maior teor alcoólico e com menos açúcar (Aquarone et al., 1983). Apesar de existirem poucas evidências, acredita-se também que o  $\text{SO}_2$  possa impedir a ocorrência da reação de Maillard nos vinhos. Ele atuaria bloqueando os grupos carbonílicos ativos presentes nos açúcares redutores, aldeídos e cetonas, evitando a condensação entre estes grupos e os aminoácidos e proteínas do vinho e, conseqüentemente, promovendo a paralisação da seqüência desta reação de escurecimento (Azevêdo et al., 2007).

Segundo Martins & Andrade (2002), dependendo do pH do meio irão predominar diferentes espécies de S(IV) em solução aquosa: em soluções cujo pH seja inferior a 1,5 irão prevalecer espécies hidratadas ( $\text{SO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ); em

soluções com pH entre 1,5-6,5 aparecerá com maior destaque a espécie bissulfito ( $\text{HSO}_3^-$ ) e, finalmente, em pH superior a 6,5 predomina a espécie sulfito ( $\text{SO}_3^{2-}$ ). Para o vinho cujo pH varia entre 3,0 e 4,0, a forma predominante é de bissulfito. As diferentes formas das espécies de S(IV) influenciam de diferentes maneiras nas suas propriedades (Tabela 3).

**TABELA 3** Propriedades das diferentes formas das espécies de S(IV) na conservação dos vinhos

<b>Propriedade</b>	<b>SO<sub>2</sub> (livre)</b>	<b>HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> (bissulfito livre)</b>	<b>R-HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> (bissulfito combinado)</b>
Antileveduriana	Forte	Fraco	Nulo
Antibacteriana	Forte	Fraco	Fraco
Antioxidante	Forte	Forte	Nulo
Antioxidásica	Forte	Forte	Nulo
Neutralizador do sabor de acetaldeído	Forte	Forte	Forte

Fonte: Azevêdo et al. (2007).

A dose utilizada de dióxido de enxofre ( $\text{SO}_2$ ) varia em função de alguns fatores: grau de maturação da uva, seu estado sanitário, sua temperatura e seu teor de açúcar e de acidez. A adição  $\text{SO}_2$  pode ser feita na forma de sal ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$  - metabissulfito de potássio) ou gás ( $\text{SO}_2$  gasoso). No Brasil não há obrigatoriedade quanto ao estado físico do  $\text{SO}_2$  a ser utilizado, mas a legislação brasileira permite a dose máxima de  $0,35 \text{ g L}^{-1}$ , em dióxido de enxofre total, no vinho (Brasil, 1988).

### **2.7.5 Colagem**

Segundo Pato (1982), a colagem é um processo que consiste na adição de substâncias, denominadas colas, ao vinho ou ao mosto em fermentação para que se consiga uma boa clarificação da bebida final. As colas podem ter diferentes origens: substâncias albuminóides (clara de ovo, albumina sanguínea, caseína e leite); substâncias gelatinosas (agar, osteocolas e ictiocolas) e substâncias minerais (bentonite, terra espanhola e gesso).

### **2.7.6 Trasfega**

Esta fase consiste na separação das partes sólidas presentes no vinho por sifonação, após a sedimentação de partículas suspensas na bebida fermentada. Esta matéria sólida recebe o nome de borra e é constituída de células de leveduras e bactérias, sais insolúveis e outras matérias insolúveis presentes no mosto (Rizzon et al., 1994).

### **2.7.7 Filtração**

Segundo Peleg et al. (1979) e Peynaud (1984), a filtração é um processo mecânico no qual o material particulado fica retido em um meio filtrante e a bebida, límpida, é recuperada sem que haja perda da qualidade organoléptica. A filtração é uma etapa fundamental na vinificação. É grandemente viabilizada pelos processos de clarificação e colagem, tendo como função tornar o produto final aprazível à visão. Hashizume (1993) cita vários tipos de filtros, como os de terra de diatomáceas e os de placa de celulose. O primeiro é requerido quando há uma turbidez elevada, com grandes partículas em suspensão; já o segundo é utilizado na bebida quase limpa.

### **2.7.8 Atesto**

Atesto é a prática de se encherem completamente os recipientes vinários em períodos freqüentes e regulares com o objetivo de evitar o contato do vinho com o ar (Rosier, 1995).

O vinho é normalmente conservado em recipientes de madeira. Pela ação da evaporação, tende a deixar um espaço vazio, que se torna foco de desenvolvimento de microorganismos aeróbios indesejáveis (Hashizume, 2001). O atesto deve ser realizado com cuidado de forma que o vinho usado apresente a mesma qualidade daquele que está na pipa, evitando, assim, que todo o recipiente seja contaminado (Hashizume, 2001; Meneguzzo et al., 2006).

## **2.8 Bebida fermentada de frutas**

O termo vinho é utilizado para designar a bebida produzida a partir da fermentação do mosto de uva. A aplicação deste termo pode também ser realizada no caso daquelas bebidas fermentadas obtidas pela fermentação de outras frutas, desde que o termo “vinho” seja acompanhado do nome da matéria-prima que deu origem à bebida (Santos et al., 2005).

Teoricamente, qualquer fruto ou vegetal comestível que contenha umidade suficiente, açúcar e outros nutrientes para as leveduras pode servir como matéria-prima para a produção de vinhos com sabores característicos de cada fruta (Vogt & Jakob, 1986).

Diversas frutas têm boas características sensoriais para vinhos e, aliada à necessidade de se ampliar as suas produções e consumo em diversos países, a produção destes “vinhos” alternativos tem sido bastante pesquisada e incentivada.

Segundo (Brasil, 2008) que aprova os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para fermentado de fruta tendo em vista o disposto no do Decreto de nº 2314 de 4 de setembro de 1997, bebida

fermentada de fruta é aquela com graduação alcoólica de 4 a 14 % em volume a 20°C, obtida da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura. Este fermentado pode ser adicionado de açúcares, água e outras substâncias previstas em ato administrativo complementar, para cada tipo de fruta.

Na Tabela 1 podemos observar, de forma geral e simplificada, algumas publicações referentes à elaboração de bebidas alcoólicas fermentadas a partir de frutas.

Bebidas fermentadas de frutas constituem produtos promissores devido à tendência de aceitação em pesquisas de consumo, além de contribuírem para a redução de perdas pós-colheita de frutos perecíveis (Sandhu & Joshi, 1995). Tradicionalmente são empregadas uvas e maçãs na obtenção de bebidas fermentadas. Muitos países, principalmente os europeus, produzem vinhos de frutas pelos mesmos processos de fabricação, sendo a maçã, a pêra, a framboesa e a cereja as mais utilizadas. Nos países tropicais, frutas como laranja, goiaba, abricó, abacaxi, manga (Sandhu & Joshi, 1995) e caju (Torres Neto et al., 2006) fornecem vinhos bastante apreciados e saborosos.

Os dados obtidos até o momento sobre o registro das pesquisas relacionadas a bebidas alcoólicas fermentadas de frutos evidenciam o crescente interesse em desenvolver tais produtos a partir de fontes não convencionais. Portanto, considerando a diversidade de frutos ainda não explorados para estas práticas, sabe-se da possibilidade de um futuro promissor no que tange a sua inserção no mercado de bebidas.

**TABELA 1** Bebidas alcoólicas fermentadas obtidas a partir de frutas.

<b>Bebidas Alcoólicas fermentadas</b>	<b>Autores</b>
Abacaxi ( <i>Ananas comosus</i> L. Merr)	Alian & Musenge (1977), Lima (1992) e Vasquez (1994)
Acerola ( <i>Malpighia puniceifolia</i> L.)	Santos et al. (2005)
Ata ( <i>Annona squamosa</i> L.)	Muniz et al. (2002)
Banana prata ( <i>Musa</i> sp.)	Akubor et al. (2003) e Arruda et al. (2003)
Cacau ( <i>Theobroma cacao</i> L.)	Dias et al. (2007)
Cajá ( <i>Spondia monbim</i> L.)	Dias, D. et al. (2003)
Caju ( <i>Anacardium occidentale</i> L.)	Dias (1996), Façanha (1998), Garrutti (2001) e Torres Neto et al. (2006)
Camu-camu ( <i>Myrciaria dubla</i> Mc. Vaugh)	Maeda & Andrade (2003)
Ciriguela ( <i>Spondias purpurea</i> )	Muniz et al. (2002)
Figo da índia	Lopes & Silva (2006)
Goiaba ( <i>Psidium guajava</i> )	Alian & Museng (1977)
Jaboticaba ( <i>Myrciaria cauliflora</i> Berg.)	Chiarelli et al. (2005) e Silva et al. (2008)
Jaca ( <i>Artocarpus integrifolia</i> Forst)	Tavares Filho et al. (2002)
Kiwi ( <i>Actinidia deliciosa</i> )	Bortoline et al. (2001) e Souflerosa et al. (2001)
Laranja ( <i>Citrus</i> sp.)	Corazza et al. (2001), Chiattonne et al. (2004) e Selli (2007)
Gabiroba	Duarte et al. (2009)

...continua...

Tabela 1 (Cont.)

Manga ( <i>Mangifera indica</i> L)	Reddy & Reddy (2005)
Mangaba ( <i>Hancornia speciosa</i> Gom)	Muniz et al. (2002)
Pupunha ( <i>Bactris gasipaes</i> Kunth)	Pantoja et al. (2001), Andrade et al. (2003) e Sotero et al. (1996)
Tangerina “Murcott” ( <i>Citrus reticulada</i> X <i>Citrus sinensis</i> )	Lima et al. (2004)
Umbu	Melo et al. (2007)

## 2.9 Perfil volátil

O aroma é um importante aspecto da qualidade do vinho. A composição volátil influencia as características sensoriais dos vinhos, especialmente as características aromáticas. Os diferentes componentes do aroma de uvas e vinhos têm sido bastante estudados nos últimos anos. Mais de 800 compostos voláteis, tais como álcoois, ésteres, ácidos orgânicos, fenóis, tióis, monoterpenos e norisoprenóides têm sido encontrados em vinhos, dos quais somente algumas dezenas constituem os odores de caráter de impacto. Voláteis dos vinhos podem refletir influência da variedade, do clima e do solo, entre outros fatores. Assim, eles desempenham um papel decisivo na qualidade e nas características regionais do vinho (Perestrelo et al., 2006).

O aroma é a impressão produzida nos órgãos olfativos pelas partículas odoríferas. Nos mamíferos existem cerca de 1000 receptores olfativos, e este sistema olfativo deve, em teoria, ser capaz de detectar um extraordinário número de odores porque estes interagem com múltiplos receptores em vez de um só, o que possibilita uma infinidade de combinações (Axel, 1995).

Para que uma substância produza cheiro, deve possuir determinadas propriedades: volatilidade, solubilidade em água (uma substância totalmente insolúvel em água não atingirá os terminais do nervo olfativo) e solubilidade em lipídeos (permitindo-lhe penetrar os terminais do nervo olfativo através das camadas de lipídeos que fazem parte da membrana de cada célula) (Peixoto, 1994).

As diferenças na intensidade das sensações olfativas provocadas pelos compostos odoríferos são devidas às interações físico-químicas entre esses compostos e os constituintes fixos e voláteis do vinho, nomeadamente o etanol, os polifenóis, os açúcares e os ácidos, que modificam as suas pressões parciais de vapor e, como tal, as suas concentrações na fase vapor. Contudo, a esses fenômenos físico-químicos juntam-se fenômenos fisiológicos ao nível da mucosa olfativa que podem modificar a percepção olfativa, não apenas ao nível quantitativo (potencialização, ocultação, inibição), mas também qualitativo (Baumes, 1986).

### **2.9.1 Tipos de aroma**

O aroma de um vinho é de uma enorme complexidade devido à grande quantidade de compostos que o compõem. Este aroma é o produto terminal de uma longa seqüência biológica, bioquímica e tecnológica e não apenas o produto da fermentação da uva (Cordonnier & Bayonove, 1978).

O aroma pode ser classificado em quatro tipos diferentes conforme a origem dos compostos que o constituem: aroma varietal – devido aos compostos existentes na uva; aroma pré-fermentativo – resultante da vindima, transporte, prensagem, maceração e clarificação; aroma fermentativo – compostos resultantes das fermentações; e aroma pós-fermentativo – que resulta das transformações ocorridas durante a conservação e envelhecimento.

O aroma varietal e pré-fermentativo também é conhecido por aroma primário; o aroma fermentativo, por secundário; e o pós-fermentativo, por aroma terciário segundo designação atribuída por Peynaud & Blouin (1997).

#### **2.9.1.1. Aroma varietal**

O aroma varietal é parte do aroma ligado à variedade da uva de onde provém. Podem-se distinguir dois tipos de substâncias específicas da variedade: as substâncias odorantes, que passam para o vinho sem transformações e que transmitem sua tipicidade; e as substâncias odoríferas, susceptíveis de revelar um aroma típico durante a fermentação e a conservação. Esta distinção é importante porque induz a noção de precursor de aroma (Cordonnier & Bayonove, 1978).

O aroma varietal de um vinho depende não só da variedade da uva de onde provém, mas também do solo, do clima, do sistema de condução e das fertilizações. Estes fatores, ao poderem influenciar a maturação das uvas, vão ter efeito no aroma.

#### **2.9.1.2 Aroma pré-fermentativo**

Os aromas de origem pré-fermentativa formam-se desde a colheita das uvas até o início da fermentação alcoólica, no decorrer das operações de recolha, transporte, desengace, prensagem, aquecimento da vindima e maceração.

Os efeitos mecânicos destes tratamentos vão permitir, ao se dilacerarem os bagos, que os sistemas enzimáticos entrem em contato com os substratos existentes. Por outro lado, estes tratamentos têm como consequência a incorporação de oxigênio ao meio, fornecendo o segundo substrato implicado nas reações de oxidação enzimática (Bayonove et al., 1998).

### **2.9.1.3 Aroma fermentativo**

Os constituintes do aroma fermentativo são formados pela levedura no decorrer da fermentação alcoólica e pelas bactérias lácticas no caso de ocorrer a fermentação malolática.

Um grande número de compostos voláteis são formados e modulados pelas leveduras durante a fermentação alcoólica, que tem um impacto significativo sobre o sabor e a qualidade geral dos vinhos (King et al., 2008).

Ésteres, álcoois superiores e ácidos voláteis são também grupos de compostos aromáticos voláteis produzidos por leveduras durante a fermentação. Ésteres, acetatos, e especificamente ésteres etílicos de ácidos graxos, estão presentes em todos os vinhos e contribuem, em geral, para a característica “frutada” que influencia significativamente o aroma e a qualidade do vinho (Swiegers et al., 2005).

O composto volátil produzido em maior quantidade pela fermentação alcoólica é o etanol. Ele tem um papel importante na percepção olfativa, quer pela participação direta no odor, quer pela influência que exerce sobre os outros constituintes do aroma ao fazer diminuir a polaridade do meio. Os outros constituintes do aroma fermentativo obtido pelos metabolismos glicídicos, nitrogenados, lipídico e sulfurado pertencem às seguintes famílias químicas: álcoois, ácidos graxos voláteis e respectivos ésteres, compostos carbonilados, compostos sulfurados, compostos nitrogenados, lactonas e fenóis voláteis (Araújo, 2004).

### **2.10 Microextração em Fase Sólida (SPME) para análise de voláteis em vinhos**

A determinação da fração volátil é normalmente realizada por cromatografia gasosa (CG), uma técnica que, nos últimos anos, tem feito grandes avanços. No entanto, convém salientar que, apesar disso, na maioria dos casos a determinação por cromatografia em fase gasosa deve ser precedida por

uma etapa prévia de preparação das amostras (Castro et al., 2008), e na etapa de preparação de amostras, há a interferência de alguns fatores como o teor de voláteis, a complexidade dos aromas, a diferença de volatilidade entre os compostos e a instabilidade térmica dos mesmos. Além disso, sendo o teor de voláteis frequentemente baixo, na ordem de partes por milhão ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ), há a necessidade de não somente isolá-lo, mas de concentrá-lo. Outro fator importante é que a complexidade dos aromas (que incluem compostos de polaridades bastante distintas e variação da volatilidade) exige técnicas diferenciadas para cada faixa de volatilidade (Medeiros et al., 2000).

Microextração em fase sólida (SPME, do inglês *Solid Phase Micro Extraction*) é uma técnica de extração desenvolvida por Pawliszyn (Pawliszyn, 1997) no início da década de 90. Tem como base a criação de uma partição de equilíbrio dos analitos entre uma fase estacionária polimérica, que abrange uma fibra de sílica fundida, e a matriz da amostra (Figura 3). Esta técnica não requer o emprego de solventes orgânicos, eliminando, assim, todos os inconvenientes implicados. É uma técnica simples, rápida e barata em que os processos de extração e concentração são realizados simultaneamente. Além disso, apenas pequenos volumes de amostra são necessários. O dispositivo pode ser acoplado facilmente a um sistema de cromatografia gasosa e, com algumas modificações, a um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Castro et al., 2008).

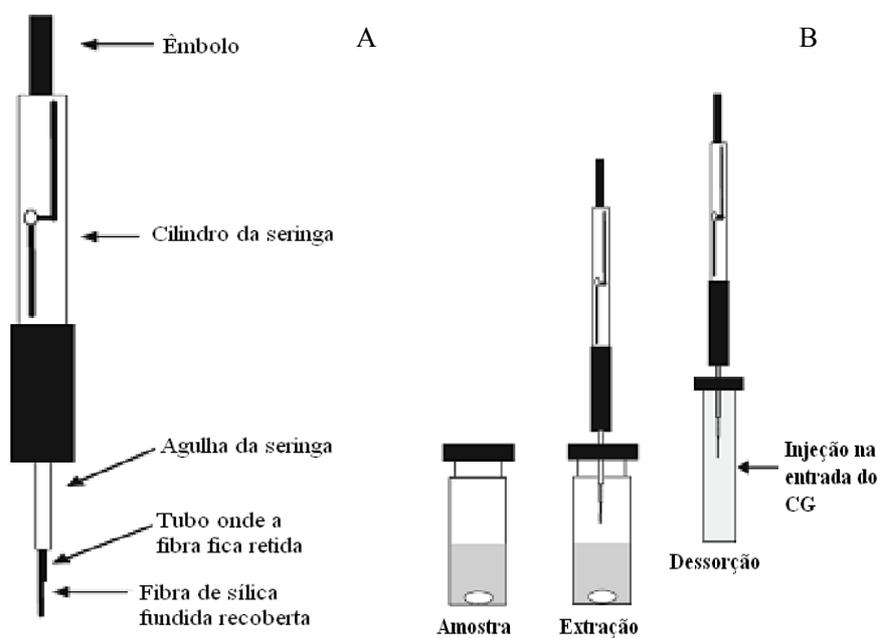
Microextração em fase sólida compreende duas fases: extração e dessorção (Figura 3) (Cela et al., 2002). Na primeira fase, a amostra é colocada em um frasco. O frasco é selado com um septo e uma cápsula. A agulha da seringa com a fibra dentro dela perfura o septo. Então, por acionamento do êmbolo, a fibra entra em contacto com a amostra aquosa ou com o headspace que existe acima do líquido. Após um determinado tempo, a fibra é retirada e adicionada de volta para a agulha e a seringa é retirada do frasco de amostragem.

Na etapa de desorção, imediatamente a seguir, a seringa é inserida no injetor de um instrumento analítico (CG ou HPLC), onde os analitos serão dessorvidos termicamente ou por uma solução na fase móvel, de acordo com a técnica instrumental empregada. Esta fase de desorção leva 1-2 minutos para ser concluída. Em HPLC o injetor padrão deve ser substituído por um dispositivo especial (Castro et al., 2008).

Em 1998, a microextração em fase-sólida headspace (HS-SPME) foi estudada e otimizada para a análise em cromatografia gasosa (GC) de compostos do aroma de vinhos (De La Calle et al., 1998) e os resultados foram comparados com aqueles obtidos utilizando o modo direto de amostragem (DI-SPME) através de extração líquido-líquido. Os resultados obtidos utilizando as três técnicas foram semelhantes. Contudo, HS-SPME apresentou vantagens adicionais: uma maior sensibilidade na determinação de terpenóides e o tempo de vida da fibra de SPME mais que três vezes maior do que na amostragem de modo direto, porque a fibra não fica em contato com a amostra e, portanto, não é contaminada por compostos fortemente polares, etanol e sais.

Tat et al. (2005) estudaram o desempenho de diferentes fibras desenvolvidas nos últimos anos para microextração em fase sólida. As fibras foram avaliadas quanto à sua sensibilidade e repetibilidade; os resultados mostraram um comportamento notadamente diferente para as diferentes fases-sólidas, tanto para diferentes zonas do cromatograma quanto para diferentes níveis de concentração. A fibra divinilbenzeno / Carboxen / Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) mostrou-se a mais adequada para a análise da fração aromática de vinhos.

Para aplicações específicas, a escolha de uma fase-sólida adequada depende da classe de compostos ser analisada.



**FIGURA 3** Diagrama de um dispositivo de SPME (A) e estágios do processo de microextração em fase sólida (B). Fonte: modificado a partir de Castro et al. (2008).

O uso da extração em fase sólida e GC-PMEGC permitiu a caracterização da composição volátil de 23 monovarietal vinhos brancos e tintos, de 13 variedades de uvas cultivadas na mesma área (Piñeiro et al., 2006). A técnica de microextração em fase sólida acoplada à espectrometria de massa e à análise de componentes principais (HS-SPMEGC - MS-PCA) é proposta para a rápida distinção de vinhos em âmbito mundial com base na assinatura volátil do vinho (Rocha et al., 2006).

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, C.A. Production of antioxidants, aromas, colours, flavours, and vitamins by yeast. In: QUEROL, A.; FLEET, H. (Ed.). **Yeast in food and beverages**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2006. chap.10. 50p.

AKAMINE, E.K.; GOO, T. Respiration and ethylene production during ontogeny of fruit. **Journal American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.93, p.381-383, 1973.

AKUBOR, P.I.; OBIO, S.O.; NWADOMERE, K.A.; OBIOMAH, E. Production and quality evaluation of banana wine. **Plant Foods for Human Nutrition**, The Hague, v.58, p.1-6, 2003.

ALIAN, A.; MUSENGUE, H.M. Efect of fermentation and aging on some flavouring components in tropical fruits wine. **Journal of Science Technology**, Trivandrum, v.2, n.1, p.10-17, 1977.

AMORIM, H.V.; BASSO, L.C.; ALVES, D.M.G. **Processos de produção de álcool: controle e monitoramento**. 2.ed. Piracicaba: Degaspari, 1996. 103p.

ANDRADE, J.S.; PANTOJA, L.; MAEDA, R.N. Melhoria do rendimento do processo de obtenção de bebida alcoólica de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, p.34-38, 2003. Suplemento.

AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: E.Blücher, 1983. 243p. (Biotecnologia, 5).

ARAÚJO, I.M.M. **Características aromáticas e cromáticas das castas Amaral e Vinhão**. 2004. 194p. Dissertação (Mestrado em Viticultura e Enologia)-Universidade do Porto, Porto.

ARRUDA, A.R.; CASIMIRO, A.R.S.; GARRUTI, D.S.; ABREU, F.A.P. Processamento de bebida fermentada de banana. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.34, n.2, p.161-163, 2003.

ASQUIERI, E.R.; CANDIDO, M.A.; DAMIANI, C.; ASSIS, E.M. Fabricación de vino blanco y tinto de jaboticaba (*Mirciaria jaboticaba Berg*) utilizando la pulpa y la cáscara respectivamente. **Alimentaria**, Madrid, v.355, n.1, p.97-109, 2004.

AZEVÊDO, L.C.; REIS, M.M.; SILVA, L.A.; ANDRADE, J.B. Efeito da presença e concentração de compostos carbonílicos na qualidade de vinhos. **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.8, p.1968-1975, 2007.

AXEL, R. The molecular logic of smell. **Scientific American**, New York, v.273, n.4, p.130-137, 1995.

BARRE, P.; BLONDIN, B.; DEQUIN, S.; FEUILLAT, M.; SABLAYROLLES, J.M.; SALMON, J.M. La levadura de fermentación alcohólica. In: FLANZY, C. **Enología: fundamentos científicos e tecnológicos**. Madrid: Mundi, 2000. p.274-315.

BAUMES, R. Six cents corps pour un bouquet. **Science & Vie**, Paris, v.37, p.927-943, 1986.

BAYONOVE, C.L.; BAUMES, R.L.; CROUZET, J.; GÜNATA, Y.Z. Arômes. In: **Enologie fondamentaux scientifiques et technologiques**. Paris: Lavoisier Tec & Doc, 1998. p.163-265.

BERRY, D.R.; BROWN, C. Physiology of yeasts growth. In: BERRY, D.R.; STERWART, G.G. (Ed.). **Yeasts biotechnology**. London: Allen & Unwin, 1987. chap.6.

BERRY, D.R.; SLAUGHTER, J.C. Alcoholic beverage fermentations. In: LEA, A.G.H.; PIGGOTT, J.R. (Ed.). **Fermented beverage production**. 2.ed. New York: Kluwer Academic; Plenum, 2003. p.25-39.

BLINDER, F.; VOGES, E.; LAUGEL, P. The problem of methanol concentration admissible in distilled fruit spirits. **Food Additives and Contaminants**, London, v.5, n.3, p.343-351, July/Sept. 1988.

BORTOLINI, F.; SANT'ANA, E.S.; TORRES, R.C. Comportamento das fermentações alcoólicas e acéticas de sucos de kiwi (*Actinidia deliciosa*): composição dos mostos e métodos de fermentação acética. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.2, p.236-243, 2001.

BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E.  
**Biotecnologia industrial**: engenharia bioquímica. São Paulo: E.Blucher, 2001.  
v.1, 254p.

BRASIL. **Lei n. 7678**, de 8 de outubro de 1988. Dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1988. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/leis.asp?lei=7678>>. Acesso em: 9 out. 2008.

BRASIL. Leis, Decretos, etc. **Decreto n. 2314, de 4 de set. de 1997**. Diário Oficial da União, Brasília, n. 171, 5 de set. 1997. Seção I, p. 19549. [Regulamenta a lei n. 8918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas].

BRASIL. Lei n. 10970, de 12 de novembro de 2004. Altera dispositivos da Lei no 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, p.1, 16 nov. 2004. Seção 1.

BRASIL. Instrução Normativa, oriunda da Portaria n° 64, de 23 de abril de 2008. Aprova os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para fermentado de fruta (anexo I), sidra (anexo II), hidromel (anexo III), fermentado de cana (anexo IV), fermentado de fruta licoroso (anexo V), fermentado de fruta composto (anexo VI) e saquê (anexo VII). **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, p.9, 24 abr. 2008, Seção 1.

CAMPBELL, M.K. **Bioquímica**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2001. 752p.

CASTRO, R.; NATERA, R.; DURÁN, E.; GARCÍA-BARROSO, C.  
Application of solid phase extraction techniques to analyse volatile compounds in wines and other enological products. **European Food Research and Technology**, London, v.228, p.1-18, 2008.

CATALUÑA, E. **As uvas e os vinhos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Globo, 1988. 207p.

CELA, R.; LORENO, R.A.; CASAIS, M.C. **Técnicas de separación em química analítica**. Madrid: Síntesis, 2002.

CHAPTAL, J.A. **L'art de faire le vin**. Marseille: J.Laffitte, 1981. 381p.

CHATONNET, P.; DUBOURDIEU, D.; BOIDRON, J.N. The influence of *Brettanomyces/Dekkera* sp. Yeasts and lactic bacteria on the ethylphenol content of red wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.46, p.463-468, 1995.

CHIARELLI, R.H.C.; NOGUEIRA, A.M.P.; VENTURINI FILHO, W.G. Fermentados de jabuticaba (Berg): processos de produção, características físico-químicas e Rendimento. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.8, n.215, p.277-282, 2005.

CHIATTONNE, P.; VITÓRIA, M.C.; SIQUEIRA, E.; RODRIGUES, J.; LEITÃO, A. Análises físico-químicas de vinho da laranja elaborados por diferentes tratamentos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004, Recife, PE. **Anais...** Rio de Janeiro: SBCTA, 2004. p.33.

CORAZZA, M.L.; RODRIGUES, D.G.; NOZAKI, J. Preparação e caracterização do vinho de laranja. **Química Nova**, São Paulo, v.24, n.4, p.449-452, ago. 2001.

CORDONNIER, R.E.; BAYONOVE, C.L. Les composantes variétales et préfermentaires de l'arôme des vins. **Parfums, Cosmétiques, Arômes**, Paris, v.24, p.67-77, 1978.

DE LA CALLE, D.; REICHENBÄCHER, M.; DANZER, K.; HURLBECK, C.; BARTSCH, C.; FELLER, K.H. Analysis of wine bouquet components using headspace solid-phase microextraction-capillary gas chromatography. **Journal of High Resolution Chromatography**, v.21, p.373-377, 1998.

DEQUIN, S. The potential of genetic engineering for improving brewing, wine-making and baking yeasts. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v.56, n.5/6, p.577-588, 2001.

DIAS, A.L.M. **Influência de diferentes cepas de leveduras e mostos na formação dos compostos voláteis majoritários em vinho de caju (*Anacardium occidentale*, L.)**. 1996. 94p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

DIAS, D.R.; SCHWAN, R.F.; FREIRE, E.S.; SERÔDIO, R.S. Elaboration of a fruit wine cocoa (*Thebroma cacao* L.) pulp. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.42, p.319-329, 2007.

DIAS, D.R.; SCHWAN, R.F.; LIMA, L.C.O. Methodology for elaboration of fermented alcoholic beverage from yellow mombin (*Spondias mombin*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.3, p.342-350, 2003.

DIAS, L.; SILVA, S.P. da; TAVARES, M.; MALFEITO FERREIRA, M.; LOUREIRO, V. Factors affecting the production of 4-ethylphenol by the yeast *Dekkera bruxelensis* in enological conditions. **Food Microbiology**, London, v.20, p.377-384, 2003a .

DONADIO, L.C. A produção de lichia. **Toda Fruta**, São Caetano do Sul, v.2, p.5-6, 1987.

DUARTE, W.F.; DIAS, D.R.; PEREIRA, G.V.M.; GERVÁSIO, I.M.; SCHWAN, R.F. Indigenous and inoculated yeast fermentation of gabioba (*Campomanesia pubescens*) pulp for fruit wine production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 2009. DOI 10.1007/s10295-009-0526-y.

DUBOIS, P. Les arômes des vins et leurs défauts (cont). **Revista France Enology**, Paris, v.146, p.39-50, 1994.

ESTEVE-ZARZOZO, B.; GOSTINCAR, A.; BOBET, R.; URUBURU, F.; QUEROL, A. Selection and molecular characterization of wine yeasts isolated from the “El Penedez” area (Spain). **Food Microbiology**, London, v.17, p.553-562, 2000.

ETIÉVANT, P.X. Wine. In: MAARSE, H. **Volatile compounds in foods and beverages**. New York: M.Dekker, 1991. chap.14, p.483-546.

FAÇANHA, S.H.F. **Estudo dos parâmetros cinéticos básicos da fermentação alcoólica do suco de caju (*Anacardium occidentale L.*) clarificado**. 1998. 119p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

FERREIRA, M.A.A.F.M. **A fermentação malolática**. Vila real: Instituto Universitário de Trás-os Montes e Alto Douro, 1982.

FLEET, G.H. Yeasts in natural habitats. **Food Technology and Biotechnology**, v.36, p.285-289, 1998.

- FLEET, G.H. Yeasts interactions and wine flavor. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.86, p.11-22, 2003.
- GARRUTI, D.S. **Composição de voláteis e qualidade de aroma de vinho de caju**. 2001. 218p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- GOMES, R.P. A licheira. In: \_\_\_\_\_. **Fruticultura brasileira**. 8.ed. São Paulo: Nobel, 1982. p.282-287.
- GONZÁLEZ-PÉREZ, J.A.; GONZÁLEZ, R.; QUEROL, A.; SENDRA, J.; AMÓN, D. Construction of a recombinant wine yeast strain expressing b-(1,4)-endoglucanase and its use in microvinification processes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.59, p.2801-2806, 1993.
- HASHIZUME, T. Fundamentos de tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: E.Blücher, 1993. v.5, cap.2, p.14-43.
- HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A. (Ed.). **Biotecnologia industrial: biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: E.Blücher, 2001. p.21-68.
- HEARD, G.M.; FLEET, G.H. Growth of natural flora during the fermentation of inoculated wines. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.50, p.727-728, 1985.
- HEARD, G.M.; FLEET, G.H. The effects of temperature and pH on the growth of yeasts during the fermentation of grape juice. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.65, p.23-28, 1988.
- HOLCROFT, D.M.; MITCHAM, E.J. Review: postharvest physiology and handling of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.9, n.1, p.265-281, 1996.
- JOHNSTON, J.C.; WELCH, R.C.; HUNTER, G.L.K. Volatile constituents of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.28, p.859-861, 1980.
- JOSHI, V.K.; BHUTANI, V.P. The influence of enzymatic clarification in fermentation behavior and qualities of apple wine. **Science des Aliments**, v.11, n.3, p.491-498, 1991.

JOSHI, V.K.; SANDHU, D.K.; ATTRI, B.L.; WALLA, R.K. Cider preparation from apple juice concentrate and its consumer acceptability. **Indian Journal of Horticulture**, New Delhi, v.48, p.321, 1991.

KING, E.S.; SWIEGERS, J.H.; TRAVIS, B.; FRANCIS, L.I.; BASTIAN, S.E.P.; PRETORIUS, I.S. Coinoculated fermentations using *Saccharomyces* Yeasts affect the volatile composition and sensory properties of *Vitis vinifera* L. cv. sauvignon blanc wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.56, n.22, p.10829-10837, 2008.

KOLB, E. **Vinos de frutas**: elaboración artesanal e industrial. Zaragoza: Acribia, 2002. 232p.

KUNKEE, R.E. Selection and modification of yeasts and lactic acid bacteria for wine fermentation. **Food Microbiology**, London, v.1, p.315-332, 1984.

LAMBRECHTS, M.G.; PRETORIUS, I.S. Yeast and its importance to wine aroma: a review. **South African Journal of Enology and Viticulture**, Pretoria, v.21, p.97-129, 2000.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Principles of biochemistry**. 3.ed. New York: Worth, 2000. 1152p.

LEHTONEN, M.; JOUNELA-ERIKSSON, P. Volatile and non-volatile compounds in the flavour of alcoholic beverages. In: PIGOTT, J.R. **Flavour of distilled beverages**: origin and development. Florida: Verlag Chemie International, 1983. p.64-78.

LIMA, A.S.; RAMOS, A.L.D.; MARCELINNI, P.S.; COSTA, E.A.S.; CASTRO, J.E.T. Produção de vinho de tangerina “Murcot”. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004, Recife, PE. **Anais...** Rio de Janeiro: SBCTA, 2004. p.33.

LIMA, K.G. **Estudos da composição de vinhos de abacaxi**. 1992. 217p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

LIMA, U.A. Aguardentes. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. (Coord.). **Alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. São Paulo: E.Blücher, 1983. cap.4, p.79-103. (Biotecnologia, 5).

LIMA, U.A.; BASSO, L.C.; AMORIN, H.V. Produção de etanol. In: \_\_\_\_\_. **Biotecnologia**. São Paulo: E.Blucher, 2001. v.3, cap.1, p.1-43.

LOEILLET, D. Le litchi: un fruit exotique en pleine expansion dans un marche' europeén en mutation. **Fruits**, Paris, v.49, p.235-237, 1994.

LONA, A.A. **Vinhos**: degustação, elaboração e serviço. 2.ed. Porto Alegre: AGE, 1997. 151p.

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

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. **Biology of microorganisms**. 8.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997. 768p.

MAEDA, R.N.; ANDRADE, J.S. Aproveitamento do camu-camu (*Myrciaria dúbia*) para produção de bebida alcoólica fermentada. **Acta Amazônica**, Manaus, v.33, n.3, p.489-498, 2003.

MAIA, A.B.R. Componentes voláteis da aguardente. **STAB**, Piracicaba, v.12, n.6, p.29-34, 1994.

MAMEDE, M.E.O.; PASTORE, G.M. Avaliação da produção dos compostos majoritários da fermentação de mosto de uva por leveduras isoladas da região da "Serra Gaúcha" (RS). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.3, p.453-458, 2004.

MARTINS, A.B.G. A cultura da lichia. In: DONADIO, L.C.; MARTINS, A.B.G.; VALENTE, J.P. (Ed.). **Fruticultura tropical**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p.113-126.

MARTINS, A.B.G.; BASTOS, D.C.; SCALOPPI JUNIOR, E.J. **Lichieira (Litchi chinensis Sonn.)**. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2001. 48p. (Série frutas potenciais).

MARTINS, C.R.; ANDRADE, J.B. de. Química atmosférica do enxofre (iv): emissões, reações em fase aquosa e impacto ambiental. **Química Nova**, São Paulo, v.25, p.259-272, 2002.

MATEO, J.J.; JIMÉNEZ, M.; PASTOR, A.; HUERTA, T. Yeast starter cultures affecting wine fermentations and volatiles. **Food Research International**, Barking, v.34, n.4, p.307-314, 2001.

MATO, I.; SUAREZ-LUQUE, S.; HUIDOBRO, J.F. A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines. **Food Research International**, Barking, v.38, n.10, p.1175-1188, Dec. 2005.

MAURICIO, J.C.; MORENO, J.; ZEA, L.; ORTEGA, J.M.; MEDINA, M. The effects of grape must fermentation conditions on volatile alcohols and esters formed by *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.75, p.155-160, 1997.

MEDEIROS, A.B.P.; PANDEY, A.; FREITAS, R.J.S.; CHRISTEN, P.; SOCCOL, C.R. Optimization of the production of aroma compounds by *Kluyveromyces marxianus* in solid-state fermentation using factorial design and response surface methodology. **Biochemical Engineering Journal**, v.6, n.1, p.33-39, 2000.

MELO, D.L.F.M.; SANTOS, F.C.; BARBOSA JUNIOR, A.M.; SANTOS, P.O.; CARNELOSSI, M.A.G.; TRINDADE, R.C. Identification of yeasts isolated from the pulp in nature and the production of homemade "Umbu" wine. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.50, n.5, p.887-892, Sept. 2007.

MENEGUZZO, J.; MANFROI, L.; RIZZON, L.A. **Vinho**: sistema de produção. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/VinhoTinto/index.htm>>. Acesso em: 13 abr. 2008.

MENZEL, C.M.; SIMPSON, D.R. Lychee. In: SCHAFFER, B.; ANDERSEN, P.C. (Ed.). **Handbook of environmental physiology of fruit crops**. Boca Raton: CRC, 1994. v.2, p.123-45.

MINGORANCE-CARZOLA, L.; CLEMENTE-JIMÉNEZ, J.M.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, S.; HERAS-VÁSQUEZ, F.J. las. Contribution of different natural yeasts to the aroma of two alcoholic beverages. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Netherlands, v.19, n.3, p.297-304, Apr. 2003.

MUNIZ, C.R.; BORGES, M.F.; ABREU, F.A.P.; NASSU, R.T.; FREITAS, C.A.S. Bebidas fermentadas a partir de frutos tropicais. **Boletim do CEPPA**, v.20, n.2, p.309-322, 2002.

NAGATO, L.A.F.; DURAN, M.C.; CARUSO, M.S.F.; BARSOTTI, R.C.F.; BADOLATO, E.S.G. Monitoramento da autenticidade de amostras de bebidas alcoólicas enviadas ao Instituto Adolfo Lutz em São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.1, p.39-42, 2001.

NURGEL, C.; ERTEN, H.; CANBAS, A.; CABAROGLU, T.; SELLI, S. Influence of *Saccharomyces cerevisiae* strain on fermentation and flavor compounds of white wines made cv. Emir grown in Central Anatolia, Turkey. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v.29, n.2, p.28-33, Apr. 2002.

OSTERGAARD, S.; OLSSON, L.; NIELSEN, J. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.64, p.34-50, 2000.

PANTOJA, L.; MAEDA, R.N.; ANDRADE, J.S.; PEREIRA JUNIOR, N.; CARVALHO, S.M.S.; ASTOLF-FLIHO, S. Processo fermentativo para produção de bebida alcoólica de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth). **Biotechnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v.3, n.19, p.50-54, 2001.

PARDO, I.; GARCÍA, M.J.; ZUNIGA, M.; URUBURU, F. Dynamics of microbial populations during fermentations of wines from the Utiel Requena region of Spain. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.55, p.539-541, 1989.

PATO, O. **O vinho**: sua preparação e conservação. 7.ed. Lisboa: Livraria Clássica, 1982. 433p. (Coleção técnica agrária).

PAULL, R.E.; CHEN, N.J.; DEPUTY, J. Litchi growth and compositional changes during fruit development. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Madison, v.109, n.6, p.817-821, 1984.

PAWLISZYN, J. **Solid phase microextraction**: theory and practice. New York: Wiley, 1997. 247p.

PEIXOTO, F.M.C. Alguns aspectos químicos do odor. **Química Nova**, São Paulo, v.52, p.30-32, 1994.

PELEG, Y.; BROWN, R.C.; STARCEVICH, P.W.; ASHER, R. method for evaluating the filterability of wine and similar fluids. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.30, n.3, p.174-178, July/ Sept. 1979.

PEREIRA JUNIOR, N. Bioprocessos industriais. In: PEREIRA JUNIOR, N.; BON, E.P.S. **Tecnologia enzimática**. Rio de Janeiro: Senai, 1999. p.24-46.

PERESTRELO, R.; FERNANDES, A.; ALBUQUERQUE, F.F.; MARQUES, J.C.; CAMARA, J.S. Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: identification of the main odorants compounds. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.563, p.154-164, 2006.

PEYNAUD, E. **Enología práctica**: conocimiento y elaboración del vino. Traduzido por Alfredo Gonzáles Salgueiro. Madrid: Prensa, 1984. 405 p. Título original: *Connaissance et travail du vin*.

PEYNAUD, E. **Enología práctica**: conocimiento y elaboración del vino. Madrid: Mundi, 1989. 405p.

PEYNAUD, N.; BLOUIN, J. **O gosto do vinho**: o grande livro da prova. Lisboa: Litexa, 1997. 275p.

PIÑEIRO, Z.; NATERA, R.; CASTRO, R.; PALMA, M.; PUERTAS, B.; BARROSO, C.G. Characterisation of volatile fraction of monovarietal wines: Influence of winemaking practices. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.563, p.165-172, 2006.

PRETORIUS, I.S. Tailoring wine yeast for the new millenium: novel approaches to the ancient art of winemaking. **Yeast**, v.16, n.8, p.675-729, 2000.

QUEROL, A.; BARRIO, E.; HUERTA, T.; RAMÓN, D. Molecular monitoring of wine fermentations conducted by active dry yeast strains. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.58, p.2948-2953, 1992.

RAPP, A.; GUNTERT, M.; ALMY, J. Identification and significance of several sulfur-containing compounds in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.36, n.3, p.219-221, 1985.

REAL, M.C. **Os bons vinhos do Sul**. 4.ed. Porto Alegre: Sulina: 1981. 166p.

REDDY, L.V.A.; REDDY, O.V.S. Production and characterization of wine from mango fruit (*Mangifera indica* L). **World Journal of Microbiology e Biotechnology**, Oxford, v.21, n.8/9, p.1345-1350, Dec. 2005.

REDZEPOVIĆ, S.; ORLIC, S.; SIKORA, S.; MAJDAK, A.; PRETORIUS, I.S. Identification and characterization of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces paradoxus* strains isolated from Croatian vineyards. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v.35, p.305-310, 2002.

RIBÉREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E. **Traité d'œnologie**: maturation du raisin, fermentation alcoolique, vinification. Paris: Béranger, 1964. 753p.

RIBÉREAU-GAYON, P. Wine flavor. In: CHARALAMBOUS, G.; INGLET, G.E. (Ed.). **Flavor of food and beverages**: chemistry and technology. London: Academic, 1978. p.355-380.

RIBÉREAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONECHE, B.; LONVAUD, A. Le métabolisme des bactéries lactiques. In: \_\_\_\_\_. **Traité d'œnologie**: microbiologie du vin vinifications. Paris: Dunod, 1998. tome 1, p.171-196.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. **Handbook of enology**: the chemistry of wine and stabilization and treatments. New York: J.Wiley, 2000. v.2, p.129-185.

RIZZON, L.A.; MIELE, A. Correção do mosto de uva Isabel com diferentes produtos na Serra Gaúcha. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.2, p.450-454, mar./abr. 2005.

RIZZON, L.A.; ZANUS, M.C.; MANFREDINI, S. **Como elaborar vinho de qualidade na pequena propriedade**. Bento Gonçalves: Embrapa-CNPV, 1994. 36p. (Embrapa-CNPV. Documentos, 12).

ROCHA, S.M.; COUTINHO, P.; BARROS, A.; DELGADILLO, I.; COIMBRA, M.A. Rapid tool for distinction of wines based on the global volatile signature. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1114, p.188-197, 2006.

ROSIER, J.P. **Manual de elaboração de vinho para pequenas cantinas**. 2.ed. Florianópolis: EPAGRI, 1995. 72p.

ROSS, R.P.; MORGAN, S.; HILL, C. Preservation and fermentation: past, present and future. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.2489, p.1-14, 2002.

SACRAMENTO, C.K.; RIBEIRO, N.C.; AGUILAR, M.A.G.; SILVA, L.F. Produção de qualidade da lichia (*Litchi Chinensis* Sonn.) no sudeste da Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 10., 1989, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza, 1989. p.225-228.

SANDHU, D.K.; JOSHI, V.K. Technology, quality and scope of fruit wines especially apple beverages. **Indian Food Industry**, New Delhi, v.14, n.1, p.24-34, 1995.

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

SCHREIER, P. Flavor composition of wines: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.12, p.59-111, 1979.

SELLI, S. Volatile constituents of orange wine obtained from moro orange (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck). **Journal of Food Quality**, Wastport, v.30, n.4, p.330-341, Aug. 2007.

SILVA, P.H. da; FARIA, F.C. de; TONON, B.; MOTA, S.J.D.; PINTO, V.T. Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*myrciaria jabuticaba*). **Química Nova**, São Paulo, v.31, n.3, p.595-600, 2008.

SINGH, A.; ABIDI, A.B. Level of carbohydrate fractions and ascorbic acid during ripening and storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) cultivars. **Indian Journal Agricultural Chemistry**, New Delhi, v.19, n.1, p.197-202, 1986.

SNOWDON, A.L. **A colour atlas of post-harvest disease and disorders of fruit and vegetables**: general introduction and fruits. Wolfe: Scientific, 1990. v.1, 302p.

SOTERO, V.E.; GARCIA, D.; LESSI, E. Bebida fermentada a partir de pujuayo (*Bactris gasipaes* H.B.K) parâmetros y evolucion, Iquitos-Peru. **Folia Amazônica**, Manaus, v.8, n.1, p.5-18, 1996.

SOUFLEROSA, E.H.; PISSAB, I.; PETRIDISB, D.; LYGERAKISB, M.; MERMELASB, K.; BOUKOUVALASB, G.; TSIMITAKIS, E. Instrumental analysis of volatile and other compounds of Greek kiwi wine; sensory evaluation and optimisation of its composition. **Food Chemistry**, London, v.75, p.487-500, 2001.

STRYER, L. **Bioquímica**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 1000p.

SWIEGERS, J.H.; BARTOWSKY, E.J.; HENSCHKE, P.A.; PRETORIUS, I.S. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Sydney, v.11, n.2, p.139-173, June 2005.

TAT, L.; COMUZZO, P.; STOLFO, I.; BATTISTUTTA, F. Optimization of wine headspace analysis by solid-phase microextraction capillary gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection. **Food Chemistry**, London, v.93, p.361-369, 2005.

TAVARES-FILHO, L.F.Q.; TAVARES, J.T.Q.; CARDOSO, R.L. Obtenção e caracterização do vinho e vinagre de jaca. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 8., 2002, Porto Alegre, RS. **Anais...** Porto Alegre: SBCTA, 2002. CD-ROM.

TAYLOR, J.E. Exotics. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993. p.151-187.

TORIJA, M.J.; ROZÈS, N.; POBLET, M.; GUILLAMÓN, J.M.; MAS, A. Yeast population dynamics in spontaneous fermentations: comparison between two different wine-producing areas over a period of three years. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v.79, n.3/4, p.345-352, Sept. 2001.

TORRES NETO, A.B.T.; SILVA, M.E.; SILVA, W.B.; SWARNAKAR, R.; SILVA, F.L.H. Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.3, p.489-492, 2006.

UNDERHILL, S.J.R.; CRITCHLEY, C. The physiology and anatomy of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp during fruit development. **Journal of Horticultural Science**, Amsterdam, v.67, n.4, p.437-444, 1992.

VASQUEZ, A.S. **Produção e análise de bebidas fermentadas a partir da casca e talo de abacaxi (*Ananas comosus* L. Merr) Alua**. 1994. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)-Universidade do Amazonas, Manaus.

VIEIRA, F.C.; WILDER, A. Lichia. In: \_\_\_\_\_. **Fruticultura**: preços agrícolas. Piracicaba: [s.n.], 2000. p.38.

VOGT, E.; JAKOB, L. **El vino**: obtención, elaboración y análisis. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1986. 294p.

WARD, O.P. **Biotecnología de La fermentación**: principios, procesos y productos. Zaragoza: Acribia, 1991. 155p.

WINDHOLTZ, M. **The merck index**. Rahway: Merck, 1976.

YOKOYA, F. **Fabricação de aguardente de cana**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, 1995. 283p.

ZOECKLEIN, B.W.; FUGELSANG, K.C.; GUMP, B.H.; NURY, F.S. **Análisis y producción de vino**. Zaragoza: Acribia, 2001. 613p.

## **CAPÍTULO 2**

### **CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DE BEBIDA ALCOÓLICA DE LICHIA (*Litchi chinensis* Sonn) PRODUZIDA POR FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E INOCULADA**

## 1 RESUMO

Este estudo teve como objetivo elaborar e caracterizar bebidas fermentadas de lichia (*Litchi chinensis* Sonn) utilizando fermentação inoculada e fermentação espontânea do mosto. A partir da polpa dos frutos foram formulados mostos com teores de sólidos solúveis de 24 °Brix. Esses foram autoclavados e inoculados com leveduras selecionadas UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174 e, em outros recipientes, foi conduzido o processo fermentativo espontâneo. Todos os processos fermentativos foram conduzidos sob as mesmas condições a  $20 \pm 2$  °C. Aliquotas dos mostos foram coletadas, diariamente, para monitoramento de pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis totais, sacarose, glicose, frutose e teor alcoólico. Ao término da fermentação as bebidas foram transferidas para recipientes limpos, eliminando o excesso da borra formada. Estas foram submetidas aos processos de colagem, trasfega e filtração. As bebidas obtidas, 22 dias após o término da fermentação, foram avaliadas quanto às características químicas, físico-químicas e sensoriais. As bebidas elaboradas com as leveduras UFLA CA1183 e UFLA CA116 se caracterizaram por maior eficiência fermentativa, atingindo teores alcoólicos mais elevados e menores teores de açúcar residual em menor tempo de fermentação. A lenta taxa fermentativa das bebidas produzida com a levedura UFLA CA1174 e a fermentação espontânea favoreceram a oxidação destas bebidas, observada através da produção de compostos indesejados em bebidas alcoólicas. Comparando os resultados físico-químicos das quatro bebidas com a legislação vigente, somente a inoculação com a levedura UFLA CA1183 produziu uma bebida que se enquadra nos limites estabelecidos pela legislação para vinho. Os resultados da análise sensorial demonstraram melhor aceitação das bebidas produzidas pelos isolados UFLA CA1183 e UFLA CA116. A análise de componentes principais separou as bebidas em dois grupos de acordo com os compostos analisados. Através das análises de composição química e sensorial, a bebida produzida pela inoculação com a levedura UFLA CA1183 se mostrou como a mais indicada para a produção da bebida fermentada de lichia.

## 2 ABSTRACT

This study aimed to develop and characterize fermented beverages of lychee (*Litchi chinensis* Sonn) using inoculated fermentation and spontaneous fermentation of must. From the pulp of the fruit must have been formulated with levels of soluble solids of 24 °Brix. These were autoclaved and inoculated with selected yeasts UFLA CA116, UFLA CA1183, CA1174 UFLA, and other containers has led to spontaneous fermentation process. All fermentation process was conducted under the same conditions for  $20 \pm 2$  °C. Aliquots of must were collected daily to monitor pH, acidity, total soluble solids, sucrose, glucose, fructose and alcohol. At the end of fermentation the beverages were transferred to clean containers, removing the excess sludge formed. These were the processes of collage, racking and filtration. Beverages obtained, 22 days after the end of fermentation, were evaluated on the chemical characteristics, physical-chemical and sensory. Beverages made with yeast UFLA CA1183 and UFLA CA116 were characterized by increased fermentative efficiency, reaching levels higher alcohol and lower levels of residual sugar in the shortest time of fermentation. The slow rate of fermentative beverages produced by the yeast UFLA CA1174 and the spontaneous fermentation favored the oxidation of these beverages, observed through the production of unwanted compounds. Comparing the results of physical-chemical four beverages with the Brazilian law, only the inoculation with the yeast UFLA CA1183 produced a beverage that fits within the limits established by law for wine. The results of sensory analysis showed better acceptance of beverages produced by isolates UFLA CA1183 and CA116 UFLA. The analysis of main components separated the beverages in two groups according to the compounds analyzed. Through the analysis of chemical composition and sensory, the beverage produced by inoculation with the yeast UFLA CA1183 was the most suitable for the production of the brew of lychee.

### 3 INTRODUÇÃO

A lichia é uma fruta subtropical nativa do Sul da China. É o membro da família Sapindaceae mais significativo comercialmente. Segundo Food Agricultural Organization - FAO (2002) estima-se que a produção mundial de lichia seja de aproximadamente 2,11 milhões de toneladas, com mais de 95% de toda cultura produzida na Ásia. A lichia é um fruto cuja comercialização internacional tem apresentado significativo crescimento nos últimos anos devido ao excelente sabor e aroma de sua parte comestível, o arilo.

Em plena maturidade, as lichias são cobertas com cascas vermelhas que têm a coloração degradada, tornando-se marrons 3 a 5 dias após a colheita, o que diminui a aceitação por parte do consumidor na hora da compra. Normalmente, são descascadas e consumidas na forma fresca, ou comercialmente enlatadas ou congeladas (Mahattanatawee et al., 2007) a fim de evitar perdas pós-colheita.

Tradicionalmente, a fermentação de vinhos é proveniente de mostos de uvas, que são utilizadas como matérias-primas principais para produção de vinhos. Porém, muitos grupos de pesquisa estudam a conveniência de frutos diferentes de uvas, a exemplo de maçã (Joshi & Bhutani, 1991; Joshi et al., 1991), manga (Reddy & Reddy, 2005), laranja (Corazza et al., 2001), jabuticaba (Asquiere et al., 2004), cajá e cacau (Dias et al., 2003, 2007), gabirola (Duarte et al., 2009), com a finalidade de produzir bebidas fermentadas. Diversas frutas têm boas características sensoriais para vinhos e, aliada à necessidade de se ampliar as suas produções e consumo em diversos países, a produção destes “vinhos de frutas” alternativos tem sido bastante pesquisada e incentivada.

De acordo com a Lei nº 7.678, a denominação vinho é privativa da uva, sendo vedada sua utilização para produtos obtidos de quaisquer outras matérias-primas (Brasil, 1988). Segundo o Ministério da Agricultura (Instrução

Normativa oriunda da Portaria nº 64, de 23 de abril de 2008, fermentado de frutas é a bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura (Brasil, 2008).

Portanto, a seleção da levedura adequada para cada tipo de fermentação é uma estratégia importante para garantir uma fermentação completa, assim como para melhorar as características finais do vinho. Ainda que seja evidente que a qualidade do vinho esteja associada à variedade e à qualidade da uva, as leveduras podem produzir compostos que proporcionam um toque de distinção ao produto final obtido. Leveduras selecionadas têm sido utilizadas com excelentes resultados em muitos países, onde os produtos finais obtidos são de qualidade mais uniforme que os produzidos por fermentações espontâneas (Dequin, 2001).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi elaborar e caracterizar bebidas fermentadas de lichia (*Litchi chinensis* Sonn), além de avaliar o efeito da utilização de fermentação inoculada (com diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae*) e da fermentação espontânea do mosto sobre as características químicas, físico-químicas e sensoriais das bebidas produzidas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Matéria-prima

#### 4.1.1 Obtenção da polpa

Os frutos de lichia ‘bengal’ foram provenientes de uma única área de produção do município de Lavras, MG, nos meses de dezembro de 2007 e janeiro de 2008.

As lichias foram lavadas em água corrente para remoção da sujeira e imersas em solução de hipoclorito 200 mg L<sup>-1</sup>. Após processo de higienização, as polpas de lichia foram extraídas manualmente com a retirada da casca e da semente, embaladas em sacos plásticos de 5000g e armazenadas a -20°C.

#### 4.1.2 Rendimento em polpa

Para o cálculo de rendimento em polpa procedeu-se à pesagem dos frutos inteiros com casca e polpa, sendo o rendimento obtido pela relação percentual da polpa obtida e dos frutos inteiros, de acordo com a fórmula:

rend. polpa =  $(m_p / m_f) \times 100$ ; em que  $m_p$  é a massa da polpa e  $m_f$  é a massa do fruto inteiro.

#### 4.1.3 Caracterização química da polpa

As análises de pH, acidez titulável, sólidos solúveis, pectina total e solúvel e das enzimas pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG) foram realizadas no *Laboratório de Fisiologia Pós-colheita de frutas e hortaliças* do Departamento de Ciência dos Alimentos - UFLA; as análises de composição centesimal foram realizadas no *Laboratório de Produtos Vegetais* do Departamento de Ciência dos Alimentos - UFLA; os carboidratos sacarose, glicose e frutose e os ácidos orgânicos málico e cítrico, no *Laboratório de Fisiologia e Genética de microrganismos* do Departamento de Biologia –

UFLA; e as análises de minerais foram realizadas no *Laboratório de Análise Foliar* do Departamento de Química - UFLA, conforme metodologias abaixo:

➤ **Determinação de pH** - determinado pelo método potenciométrico em potenciômetro digital, pHmetro TECNAL (Tec 3MP), segundo a Association of Official Analytical Chemistry - AOAC (2000).

➤ **Acidez titulável** - feita com titulação com NaOH, 0,01N, tendo como indicador fenolftaleína, de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2005), e expressa % ácido málico.

➤ **Sólidos solúveis** - a determinação dos sólidos solúveis foi feita por refratometria, usando-se refratômetro digital ATAGO PR-100 com compensação de temperatura automática a 25 °C (AOAC, 2000). A leitura do °Brix foi utilizada como medida do teor de sólidos solúveis totais.

➤ **Açúcares redutores e não-redutores** – as concentrações de glicose, frutose e sacarose (todos em g L<sup>-1</sup>) foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando uma metodologia modificada a partir de Shimadzu (1998) e Schwan et al. (2001), utilizando-se o detector de índice de refração, modelo RID-10A, para registro dos picos.

➤ **Pectina total e solúvel** - foram extraídas segundo a técnica descrita por McCready & McComb (1952) e determinadas colorimetricamente segundo Bitter & Muir (1962);

➤ **PME:** extração foi feita segundo a técnica de Buescher & Furmanski (1978), e o doseamento realizado segundo Hultin et al. (1966) e Ratner et al. (1969), com modificações de Vilas Boas (1995).

➤ **PG:** extração foi feita segundo a técnica de Buescher & Furmanski (1978) e o doseamento realizado segundo Markovic et al. (1975), com modificações de Vilas Boas (1995).

➤ **Composição Centesimal**

**Umidade (g 100g<sup>-1</sup>)** – a umidade da polpa de lichia foi determinada

segundo e técnica gravimétrica, com o emprego do calor em estufa à temperatura de 65°C, até obtenção de peso constante, segundo a AOAC (2000).

**Extrato etéreo (g 100g<sup>-1</sup> da matéria integral)** – a determinação ocorreu por extração com solvente orgânico (éter etílico) em aparelho extrator do tipo Soxhlet, segundo método da AOAC (2000).

**Proteína bruta (g 100g<sup>-1</sup> da matéria integral)** – por meio do teor de nitrogênio por destilação em aparelho de Micro Kjeldahl (semi-micro), usando o fator 6,25, procedeu-se ao cálculo do teor de proteína bruta, conforme procedimento da AOAC (2000).

**Fibra bruta (g 100g<sup>-1</sup> da matéria integral)** – a determinação foi feita por hidrólise ácida, pelo método gravimétrico, segundo o método descrito por Kamer & Ginkel (1952).

**Fração cinzas ou resíduo mineral fixo (g 100g<sup>-1</sup> da matéria integral)** – determinou-se gravimetricamente, avaliando a perda de peso do material submetido ao aquecimento em mufla a 550°C - 660°C (AOAC, 2000).

**Fração glicídica ou extrato não nitrogenado (g 100g<sup>-1</sup> da matéria integral)** – Calculou-se a fração glicídica pela diferença segundo a equação: %Fração Glicídica = 100 - (%umidade + % extrato etéreo + % proteína bruta + % fibra bruta + % fração cinzas), considerando a matéria integral.

#### ➤ **Minerais**

As determinações de cálcio, magnésio, manganês, zinco, cobre e ferro foram realizadas em duplicata, utilizando-se espectrofotômetro de absorção atômica, Varian, modelo AA-175, seguindo metodologia descrita por Perkin-Elmer (1976). A determinação de fósforo foi feita por meio de fotolorímetro Micronal B-382, seguindo a metodologia proposta por Perkin-Elmer (1976). As determinações de potássio e sódio foram efetuadas por fotômetro de chama Micronal, modelo B- 262, seguindo a metodologia proposta por Amerine & Ough (1974).

Na determinação de cálcio, as amostras foram diluídas na proporção de 0,25 ml/ 5ml de óxido de lantânio e 19,75 ml de água deionizada. Para o teor de fósforo, a proporção foi de 20 ml da amostra /100 ml de água deionizada, e desta retiraram-se 2 ml, os quais foram adicionados a balão volumétrico de 50 ml contendo 5 ml de solução sulfomolibídica, 2ml de ácido ascórbico a 2%, completando-se o volume com água deionizada. Os resultados obtidos foram expressos em  $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ .

## **4.2 Procedimentos experimentais para a produção de bebida fermentada de lichia**

### **4.2.1 Preparo do mosto**

Para a preparação do mosto, as polpas foram descongeladas à temperatura ambiente. Após esta fase, as polpas foram trituradas em liquidificador industrial e filtradas em peneira comercial. O mosto de lichia foi preparado de acordo com as metodologias propostas por Dias et al. (2003, 2007) com algumas modificações. A polpa foi transferida para uma dorna de aço inoxidável. O grau Brix da polpa foi aferido por meio de um refratômetro. A chaptalização do mosto foi realizada para obter uma bebida cujo teor alcoólico estivesse entre 10 °GL e 13 °GL.

#### **4.2.1.1 Chaptalização**

O grau Brix indica o teor aproximado de açúcar do mosto. Assim, um mosto com 10 °Brix contém aproximadamente 10% de açúcar. A chaptalização do mosto ocorreu a partir da observância do °Brix inicial das polpas. Foi utilizada sacarose comercial (açúcar cristal) para o preparo da solução. Esta foi preparada segundo Cataluña (1988), em que cada 25 g de sacarose adicionadas a um volume final de 1 litro elevam o °Brix do mosto em aproximadamente duas unidades. O teor final de açúcar no mosto foi de 24°Brix.

#### **4.2.1.2 Autoclavagem**

Após a determinação do grau Brix e a correção do açúcar, o volume total de mosto foi dividido em erlenmeyers de 2L contendo 1,1L de mosto para fermentação. Quatro tipos de fermentação foram realizados: três delas foram inoculadas com leveduras selecionadas e uma delas seguiu a fermentação espontânea da polpa de lichia.

Os erlenmeyers que continham mosto em que seriam inoculadas as leveduras foram autoclavados por 15 minutos a 121°C para a eliminação das leveduras e bactérias oriundas da fruta.

#### **4.2.1.3 Tratamento enzimático**

Devido ao aspecto viscoso da polpa de lichia, enzimas pectinolíticas foram adicionadas ao mosto, também com o objetivo de facilitar a clarificação da bebida. Foi utilizado 0,7 mL da preparação Ultrazym<sup>R</sup> AFP- L (Novo Nordisk Ferment Ltd, Dinamarca) por Kg de mosto quando os mostos recém-autoclavados atingiram a temperatura de 20 °C, aproximadamente. Aos erlenmeyers contendo mosto sem ter sido autoclavado foi adicionada a mesma concentração de Ultrazym<sup>R</sup>, já que este se encontrava à temperatura de 20 °C. Ultrazym AFP-L é uma pectinase com adição de atividade de celulase que promove uma rápida redução na viscosidade de polpas de frutas facilitando a clarificação das bebidas.

#### **4.2.1.4 Sulfitagem**

Consistiu na adição de 200 mg L<sup>-1</sup> de metabissulfito de potássio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) ao mosto para obtenção de 100 mg L<sup>-1</sup> de dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) residual, proporção necessária para assegurar uma assepsia, ou seja, reduzir a carga microbiana deteriorante sem afetar a atividade fermentativa das leveduras

e prevenir oxidações indesejáveis, já que a concentração máxima de SO<sub>2</sub> total no vinho, permitida por lei, é de 350 mg L<sup>-1</sup> (Brasil, 1988).

#### **4.2.1.5 Inoculação**

Utilizaram-se, para a inoculação dos mostos de lichia previamente autoclavados, três diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, codificadas como UFLA CA116, UFLA CA1174, UFLA CA1183, pertencentes à coleção de leveduras do Laboratório de Fisiologia de Microrganismos do DBI/UFLA. Os frascos erlenmeyers foram inoculados separadamente com 100 mL dos isolados de *S. cerevisiae* previamente adaptados de maneira que se obtivessem no mínimo 10<sup>8</sup> células/mL no volume total de 1,2 L (1,1 L de polpa + 0,1 L de inóculo). Foram feitas quatro repetições para cada tratamento.

#### **4.2.1.6 Fermentação**

Após o preparo e as devidas correções, os frascos contendo o mosto inoculado com as leveduras, bem como aquele no qual não houve adição das cepas (fermentação espontânea), foram incubados em sala refrigerada a 20°C ± 2°C.

A cada dia da fermentação foi coletada uma amostra do mosto para as análises de pH (pHmetro TECNAL -Tec 3MP) segundo a AOAC (2000), acidez total (titulação com NaOH 0,01N utilizando fenolftaleína como indicador), sólidos solúveis (refratômetro digital ATAGO PR-100) segundo AOAC (2000), consumo de açúcares redutores, não-redutores e etanol (amostras eram centrifugadas e armazenadas em freezer para posterior análise por cromatografia segundo metodologia modificada a partir de Shimadzu (1988) e Schwan et al. 2001).

### **4.3 Obtenção da bebida**

Após a estabilização do °Brix os vinhos foram transferidos para recipientes limpos, eliminando o excesso da borra formada. Estes foram submetidos aos processos de colagem, trasfega e filtração.

#### **4.3.1 Colagem**

A bentonite foi adicionada ao mosto na concentração de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , segundo Vogt et al. (1986), a partir de uma solução estoque a 10% em água destilada. Após a adição de bentonite o vinho foi colocado, por 7 dias, em câmara-fria a  $10^\circ\text{C}$  para facilitar a sedimentação do material sólido proveniente da fermentação dos mostos de lichia.

#### **4.3.2 Trásfega**

Após 7 dias sob a temperatura de  $10^\circ\text{C}$ , foi feita uma trasfega na bebida com aeração, que possui efeitos benéficos para favorecer a completa fermentação do açúcar e desprender o excesso de gás carbônico e ácido sulfúrico que estiver presente (Rizzon et al., 1996). Após esta primeira trasfega, a bebida foi recolocada à temperatura de  $10^\circ\text{C}$  por mais 10 dias e foi realizada uma segunda trasfega sem aeração. A bebida ficou por mais 5 dias sob temperatura de  $10^\circ\text{C}$ .

#### **4.3.3 Filtração**

Após a segunda trasfega e findos os últimos 5 dias a  $10^\circ\text{C}$ , as bebidas foram filtradas sob vácuo em frasco tipo kitassato, de 4 litros de volume, ao qual foi acoplado um funil tipo Büchner, utilizando filtro de celulose (Dias et al., 2003, 2007). Terminada a filtração, as bebidas foram acondicionadas em garrafas de vidro âmbar com capacidade para 750 mL e armazenadas a  $12^\circ\text{C}$ , em B.O.D.

#### **4.4 Análises das bebidas fermentadas de lichia**

As bebidas foram analisadas à temperatura ambiente, após terem sido retiradas do refrigerador com pelo menos 2 horas de antecedência.

As análises químicas foram realizadas nos seguintes laboratórios:

*Laboratório de Enologia e Viticultura (Fazenda Experimental da EPAMIG, Caldas – MG, Brasil):* Teor alcoólico (°GL), acidez total, acidez volátil, dióxido de enxofre total, dióxido de enxofre livre e extrato seco a 100°C.

*Laboratório de Fisiologia e Genética de microrganismos (DBI- UFLA, Lavras-MG, Brasil):* álcoois (etanol, glicerol, metanol, 2,3-butanediol, 1,2-propanediol, isoamílico, 2-feniletanol e hexanol), acetaldeído, e ésteres (acetato de etila, fenilacetato e dietilsuccinato), ácidos orgânicos (ácido acético, ácido láctico, ácido málico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido propiônico e ácido oxálico) e carboidratos (sacarose, glicose e frutose).

##### **4.4.1 Análises físico-químicas**

###### **4.4.1.1 Teor alcoólico**

Foi realizada destilação das bebidas fermentadas de lichia previamente alcalinizada e isenta de CO<sub>2</sub> e posterior medida do grau alcoólico por densimetria. A destilação de aproximadamente 100 mL de amostra foi realizada em Destilador Gibertini modelo Super DEE (Brasil, 1985).

A densidade do destilado foi aferida em densímetro digital Gehaka modelo DSL 950 e o teor de álcool, determinado com base na tabela de conversão densidade/álcool 20/20 913.02 (AOAC, 2000).

###### **4.4.1.2 Acidez total titulável**

Fez-se a titulação utilizando fenolftaleína como indicador do final da reação, que consiste na adição de uma solução de normalidade conhecida de

hidróxido de sódio (NaOH) até a viragem, que corresponde a uma coloração avermelhada a pH 8,2 (Brasil, 1985).

#### **2.4.1.2 Acidez volátil**

A separação dos ácidos voláteis aconteceu através do arraste do vapor d'água na ausência de gás carbônico. A destilação de 20 mL de amostra foi realizada em Destilador Gibertini modelo Super DEE. No final da destilação foram adicionadas, ao destilado, 3 gotas de fenolftaleína a 1% e a amostra foi titulada com NaOH 0,1N até o aparecimento de cor rosa estável por pelo menos 10 segundos (Brasil, 1985). O cálculo foi realizado de acordo com a fórmula: acidez volátil (meq/L) =  $n \times 5 \times f$ , onde: (n = vol (mL) NaOH gasto na titulação e f = fator de correção do NaOH).

#### **4.4.1.4 Anidrido sulfuroso total e anidrido sulfuroso livre**

As amostras foram abertas e imediatamente analisadas quanto aos teores de dióxido de enxofre livre e total pelo método de Ripper, descrito por Ough (1996), que utiliza o princípio de reação de oxido-redução. Depois de uma acidificação enérgica, o dióxido de enxofre é oxidado diretamente pelo iodo até alcançar coloração azulada, utilizando o amido como indicador.

#### **4.4.1.5 Extrato seco a 100 °C**

Uma alíquota de 10 mL de amostra (em triplicata) foi evaporada em chapa de aquecimento até a consistência de xarope. Em seguida, as cápsulas foram mantidas em estufa a 105 °C por 3h. As cápsulas foram transferidas para dessecador e pesadas ao atingirem a temperatura ambiente (Brasil, 1985).

#### **4.4.2 Análises de álcoois, ácidos orgânicos, aldeídos, ésteres e carboidratos**

As concentrações dos álcoois (metanol, etanol e glicerol); dos ácidos orgânicos (acético, láctico, málico, succínico, tartárico, cítrico, propiônico e oxálico) e dos carboidratos (glicose, frutose e sacarose) foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A metodologia utilizada foi modificada a partir de Shimadzu (1998) e Schwan et al. (2001).

Para as análises cromatográficas, as amostras foram retiradas do refrigerador a 10 °C e colocadas à temperatura ambiente por, aproximadamente, 1h antes da análise em CLAE. Depois de estabilizada a temperatura, 100µL das amostras foram diluídos 100 vezes, em água mili-Q, e filtradas em membrana ultrafiltrante (nitrato-celulose) de porosidade 0,20µm, marca Sartorius. Foram utilizados 20µL da amostra para a corrida cromatográfica, injetados manualmente. As amostras foram examinadas em quadruplicata.

Foi utilizado o cromatógrafo de fase líquida Shimadzu, modelo LC-10Ai (Shimadzu Corp. Japão), equipado com detectores de índice de refração, modelo RID-10A, e o de ultravioleta, modelo SPD-10Ai. A coluna utilizada foi de troca catiônica (poliestireno divinil-benzeno), modelo Shim-pack SCR-101H de 30 cm de comprimento e 7,9 mm de diâmetro (Shimadzu).

Para a determinação de carboidratos e álcoois, a coluna operou à temperatura ambiente, tendo como fase móvel água acidificada com ácido perclórico com pH ajustado para 2,1 a um fluxo de 0,6 mL.min<sup>-1</sup>. Os compostos foram detectados através do detector de índice de refração RID.

Para a determinação dos ácidos orgânicos, a coluna operou à temperatura de 50 °C; a fase móvel também foi água acidificada com ácido perclórico com pH ajustado para 2,1 a um fluxo de 0,6 mL.min<sup>-1</sup>. Neste caso utilizou-se o detector de ultravioleta, com comprimento de onda selecionado em 210 nm.

A quantificação foi realizada a partir da comparação com curvas de calibração, determinadas utilizando padrões certificados da marca Supelco.

Os álcoois superiores (1,2-propanediol, 2,3-butanediol, isoamílico, 2-feniletanol e hexanol), acetaldeído, os ésteres (acetato de etila e fenilacetato, dietilsuccinato) e o ácido isobutírico foram analisados por cromatografia gasosa (CG) usando o cromatógrafo Shimadzu modelo 17A, equipado com detector de ionização de chama (DIC). Utilizou-se uma coluna capilar de sílica FFAP HP (30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25  $\mu\text{m}$  (J & W Scientific, Folsom, USA). Para análise no GC, 100  $\mu\text{l}$  de cada amostra (não destilada) foram diluídos 20 vezes em mili-Q e água filtrada, utilizando uma membrana de nitrato-celulose (0,20  $\mu\text{m}$  poros) antes da injeção no CG. As condições de operação foram as seguintes: a temperatura do forno foi mantida em 60  $^{\circ}\text{C}$  durante 3 min, programada para 75  $^{\circ}\text{C}$  a 2  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , mantida a 100  $^{\circ}\text{C}$  por 3 min, programado para 184  $^{\circ}\text{C}$  aumentando 3  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , em seguida mantida a 184  $^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos e, então, programada para 220  $^{\circ}\text{C}$  em 15 min. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas a 240  $^{\circ}\text{C}$  e o gás de arraste ( $\text{N}_2$ ) foi mantido a uma vazão de 1,2  $\text{mL min}^{-1}$ . A identificação de compostos voláteis foi feita por comparação de seus tempos de retenção com os dos padrões. Uma amostra, que continha o padrão interno e compostos padrões em concentrações semelhantes às aquelas encontradas no vinho, também foi tratada da mesma forma como as amostras dos vinhos, e os cálculos finais são descritos com base na concentração desta solução de referência. Avaliação dos diferentes compostos foi realizada em quadruplicata.

#### **4.4.3 Variáveis de resposta do bioprocessamento**

As variáveis de resposta do bioprocessamento  $Y_{P/S}$ ,  $P_{et}$  e  $E_f$  tomaram por base o consumo de substrato e a formação do produto.

#### 4.4.3.1 Fator de rendimento da produção de etanol ( $Y_{P/S}$ )

O fator de rendimento de produção em etanol foi calculado em grama de etanol produzido por grama de açúcares totais consumidos ( $g_P g_S^{-1}$ ).

$Y_{P/S} = P / (S_0 - S)$ , em que:

P = concentração final de etanol ( $g L^{-1}$ );

$S_0$  = concentração inicial de açúcares totais ( $g L^{-1}$ );

S = concentração final de açúcares totais ( $g L^{-1}$ ).

#### 4.4.3.2 Produtividade em etanol ( $P_{et}$ )

A produtividade em etanol, calculada com base na fórmula abaixo, foi quantificada em gramas de etanol produzida por litro de meio fermentado por hora ( $g_P L^{-1} \cdot h^{-1}$ ).

$P_{et} = P / t$ , em que:

P = concentração etanol ( $g L^{-1}$ );

t = tempo de fermentação (em horas).

#### 4.4.3.3 Eficiência fermentativa ( $E_f$ )

A eficiência fermentativa foi calculada pela relação do rendimento em produto do processo e o rendimento teórico.

$$E_f = \frac{Y_{P/S}}{0,511} \times 100$$

#### 4.4.4 Análise sensorial

Para a execução dos testes de aceitabilidade das bebidas, foram selecionados 50 provadores não treinados, constituídos de alunos e professores da Universidade Federal de Lavras (UFLA), com faixa etária superior a 18 anos, de ambos os sexos, sendo todos consumidores de algum tipo de bebida alcoólica fermentada.

Cada um dos provadores experimentou 20 mL de cada uma das bebidas. As amostras foram servidas, separadamente, em taças descartáveis

transparentes, à temperatura ambiente. Para as avaliações sensoriais de aceitabilidade das bebidas com relação aos atributos aparência, aroma e sabor e quanto à aceitação global de cada uma das bebidas, os provadores preencheram uma ficha de avaliação na forma de escala hedônica de nove pontos, que varia de (1) desgostei extremamente até (9) gostei extremamente (Moraes, 1993) (ANEXO B).

#### **4.4.5 Análise estatística**

Os dados das análises de caracterização químicas das bebidas fermentadas de lichia, tais como ácidos orgânicos, álcoois, aldeídos e ésteres, foram analisados por análise de Variância (ANOVA), usando Delineamento Inteiramente Casualizado. Os tratamentos foram dispostos por um fatorial simples (4x4), constituído por 4 tratamentos: 3 diferentes cepas de leveduras (UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174) e fermentação espontânea, com 4 repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando software de estatística SISVAR 4.3 (Ferreira, 2000).

Os resultados da análise sensorial foram avaliados pela análise de Variância em Blocos Casualizados em nível de 5% de significância. A comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Tukey.

As diferenças nas quantidades de cada constituinte determinado nas bebidas fermentadas de lichia foram analisadas pela análise dos componentes principais (PCA, *Principal Component Analysis*). Os dados obtidos foram autoescalonados como forma de pré-processamento antes das análises por PCA e AHA (análise hierárquica de agrupamento). Para ambas as análises utilizou-se o software MATLAB (Versão 7.5, 2007).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização da polpa de lichia

A polpa de lichia “*in natura*” foi caracterizada quimicamente antes de iniciar o processo de fermentação. As médias dos resultados das análises feitas em triplicata estão mostradas na Tabela 1.

Os resultados encontrados para a composição centesimal da lichia estão próximos aos encontrados pela USDA (2007). Confrontando os valores observados com os apresentados por Salunkhe & Desai (1986), verifica-se que a lichia “bengal” é rica em K e P, contendo-os em quantidades superiores às do pêsego, da laranja, da uva, da maçã e do morango. O conteúdo de P em lichia foi comparável ao da banana; no entanto, a lichia é pobre em Ca considerando as necessidades nutricionais humanas.

A polpa de lichia apresentou uma concentração de sólidos solúveis totais de 16 °Brix. No entanto, foi necessário adicionar sacarose ao mosto para que a bebida fermentada obtida apresentasse uma graduação alcoólica entre 10 e 13°GL. O pH de 4,16 da polpa de lichia estava adequado para a fermentação alcoólica e de acordo com a faixa de pH ótimo, que deve estar entre 4 a 4,5 para conduzir uma boa fermentação (Lopes et al., 2005); portanto, não foi necessário fazer a correção do mesmo.

A extração da polpa da lichia apresentou um rendimento de 56,4%. O tipo de despolpa utilizado, a despolpa manual, não interferiu no rendimento da polpa, uma vez que a casca e a semente não se apresentavam aderida à polpa e, portanto, foram de fácil separação.

**TABELA 1** Caracterização físico-química da polpa de lichia (*Litchi chinensis* Sonn) “in natura”

<b>Análises realizadas</b>	<b>Polpa “in natura”</b>	<b>Dados da USDA*</b>
Sólidos solúveis (°Brix)	16,5	-
pH	4,16	-
Acidez Titulável (% ác. málico)	0,397	-
Glicose (g L <sup>-1</sup> )	73,153	-
Frutose (g L <sup>-1</sup> )	73,219	-
Sacarose (g L <sup>-1</sup> )	13,11	-
Ácido málico (g L <sup>-1</sup> )	10,783	-
Ácido cítrico (g L <sup>-1</sup> )	0,630	-
Pectina solúvel (mg 100g <sup>-1</sup> )	33,05	-
Pectina total (mg 100g <sup>-1</sup> )	42,27	-
Poligacturonase (EU/g/min)	0,0876	-
Pectinametilesterase (EU/g/min)	520	-
Umidade	81,56	81,76
Proteínas (% matéria integral)	0,53	0,83
Extrato etéreo (% matéria integral)	0,38	0,44
Cinzas (% matéria integral)	0,88	0,44
Fibras (% matéria integral)	1,45	1,3
Fração glicídica (% matéria integral)	15,20	16,53
Minerais (mg/100g)		
Ca	5,6	5
K	200	171
P	20	31
S	100	-
Mg	10	10
Na	12,76	1
Cu	0,651	0,148
Mn	0,1	0,055
Zn	3,990	0,07
Fe	1,535	0,31

\*Fonte: USDA (2007).

## **5.2 Análises dos mostos durante a fermentação**

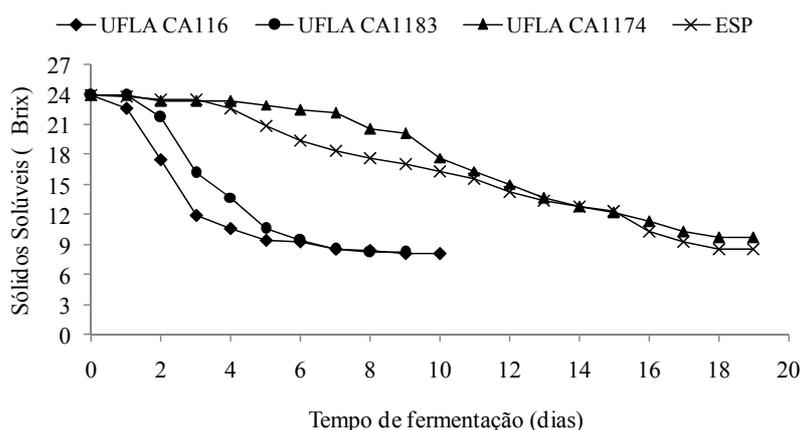
O progresso da fermentação do mosto de lichia, empregando fermentação espontânea (ESP) e fermentação inoculada com diferentes leveduras (UFLA CA116, UFLA CA1174, UFLA CA1183), foi acompanhado pelas análises de sólidos solúveis (SS), açúcares redutores (glicose e frutose), açúcar não-redutor (sacarose), acidez titulável (AT), pH e etanol. O final da fermentação foi determinado pela estabilização do valor do grau Brix, obtido pela leitura em refratômetro (Ough, 1992).

O monitoramento diário permitiu observar as mudanças na constituição química do mosto, indicativas do processo fermentativo. A duração da fermentação variou de 9 a 10 dias para as bebidas fermentadas com as leveduras UFLA CA1183 e UFLA CA116, respectivamente, e foi de 19 dias para as bebidas fermentadas com a levedura UFLA CA1174 e pela fermentação espontânea.

Durante os primeiros dias da fermentação, foram observadas diferenças quanto ao consumo de sólidos solúveis entre os mostos de lichia inoculados com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174 e fermentado espontaneamente (Figura 1). A utilização do açúcar do mosto foi mais rápida pelas leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 nos primeiros dias de fermentação e continuou a uma taxa constante até a estabilização do grau Brix. Os processos conduzidos com a levedura UFLA CA1174 e com fermentação espontânea apresentaram um consumo do açúcar do mosto mais lento durante os 19 dias de fermentação.

No entanto, os quatro processos apresentaram, no final da fermentação, resultados próximos quanto aos teores de sólidos solúveis, que foram da ordem de 8,1; 8,2; 9,7 e 8,6 °Brix para as bebidas inoculadas com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174 e para a bebida obtida pela fermentação espontânea, respectivamente.

Garde-Cerdán & Ancín-Azpilicueta (2006) observaram que a porcentagem de açúcares consumidos diariamente, até 99% do consumo dos açúcares totais, foi 3 vezes maior na fermentação inoculada com leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, comparada à fermentação espontânea, em vinhos de uvas *Vitis vinifera* var. *Parellada*. Nurgel et al. (2002) encontraram uma taxa de fermentação de mosto de uva maior nas fermentações em que se utilizou *S. cerevisiae* comercial. A fermentação espontânea foi mais lenta, com o término do processo ocorrendo 4 dias após o término da fermentação inoculada.



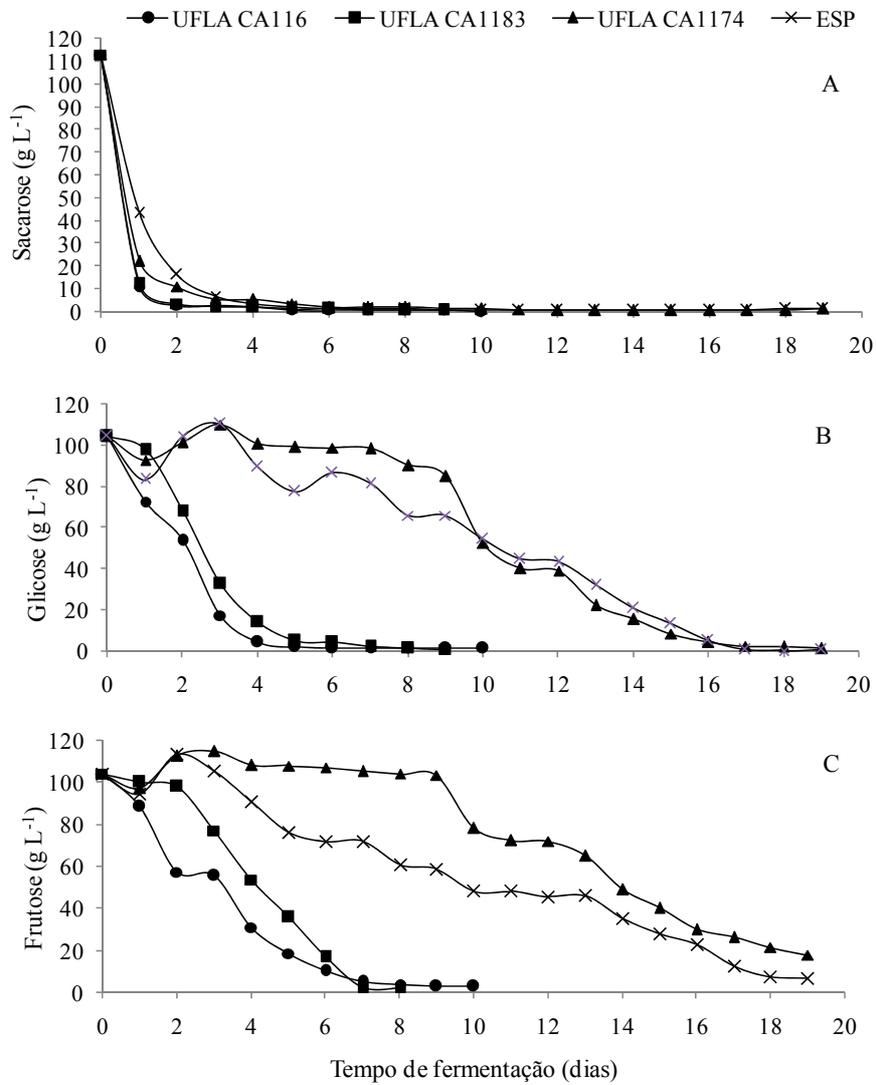
**FIGURA 1** Consumo de sólidos solúveis durante os processos fermentativos para obtenção de bebidas alcoólicas fermentadas de lichia, através de fermentação espontânea (ESP) e fermentação inoculada com diferentes leveduras (UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174).

As rápidas velocidades de fermentação do mosto de lichia pelas leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183, no início do processo fermentativo, mostraram que a composição nutricional do mosto foi adequada para o

crescimento e multiplicação dessas leveduras. Ao contrário, a menor taxa de consumo de substratos nos processos conduzidos com a levedura UFLA CA1174 pode estar relacionada às dificuldades adaptativas destas leveduras (Lebeau et al., 1998) às condições nutricionais, de pH, acidez e temperatura sob as quais o processo fermentativo foi conduzido. O processo conduzido com fermentação espontânea (ESP) do mosto também apresentou baixa velocidade de fermentação, o que pode ser atribuído à presença de leveduras não-*Saccharomyces* no início do processo fermentativo. Estas leveduras se caracterizam por uma baixa eficiência fermentativa, contribuindo para uma menor taxa de consumo dos açúcares.

Amaral (2004) estudou a capacidade de três cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (UFLA CA1174, UFLA CA1183 e UFLA CA1162) de fermentar a polpa de jaboticaba a 24°C. Diante dos resultados, o isolado UFLA CA1174 foi o que apresentou maior capacidade fermentativa, seguido pelos isolados CA1183 e CA1162, respectivamente. Este resultado evidencia os diferentes comportamentos das leveduras (por exemplo a UFLA CA1174) frente a diferentes meios fermentativos (tais como o meio de jaboticaba e lichia) e as diferentes condições de fermentação.

Na Figura 2 estão demonstrados os valores da concentração dos principais açúcares (**sacarose, glicose e frutose**) presentes no mosto de lichia durante os processos fermentativos conduzidos com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174 e o processo conduzido pela fermentação espontânea.



**FIGURA 2** Consumo de sacarose (A), glicose (B) e frutose (C) durante os processos fermentativos para obtenção de bebidas alcoólicas fermentadas de lichia, através de fermentação espontânea (ESP) e fermentação inoculada com diferentes leveduras (UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174).

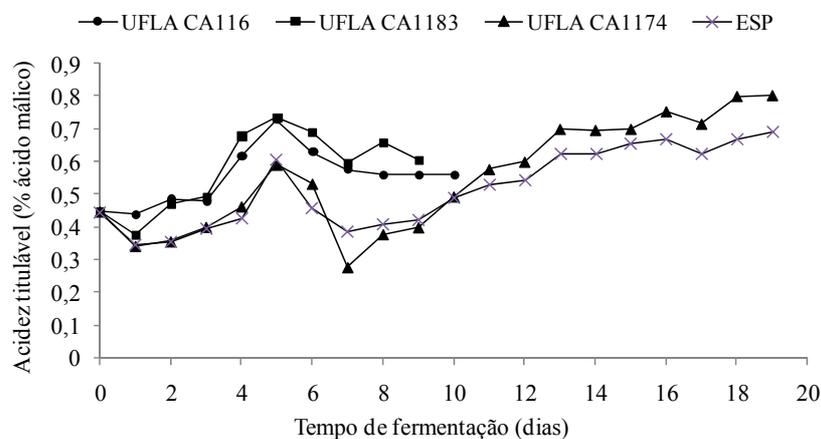
Observou-se que os processos fermentativos conduzidos com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183, quando comparados aos processos conduzidos com as leveduras UFLA CA1174 e com fermentação espontânea, iniciaram o consumo de sacarose, glicose e frutose mais rapidamente (Figura 2A, 2B e 2C).

Os consumos da sacarose nas primeiras 24 horas de fermentação (Figura 2A) foram de 90,28% (UFLA CA116), 89,5% (UFLA CA1183), 80,19% (UFLA CA1174) e 61,89% na fermentação espontânea e evidenciam uma rápida conversão da sacarose em seus monossacarídeos fermentescíveis, glicose e frutose. Segundo Souza et al. (1995), em condições de muita aeração a atividade da invertase é 700 vezes maior que a fermentação.

Os teores residuais de glicose (Figura 2B) no último dia de fermentação dos mostos de lichia inoculados com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174 e o mosto fermentado espontaneamente foram  $1,43 \text{ g L}^{-1}$ ;  $0,82 \text{ g L}^{-1}$ ;  $1,20 \text{ g L}^{-1}$  e  $0,32 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente. É interessante notar que os valores de glicose ao final da fermentação encontram-se próximos de zero para a maioria dos ensaios, indicando total consumo do substrato, o que também contribui para uma boa sanidade do vinho (Pato, 1982). Entretanto, essa observação não é válida para os teores de frutose nos processos fermentativos analisados. Observa-se que a glicose é consumida preferencialmente, em detrimento da frutose. Este efeito é chamado diauxia, no qual a levedura tem preferência por um substrato em detrimento do outro (Schlegel, 1990). De acordo com os resultados obtidos (Figura 2C), pode-se verificar que os mostos inoculados com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 apresentaram valores residuais de frutose de  $3,00 \text{ g L}^{-1}$  e  $2,42 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente, no último dia de fermentação. Entretanto, os processos conduzidos com fermentação espontânea e com a levedura UFLA CA1174 deixaram um maior teor remanescente deste açúcar, de  $6,95 \text{ g L}^{-1}$  e  $10,95 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente.

Amaral (2004), avaliando a capacidade fermentativa dos isolados *S. cerevisiae* UFLA CA1183, UFLA CA1174 e UFLA CA1162 em polpa de jabuticaba, observou que os isolados CA1174 e CA1183 apresentaram resultados semelhantes quando se avaliou o consumo de açúcares redutores durante o período de fermentação (1,63 e 1,43 g L<sup>-1</sup> para UFLA CA1183 e UFLA CA1174, respectivamente). Isto se deve, em parte, à diferente formulação dos mostos de lichia e jabuticaba como fonte nitrogenada (forma de aminos) e de minerais. Os nutrientes são necessários para o bom desenvolvimento da fermentação, afetando a velocidade e a multiplicação da levedura. A concentração adequada de nutrientes do mosto é de suma importância, pois se presentes em quantidades insuficientes ou exageradas, podem refletir de forma negativa sobre o processo fermentativo. Segundo Ough (1996), algumas leveduras requerem menos nutrientes e há algumas que fermentam mais rapidamente que outras. A velocidade de fermentação depende do número de células, o qual, por sua vez, é influenciado pelos nutrientes do mosto, da concentração de açúcar e álcool, do pH, da temperatura e da agitação.

O teor de **acidez titulável** diferiu entre os processos fermentativos conduzidos pelas leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174 e fermentação espontânea a partir do primeiro dia de fermentação (Figura 3). É importante ressaltar que a variação na acidez durante a fermentação tem grande influência na estabilidade e na coloração das bebidas fermentadas (Rizzon et al., 1994).

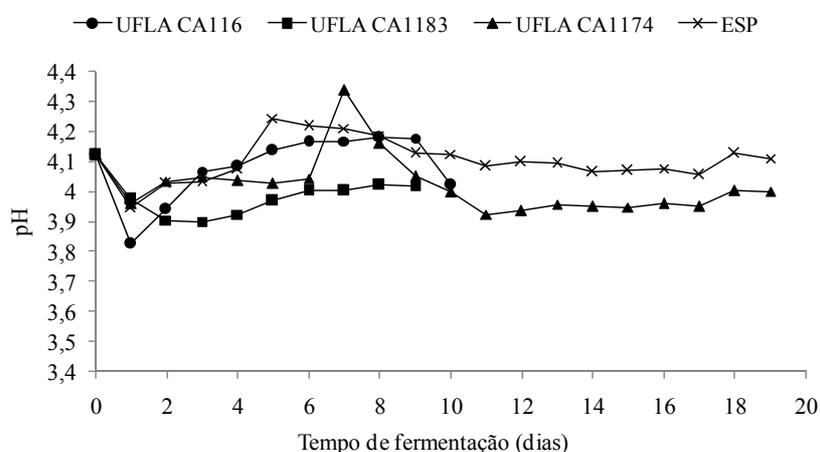


**FIGURA 3** Valores de acidez titulável (% ácido málico) durante os processos fermentativos para obtenção de bebidas alcoólicas fermentadas de lichia, através de fermentação espontânea (ESP) e fermentação inoculada com diferentes leveduras (UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174).

Em todos os processos, a acidez titulável apresentou um aumento ao longo do período de fermentação. O aumento da acidez total e, conseqüentemente, a redução no valor de pH ao longo do processo fermentativo são decorrentes da produção de ácidos orgânicos, como ácido lático, acético e succínico (Borzani et al., 1983). O valor de acidez titulável no início do processo fermentativo era 0,45 e aumentou para 0,56; 0,60; 0,8 e 0,69 (% ácido málico) para os as bebidas fermentadas obtidas através da fermentação com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174 e fermentação espontânea, respectivamente.

Diferentes valores de **pH** foram encontrados neste estudo, com valores finais de 4,02; 4,0 e 4,02, para os processos fermentativos nos quais se utilizaram leveduras inoculadas (UFLA CA116, UFLA CA1174 e UFLA CA1183, respectivamente), e 4,11 na fermentação espontânea (Figura 4),

verificando-se que a faixa de pH (3,89 a 4,57) durante o processo de fermentação foi suficiente para permitir uma rápida fermentação alcoólica e inibir bactérias indesejáveis. Comportamentos semelhantes na acidez e pH durante o processo fermentativo também foram verificadas por Bortolini et al. (2001), Andrade et al. (2003) e Torres Neto et al. (2006).



**FIGURA 4** Valores de pH obtidos durante os processos fermentativos para obtenção de bebidas alcoólicas fermentadas de lichia, através de fermentação espontânea (ESP) e fermentação inoculada com diferentes leveduras (UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174).

Bortolini et al. (2001), avaliando as fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi em diferentes composições de mosto, observaram que valores de pH iniciais variaram de 3,8 a 4,0 entre os tratamentos. Segundo estes autores, esta faixa de pH utilizada foi suficiente para permitir uma rápida fermentação alcoólica e inibir bactérias indesejáveis. Ao longo do processo fermentativo foi

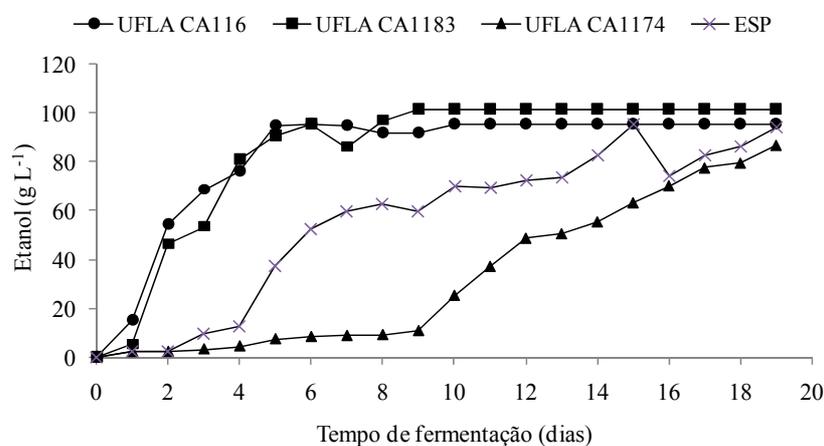
verificada uma pequena queda, própria da produção de ácidos orgânicos, reduzindo os valores de pH iniciais para uma faixa aproximada de 3,6.

Comparando os resultados obtidos para a concentração de **etanol** (Figura 5) produzida durante o processo fermentativo do mosto de lichia pelas leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174 e pela fermentação espontânea, observa-se que as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 apresentaram melhor desempenho fermentativo, evidenciado pelas maiores taxas de produção de etanol em menor tempo de fermentação (Figura 5).

As concentrações de etanol encontradas no último dia de fermentação de cada levedura foram de 92,52 g L<sup>-1</sup> (UFLA CA116); 100,01 g L<sup>-1</sup> (UFLA CA1183); 86,83 g L<sup>-1</sup> (UFLA CA1174) e 91,09 g L<sup>-1</sup> na fermentação espontânea. Estes resultados estão diretamente relacionados com o teor de açúcares redutores residuais encontrados. Os processos conduzidos com a levedura UFLA CA1174 e com a fermentação espontânea, que apresentaram os maiores teores de frutose remanescente no mosto no último dia de fermentação, também apresentaram as menores concentrações de etanol; ao contrário, as leveduras UFLA CA1183 e UFLA CA116 apresentaram um maior rendimento fermentativo, com maior consumo de açúcares e, conseqüentemente, maior produções de etanol.

Segundo Souza et al. (1995), fermentações inoculadas sempre produziram uma maior quantidade de álcool do que as fermentações espontânea, indicando a eficiência de linhagens comerciais.

A menor taxa de consumo de substrato pode estar atrelada às dificuldades adaptativas do agente fermentativo ao meio (Lebeau et al., 1998) e a uma menor resistência das leveduras a elevadas concentrações de etanol, formadas nos últimos dias de fermentação.



**FIGURA 5** Concentração de etanol obtida durante os processos fermentativos para obtenção de bebidas alcoólicas fermentadas de lichia, através de fermentação espontânea (ESP) e fermentação inoculada com diferentes leveduras (UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174).

A Tabela 2 apresenta os valores resultantes das avaliações das variáveis de resposta dos processos fermentativos conduzidos por fermentação espontânea e fermentação inoculada do mosto de lichia. Observou-se que as fermentações conduzidas com a levedura UFLA CA1174 apresentaram os menores valores de rendimento em etanol ( $Y_{P/S}$ ), produtividade em etanol ( $P_{et}$ ) e eficiência fermentativa ( $E_f$ ) quando comparadas aos processos conduzidos com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 e pela fermentação espontânea. Contudo, os valores de rendimento, produtividade e eficiência fermentativa para as bebidas elaborada com a levedura UFLA CA1183 foram os maiores.

Wang et al. (2001) reportam que a produtividade em etanol é de maior interesse para o planejamento técnico da fermentação uma vez que descreve a velocidade de síntese do produto.

**TABELA 2** Variáveis de resposta do rendimento dos processos fermentativos para elaboração de bebidas fermentadas de lichia conduzidos por fermentação espontânea (ESP) e fermentação inoculada com diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (UFLA CA116, UFLA CA 1183 e UFLA CA1174)

Variáveis	UFLA CA116	UFLA CA1183	UFLA CA1174	ESP
$Y_{p/s}$ (g /g)	0,479	0,491	0,460	0,480
$P_{et}$ (g L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	0,392	0,448	0,189	0,200
$E_f$ (%)	93,73	96,08	90,01	93,93

### 5.3 Análises realizadas nas bebidas fermentadas de lichia

#### 5.3.1 Caracterização físico-química das bebidas

Os parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira e seus limites para a caracterização de vinhos de mesa e a composição físico-química das bebidas fermentadas de lichia, inoculadas com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174, e a bebida fermentada, obtida pela fermentação espontânea (ESP), estão mostrados na Tabela 2.

Em relação ao **grau alcoólico**, pode-se observar que as quatro bebidas, obtidas tanto pela fermentação inoculada quanto pela fermentação espontânea do mosto de lichia, obtiveram valores dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente (Brasil, 1988) para vinhos de mesa (10 a 13°GL).

As bebidas obtidas pela inoculação das leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 apresentaram valores mais elevados de etanol, comparados aos das bebidas obtidas pela inoculação de levedura UFLA CA1174 e pela fermentação espontânea do mosto, apresentando um maior rendimento fermentativo.

**TABELA 2** Valores físico-químicos encontrados nas bebidas fermentadas de lichia comparados aos valores legais estabelecidos para vinho

Índices para vinho de mesa	Limites		UFLA CA116	UFLA CA1183	UFLA CA1174	ESP
	Mín	Máx				
Álcool etílico (°GL)*	10,0	13,0	12,3± 0,08	12,42± 0,05	11,16 ±0,06	11,62± 0,04
Álcool metílico (g L <sup>-1</sup> )*	-	0,35	0,12	0,11	0,25	0,19
Acidez total titulável (meq L <sup>-1</sup> )*	55,0	130,0	79,00	88,00	109,00	90,00
Acidez volátil (meq L <sup>-1</sup> )*	-	20,0	20,25±2,36	18,25± 1,30	64,62± 2,30	61,37 ±3,36
Sulfatos totais em K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (g L <sup>-1</sup> )*	-	1,0	na	na	na	na
Cloretos totais em NaCl (g L <sup>-1</sup> )*	-	0,20	na	na	na	na
SO <sub>2</sub> total (mg L <sup>-1</sup> )*	-	350	12,8	12,8	11,36	11,36
SO <sub>2</sub> livre (mg L <sup>-1</sup> )	-	-	8,0	8,0	4,8	4,8
Extrato seco (g L <sup>-1</sup> )	-	-	21,60± 1,16	21,93± 1,46	38,20± 0,93	26,52± 3,14
pH	-	-	3,99	3,90	3,74	3,88
Açúcares totais:						
Vinho seco (g L <sup>-1</sup> )*	5,0	-	0,70	0,57	0,826	0,17
Vinho meio seco (g L <sup>-1</sup> )*	5,1	20,0	-	-	-	-
Vinho suave ou doce (g L <sup>-1</sup> )*	20,1	-	-	-	-	-

\* Limites analíticos estabelecidos pela legislação brasileira para vinho de mesa Fonte: Brasil (1988). na = parâmetro não avaliado; - limite não estabelecido.

Em estudos com fermentados de frutas, tais como cajá (Dias et al., 2003), cirigüela (Muniz et al., 2002), caju (Torres Neto et al., 2006) e laranja (Corazza et al., 2001), estes autores também obtiveram resultados, quanto ao teor alcoólico, que se enquadraram dentro da faixa de teor alcoólico determinada pelo MAPA (Brasil, 1988). Os resultados encontrados por estes autores foram 12,0 °GL; 10 °GL; 11,5 °GL e 10,6 °GL, respectivamente.

O **metanol** é um álcool resultante da ação da pectinametilesterase sobre a cadeia de pectinas presente nos frutos. É um componente tóxico, no entanto seu limite permitido pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento (Brasil, 1988) para vinhos é de no máximo 0,35 g L<sup>-1</sup>. Os valores obtidos a partir dos fermentados de lichia encontram-se abaixo do limite estabelecido, pois o máximo observado foi da ordem de 0,25 g L<sup>-1</sup> (Tabela 2).

Cabaroglu (2005) menciona que normalmente os vinhos contêm metanol. Sabe-se que a formação deste é dependente de alguns fatores como conteúdo de pectina no fruto, forma de processamento, temperatura e tratamento enzimático.

As análises acidez total e volátil são importantes porque nos permitem inferir sobre a qualidade e a sanidade dos vinhos. A **acidez total titulável** é dada pelo conjunto dos ácidos orgânicos que se encontram em solução, em equilíbrio com seus respectivos sais ácidos. Ela é resultante dos ácidos orgânicos adicionados intencionalmente durante o processo e daqueles resultantes de alterações químicas da bebida. Portanto, a determinação da acidez total em bebidas fermentadas pode nos fornecer dados valiosos na apreciação do processamento e do estado de conservação da bebida (Ough, 1996).

Os resultados de acidez total titulável obtidos para as bebidas apresentaram valores de 79 meq L<sup>-1</sup> (UFLA CA116), 88 meq L<sup>-1</sup> (UFLA CA1183), 90 meq L<sup>-1</sup> (ESP) e 109 meq L<sup>-1</sup> (UFLA CA1174), que estão dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira (Brasil, 1988), a qual

determina máximo de 130 meq L<sup>-1</sup> e mínimo de 55 meq L<sup>-1</sup> (Tabela 2). Embora a faixa de acidez titulável nas bebidas fermentadas seja elevada, Rizzon et al. (1996) sugerem que, para vinho, a acidez total deve estar compreendida entre 60 e 90 meq L<sup>-1</sup>. Assim, de acordo com esses autores, todas as bebidas estariam dentro desse limite, com exceção da UFLA CA1174, que apresentou um teor de 109,0 meq L<sup>-1</sup>.

Alguns autores, como Rizzon & Gasparim (2005) e Manfroi et al. (2006), analisaram diferentes tipos de vinhos elaborados a partir da uva e encontraram amostras dentro dos padrões legais vigentes, sendo que o valor médio observado foi de 101,29 meq L<sup>-1</sup>, indicando maior controle da fermentação e da produção do vinho em relação ao fermentado de jaboticaba elaborado por Silva et al. (2008) em diferentes safras (de 2001 a 2005), o qual foi considerado de acidez elevada, já que a maioria das amostras, em todas as safras, apresentou valores superiores a 130 meq L<sup>-1</sup>.

Em trabalho realizado com fermentados de frutas tropicais, foram observados valores mais elevados de acidez total em relação aos vinhos tradicionais, sendo relevantes os fermentados de laranja (135 meq L<sup>-1</sup>) (Corazza et al., 2001) e de caju (120 meq L<sup>-1</sup>) (Torres et al., 2006). Já em estudo realizado com fermentado de cajá (Dias et al., 2003) foi verificado valor de acidez total de 29 meq L<sup>-1</sup>, inferior ao limite mínimo estabelecido pelo MAPA (Brasil, 1988).

O teor de **acidez volátil** mede o grau de avinagramento do vinho e deve ser o mais baixo possível. É uma boa indicação da sanidade e qualidade do vinho, porém é normal que todo vinho apresente acidez volátil, uma vez que o ácido acético é um produto secundário normal da fermentação alcoólica. A acidez total pode ser reduzida pela adição de composto alcalino permitido, mas a acidez volátil não se reduz (Hashizume, 2001).

Pelos valores listados na Tabela 2, notou-se que as bebidas fermentadas produzidas a partir do mosto de lichia apresentaram quantidade superior de

acidez volátil em relação ao estabelecido pela legislação, exceto a bebida fermentada com a levedura UFLA CA1183. As bebidas em que a levedura UFLA CA1174 foi inoculada e as bebidas obtidas por fermentação espontânea apresentaram valores de acidez volátil de 64,62 meq/L e 61,37 meq/L, respectivamente. A bebida obtida pela fermentação inoculada com a levedura UFLA CA116 apresentou teor de acidez volátil pouco acima daquele permitido pela legislação (Brasil, 1988) (Tabela 2).

Teores elevados de acidez volátil em vinhos podem ser provenientes de alterações microbiológicas, causadas pela má sanidade da fruta, pela falta de limpeza e higiene dos recipientes e por outros procedimentos inadequados na vinificação (Rizzon et al., 1996). Considerando que as bebidas fermentadas obtidas neste trabalho foram elaboradas sob boas condições de higiene e com frutos sadios, este alto teor de acidez volátil pode estar relacionado com a conservação destas bebidas. Estes altos teores de acidez volátil podem estar relacionados com os processos finais da elaboração de vinhos, indicando a presença de microrganismos indesejáveis após a elaboração da bebida, decorrente da exposição do vinho ao oxigênio atmosférico, que eventualmente podem converter o vinho em vinagre, evidenciando de avinagramento. A azedia ou avinagramento ocasiona elevação considerável da acidez volátil, uma vez que bactérias acéticas transformam o álcool etílico em ácido acético, principal componente deste tipo de acidez. Para prevenir doenças de azedia, um dos principais cuidados é manter o recipiente sempre bem atestado (preenchido até o topo) (Silva et al., 2008).

Silva et al. (2008), comparando cinco safras de fermentado de jabuticaba, verificaram que até a safra de 2005, mais da metade das amostras analisadas ultrapassaram o limite máximo de acidez volátil estabelecido pela legislação (Brasil, 1988). Observando os dados de outras pesquisas, verificou-se que, em geral, tanto vinhos quanto fermentados de frutas tropicais apresentaram

acidez volátil inferior a  $20 \text{ meq L}^{-1}$ , ao contrário do que foi encontrado neste trabalho. De acordo com a literatura (Silva et al., 1999; Manfroi et al., 2006), o maior valor médio para este parâmetro foi de  $15,86 \text{ meq L}^{-1}$  para vinhos de uva. Fermentados de cacau, cajá e maçã apresentaram valores reduzidos, de  $6,5 \text{ meq L}^{-1}$  (Dias et al., 2007);  $5,5 \text{ meq L}^{-1}$  (Dias et al., 2003) e  $1,67 \text{ meq L}^{-1}$  (Fertonani et al., 2006), respectivamente.

Os resultados referentes ao **dióxido de enxofre total** encontraram-se de acordo com a legislação vigente (Brasil, 1988), que recomenda uma quantidade menor que  $350 \text{ mg L}^{-1}$ . Todas as amostras apresentaram concentração de anidrido sulfuroso inferiores a  $50 \text{ mg L}^{-1}$  (Tabela 2). Este resultado também foi verificado por Silva et al. (1999) para diferentes tipos de vinho de uva provenientes do sul de Minas Gerais e para fermentados de jabuticaba de diferentes safras (2002-2006) analisados por Silva et al. (2008).

Observou-se grande diminuição no teor de dióxido de enxofre total nas bebidas finais ( $< 0,02 \text{ g L}^{-1}$ ), quando comparado ao teor adicionado no início do processo fermentativo ( $0,100 \text{ g L}^{-1}$ ). Segundo Benassi (1997), certa quantidade de  $\text{SO}_2$  acrescentado a fases preliminares é perdida durante a fermentação. Este autor observou, ainda, que da concentração de  $75 \text{ mg L}^{-1}$  de sulfito adicionados ao suco de uva no início da fermentação, cerca de 89,05% foram consumidos.

Baixas concentrações deste composto podem não ser eficazes na conservação do fermentado de frutas, reduzindo a vida-de-prateleira do produto e provocando efeitos indesejados como oxidação, escurecimento e aumento no teor de acetaldeído nestas bebidas. Em linhas gerais, o papel do  $\text{SO}_2$  no vinho está relacionado com a sua capacidade em competir com o oxigênio pelos grupos químicos susceptíveis à oxidação, inibindo algumas reações de oxidação causadas pelo oxigênio molecular. Ainda não se conhece o mecanismo exato da inibição, mas sabe-se que o  $\text{SO}_2$  desestabiliza as pontes de enxofre que mantêm a conformação natural das enzimas oxidativas responsáveis pelo escurecimento

(Azevêdo et al., 2007). Quanto ao acetaldeído, este tende a se ligar ao metabissulfito formando os ácidos  $\alpha$ -hidroxietanossulfônicos, de alta estabilidade. Portanto, a ausência ou a baixa concentração de SO<sub>2</sub> livre provoca uma fraca dissociação do ácido  $\alpha$ -hidroxietanossulfônico, de modo a restabelecer o equilíbrio da reação, liberando parte do acetaldeído e, com isso, atribuindo um caráter alterado ao vinho. Já no vinho que contém grandes concentrações de SO<sub>2</sub> livre, a presença de acetaldeído livre é pouco provável (Ribereau-Gayon et al., 2003).

O **extrato seco total** do vinho corresponde ao peso do resíduo seco obtido após a evaporação dos compostos voláteis. Representa, portanto, a soma das substâncias que, em determinadas condições físicas, não se volatilizam. Essas condições devem ser estabelecidas de modo que esses compostos tenham uma alteração mínima. Entre os principais grupos que compõem o extrato seco total encontram-se os ácidos fixos, sais orgânicos e minerais, poliálcoois, compostos fenólicos, compostos nitrogenados, açúcares e polissacarídeos (Rizzon et al., 1996).

De acordo com Hashizume (2001) e Zoecklein et al. (2001), vinhos com menos de 20 g L<sup>-1</sup> de extrato seco são considerados leves ou magros, resultando em um paladar delicado. Os teores de extrato seco das amostras de bebidas fermentadas de lichia situaram-se entre 21,60 e 38,2 g L<sup>-1</sup>. Estes resultados estão um pouco acima do teor indicado por esses autores para considerar o vinho como leve, mas os teores de extrato seco encontrados para as bebidas fermentadas com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183 e por fermentação espontânea concordam com os teores observados por Rizzon et al. (1996), os quais se situaram entre 13,6 a 27,6 g.L<sup>-1</sup> nos vinhos brancos secos. Somente a bebida obtida pela fermentação com a levedura UFLA CA1174 apresentou teores mais elevados de extrato seco total que os teores encontrados por estes autores.

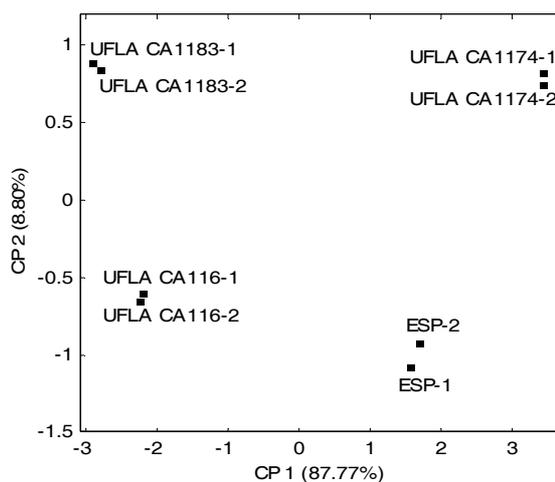
As bebidas fermentadas obtidas neste trabalho apresentaram valores de **pH** de 3,99 (UFLA CA 116); 3,90 (UFLA CA1183); 3,74 (UFLA CA1174) E 3,88 (fermentação espontânea) (Tabela 2). Nurgel et al. (2002) encontraram valores de pH similares (aproximadamente 3,8) para ambas as bebidas, produzidas por fermentação inoculada ou espontânea em um vinho de uva da cv. *Emir*, nativa da Turquia. Duarte et al. (2009) encontraram valores de pH de 3,77 para as bebidas fermentadas de gabioba obtidas pela inoculação de leveduras selecionadas com a levedura UFLA CA1162 e valor de pH de 3,73 para bebida obtida pela fermentação espontânea do mosto.

Com relação aos **açúcares residuais** nas bebidas fermentadas de lichia, os resultados apresentados na Tabela 2 revelaram que aquelas oriundas dos processos conduzidos com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 apresentaram os menores valores. As concentrações finais dos açúcares redutores totais (g de glicose. L<sup>-1</sup>) nos permitem classificar todas as bebidas fermentadas de lichia provenientes do mosto inoculado com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183, UFLA CA1174 e fermentadas espontaneamente, em secas, de acordo com a Legislação vigente para vinhos, uma vez que estas apresentaram menos de 5,0 g L<sup>-1</sup> de glicose.

#### **5.3.1.1 Análises quimiométricas**

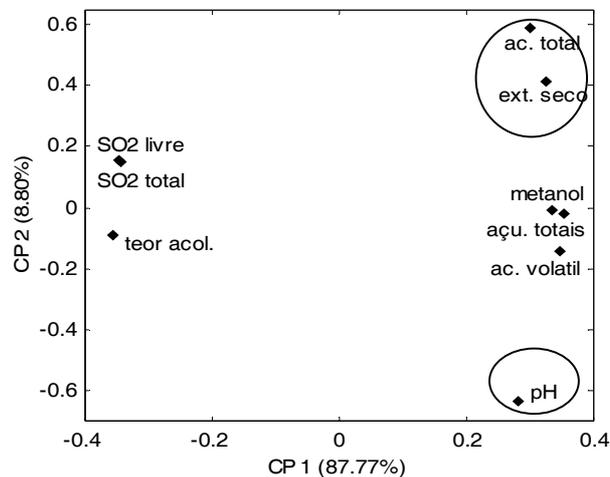
A análise dos componentes principais (PCA) mostrou que 96,57% das informações contidas na Tabela 2 podem ser representadas em duas componentes principais, CP1 e CP2. Na Figura 6 é apresentado o gráfico dos escores (que traz informações sobre o comportamento das amostras diante das variáveis analisadas) das componentes principais, CP1 (com 87,77% da variância) *versus* CP2 (com 8,80% da variância). Nesta figura é possível notar que CP1 separa as bebidas fermentadas de lichia inoculadas com as leveduras UFLA CA1183 e UFLA CA116, em valores de escores negativos, das bebidas

fermentadas com a levedura UFLA CA1174 e fermentadas espontaneamente, em valores de escores positivos.



**FIGURA 6** Gráfico de escores das duas primeiras componentes principais para as quatro bebidas fermentadas de lichia obtidas pela fermentação espontânea (ESP) e pela fermentação inoculada com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174.

Uma inspeção no gráfico dos pesos (Figura 7) mostra que a separação entre as bebidas fermentadas de lichia em CP1 é determinada, essencialmente, pelas maiores concentrações de acidez total, extrato seco, metanol, açúcares, acidez volátil e pH, caracterizando as bebidas fermentadas com a levedura UFLA CA1174 e pela fermentação espontânea (com pesos positivos). Por outro lado, altas concentrações de SO<sub>2</sub> total, SO<sub>2</sub> livre e teor alcoólico (com pesos negativos) justificam a disposição das bebidas fermentadas com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 à esquerda do gráfico.

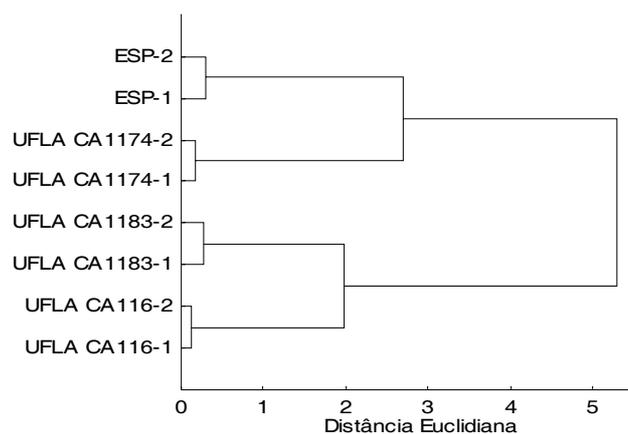


**FIGURA 7** Gráfico dos pesos das duas primeiras componentes principais para as quatro bebidas fermentadas de lichia obtidas pela fermentação espontânea (ESP) e pela fermentação inoculada com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174.

A fim de avaliar os resultados obtidos pela PCA, realizou-se uma análise por agrupamento hierárquico (AHA). Esta é uma ferramenta excelente para análise preliminar dos dados (Sharaf et al., 1986; Beebe et al., 1998), sendo útil para determinar a semelhança entre objetos e identificar amostras anômalas. O método relaciona as amostras de forma que as mais semelhantes são agrupadas entre si com relação às variáveis usadas no processo de agrupamento (Morgano et al., 1999).

O dendograma obtido (Figura 8) revelou claramente os principais grupos de bebidas. Um grupo foi identificado pela semelhança entre as bebidas resultantes da fermentação pelas leveduras selecionadas UFLA CA116 e UFLA

CA1183. O outro grupo se caracteriza pelas bebidas fermentadas espontaneamente e pela levedura UFLA CA1174.



**FIGURA 8** Dendrograma obtido na análise hierárquica de agrupamento das quatro bebidas fermentadas de lichia.

### 5.3.2 Composição química das bebidas fermentadas de lichia

Os resultados para os constituintes químicos das bebidas, como ácidos, aldeídos, ésteres e alcoóis, foram submetidos ao teste estatístico (ANOVA) para identificar se há diferença significativa entre as quatro bebidas fermentadas obtidas a partir do mosto de lichia.

#### 5.3.2.1 Ácidos orgânicos

Crivellaro & Barnabé (2005) mencionaram que os ácidos orgânicos, além de influenciarem nas características gustativas dos vinhos, são responsáveis, indiretamente, pela proteção aos compostos do vinho contra a degradação oxidativa. Sabe-se que estes compostos são subprodutos normais da

fermentação alcoólica; no entanto, o tipo da cepa e as condições da fermentação influenciam na concentração produzida.

Na Tabela 3 estão apresentadas as concentrações de ácidos (acético, málico, oxálico, succínico, propiônico, láctico, cítrico e tartárico) das bebidas fermentadas de lichia inoculadas com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174 e da obtida pela fermentação espontânea do mosto.

**TABELA 3** Ácidos orgânicos presente nas bebidas fermentadas de lichia obtidas por fermentação inoculada com diferentes isolados de *Saccharomyces cerevisiae* (UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174) e fermentação espontânea (ESP)

Ácidos orgânicos	UFLA CA116	UFLA CA1183	UFLA CA1174	ESP
	g L <sup>-1</sup>			
Málico	4.86b	6.45a	1.20c	0.62d
Láctico	0.21c	0.122c	6.09a	3.60b
Acético	2.96a	2.78b	2.70b	2.80b
Succínico	8.89a	8.25a	8.07a	6.03b
Cítrico	0.26a	0.24a	0.008b	0.008b
Propiônico	0.69b	0.80b	1.34a	0.68b
Tartárico	0.39a	0.57b	0.46a	0.65b
Oxálico	0.007a	0.003a	0.012a	0.002a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Com relação ao **ácido málico**, Peynaud (1982) relatou que é um dos ácidos mais distribuídos no reino vegetal, pois se encontra nas folhas e nos frutos. Em vinhos, Hashizume (2001) reporta que o ácido málico é um ácido frágil, facilmente metabolizado pelas células, pois durante a fermentação alcoólica seu teor pode diminuir de 20 a 30% sob ação de leveduras.

Nas quatro bebidas fermentadas de lichia, conduzidas com fermentação espontânea e fermentação inoculada, esta última com três cepas diferentes de leveduras, observou-se diminuição na concentração de ácido málico nas bebidas finais, considerando-se o teor inicial de  $10,78 \text{ g L}^{-1}$  de ácido málico na polpa de lichia. Todas as bebidas diferiram estatisticamente entre si quanto ao teor de ácido málico (Tabela 3). As bebidas elaboradas com as leveduras UFLA CA1183 e UFLA CA116 apresentaram redução de 40% e 55%, respectivamente, no teor deste ácido. As bebidas obtidas a partir da inoculação da levedura UFLA CA1174 e pela fermentação espontânea apresentaram maior redução do teor de ácido málico, que chegou a 89% e 94%, respectivamente. Este resultado pode indicar a ocorrência de fermentação malolática nestas duas bebidas. Segundo Aquarone et al. (1983), o ácido málico é fermentado, na sua totalidade, por bactérias lácticas que o transformam em ácido láctico e gás carbônico.

Quanto ao **ácido láctico**, é produzido unicamente pela fermentação e representa um dos componentes normais do vinho. Uma fermentação alcoólica sadia ou normal pode produzir de  $0,2$  a  $0,4 \text{ g L}^{-1}$  (Peynaud, 1982). Em concentrações de  $1,0 \text{ g}$  a  $3,0 \text{ g L}^{-1}$  significa ter havido fermentação malolática, a qual constitui em uma melhoria considerável nos vinhos. No entanto, em grandes concentrações ( $> 3,0 \text{ g L}^{-1}$ ) os ácidos lácticos indicam alterações negativas nos processos (Hashizume, 2001).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 3, a concentração de ácido láctico entre as bebidas fermentadas de lichia diferiram estatisticamente entre si, exceto para as bebidas conduzidas com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183, para as quais não foi observada diferença significativa. Os resultados obtidos neste estudo sugeriram ter havido formação de ácido láctico dentro da faixa normal considerada para vinhos, uma vez que os valores máximos alcançados ao final da fermentação foram  $0,21 \text{ g L}^{-1}$  e  $0,122 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente. Ao contrário, os altos teores de ácido láctico,  $6,09 \text{ g L}^{-1}$  e  $3,60 \text{ g}$

L<sup>-1</sup>, evidenciaram a ocorrência de uma fermentação malolática nas bebidas conduzidas com a levedura UFLA CA1174 e fermentação espontânea do mosto, respectivamente. Este resultado pode ser comparado com os baixos teores de ácido málico apresentado por essas bebidas, evidenciando a transformação do ácido málico em ácido láctico pela fermentação malolática.

O **ácido acético** é um produto secundário normal do metabolismo celular, formado geralmente nas primeiras etapas da fermentação; entretanto, em grande quantidade é indicativo da presença de bactérias contaminantes (Zoecklein et al., 2001). A alteração do gosto pelo ácido acético pode ser percebida pela dureza e por características de amargor no final. O cheiro picante é uma característica devida não ao ácido acético, mas sim ao acetato de etila (Peynaud, 1982).

Geralmente, a concentração de ácido acético não ultrapassa 0,5 a 0,7 g L<sup>-1</sup> (valores de referência 0,2 - 0,7 g L<sup>-1</sup>). Acima desse limite, a ação de bactérias patogênicas ou acéticas deve ser considerada (Zoecklein et al., 2001). Os processos fermentativos conduzidos pelas leveduras selecionadas UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174 e pelo processo espontâneo de fermentação do mosto de lichia apresentaram valores de ácido acético acima do valor de referência citado por esses autores. Estatisticamente, somente a levedura UFLA CA116 diferiu quanto à produção do ácido acético, apresentando um teor deste ácido pouco maior que os demais processos fermentativos (Tabela 3).

Valores de ácido acético abaixo dos encontrados para as bebidas fermentadas de lichia foram encontrados por Dias et al. (2003, 2007), nos fermentados de cajá (0,9033 g L<sup>-1</sup>) e cacau (1,1224 g L<sup>-1</sup>), e por Duarte et al. (2009), nos fermentados de gabioba utilizando fermentação espontânea (1,64 g L<sup>-1</sup>) e fermentação inoculada com a levedura UFLA CA1162 (1,21 g L<sup>-1</sup>).

Alguns cuidados simples poderão fazer a diferença durante a produção de bebidas fermentadas. Deve-se evitar, durante a fermentação, a aeração do

mosto (pois o aumento de oxigênio faz com que o levedo transforme o açúcar em ácido acético em vez de etanol), e proceder à filtração e o atesto o mais rápido possível (para evitar a proliferação de bactérias acéticas, que aumentam a acidez).

Em todos os meios fermentados conduzidos com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1174, UFLA CA1183 e fermentação espontânea, detectaram-se altos teores de **ácido succínico** (Tabela 3). O teor de ácido succínico produzido pela fermentação espontânea foi inferior, estatisticamente, aos teores encontrados nas bebidas em que se utilizaram leveduras selecionadas. Cherubin (2003) mencionou, em seus estudos, que o ácido succínico é considerado, quantitativamente, o principal ácido produzido pela levedura, e que sua formação é, provavelmente, resultado do desenvolvimento celular sob anaerobiose. Este autor cita, ainda, que não há nenhuma razão fisiológica para sua formação. Trata-se de um ácido bastante estável em relação às fermentações bacterianas. Apresenta um papel importante sobre o gosto. Seu sabor é uma mistura de gostos ácidos, salgado e amargo, de acordo com Aquarone et al. (1983).

Duarte et al. (2009) encontraram teores de 8,73 g L<sup>-1</sup> e 6,20 g L<sup>-1</sup> de ácido succínico em bebidas fermentadas elaboradas a partir de gabioba obtidas pela fermentação inoculada com *Sacchamomyces cerevisiae* UFLA CA1162 e fermentação espontânea, respectivamente.

O **ácido cítrico** é um ácido orgânico derivado da uva e está comumente presente em vinhos em concentrações de 0,1-0,7 g L<sup>-1</sup>; a maioria das bactérias *Oenococcus oeni* são capazes de metabolizar este ácido durante a fermentação malolática. O ácido cítrico pode ser metabolizado por numerosos gêneros de bactérias lácticas e resulta na produção de ácido acético e diacetil, os quais têm um importante efeito sobre o flavor do vinho (Bartowsky & Henschke, 2004).

Estatisticamente, as bebidas fermentadas de lichia obtidas pela fermentação com as leveduras selecionadas UFLA CA116 e UFLA CA1183 apresentaram teores mais elevados de ácido cítrico que as bebidas fermentadas espontaneamente e pela levedura UFLA CA1174 (Tabela 3). Diferentes concentrações de ácido cítrico foram encontradas em fermentados de frutas, como 0,5 g L<sup>-1</sup> no fermentado de cajá (Dias et al., 2003); 5,5 g L<sup>-1</sup> no fermentado de cacau (Dias et al., 2007) e 3,13 g L<sup>-1</sup> e 4,05 g L<sup>-1</sup> no fermentado de gabioba, obtidos pela fermentação inoculada e espontânea, respectivamente (Duarte et al., 2009).

Estatisticamente, somente a bebida fermentada com a levedura UFLA CA1174 diferiu das demais, apresentando a maior concentração de **ácido propiônico** (Tabela 3). A acidez volátil descreve um grupo de ácidos orgânicos de cadeia carbônica curta. O teor de acidez volátil de vinhos está usualmente entre 500 e 1000 mg L<sup>-1</sup> (10-15% da concentração total de ácidos). Entre esses ácidos, o ácido acético corresponde a 90% da acidez volátil. O restante dos ácidos voláteis, principalmente o **ácido propiônico** e o hexanoico, são produzidos a partir do metabolismo dos ácidos graxos pelas leveduras e bactérias (Fowles, 1992; Henschke, 1993; Radler, 1993).

De acordo com Peynaud (1982), o **ácido tartárico** é o ácido específico da uva e do vinho. Nas regiões de clima temperado encontra-se raramente na natureza, a não ser na videira. Segundo Hashizume (2001), o ácido tartárico é característico de uva mas está presente em somente alguns frutos, em pequenas quantidades. Observou-se uma diferença significativa no teor de ácido tartárico entre as quatro bebidas, conforme os resultados apresentados na Tabela 3. O ácido tartárico foi detectado nas bebidas fermentadas de lichia em concentrações que variaram de 0,39 g L<sup>-1</sup> a 0,65 g L<sup>-1</sup>. Dias et al. (2003, 2007), estudando fermentados de cajá (*Spondias mombim*) e cacau (*Theobroma cacao*) para

obtenção de bebida alcoólica, encontraram valores de 0,744 g L<sup>-1</sup> e 0,194 g L<sup>-1</sup> de ácido tartárico, respectivamente.

Como o ácido tartárico é muito estável à atividade microbológica, pequena mudança em sua concentração ocorre durante a fermentação (Radler 1993).

A concentração de **ácido oxálico** entre as bebidas fermentadas de lichia não apresentou diferença significativa, não havendo, portanto, efeito da levedura na concentração deste ácido nas bebidas produzidas (Tabela 3). Duarte et al. (2009) avaliaram a concentração de ácido oxálico em duas bebidas fermentadas de gabioba utilizando fermentação inoculada e espontânea e também não encontraram diferenças significativas entre a concentração deste ácido nas bebidas.

#### **5.3.2.2 Álcoois, aldeídos e ésteres**

As diferenças na qualidade do vinho estão claramente relacionadas com os níveis de compostos secundários, que são determinados principalmente pelas espécies de leveduras envolvidas no processo de fermentação (Houtman et al., 1980; Benda, 1982; Herraiz et al., 1990; Romano et al., 1996).

Na Tabela 4 são apresentadas as concentrações de alguns compostos secundários que exercem grande influência na qualidade de vinhos. Estes compostos foram comparados por meio da análise de variância entre as bebidas fermentadas de lichia obtidas pela fermentação espontânea e pela fermentação inoculada com as leveduras selecionadas UFLA CA116, UFLA CA1174 e UFLA CA1183.

**TABELA 4** Concentração de ésteres, aldeídos, ácidos e álcoois encontrados nas bebidas fermentadas de lichia

	UFLA CA116	UFLA CA1183	UFLA CA1174	ESP
Compostos	mg L <sup>-1</sup>			
Acetaldeído	54, 55d	67, 09c	83, 151b	90,25a
Acetato de etila	219,40b	121, 07c	383, 07a	267, 29b
Fenilacetato	25,29b	23,85b	47,04a	44,22a
Dietilsuccinato	98,72a	-	36,08b	-
Glicerol	13,53b	8,76c	18,01a	18,92a
Álcool isoamílico	73,80a	67,79ab	38,81c	63, 50b
1-hexanol	-	2,14b	4,18a	4,16a
2,3- butanediol	518,25d	568, 40c	677,97b	736, 18a
1,2- propanediol	202,27a	131, 76a	159,01a	161,12a
2-feniletanol	128,69a	86, 86b	94,71b	128, 4a
Ácido isobutírico	30,46a	-	11,64b	-

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p< 0,05).

Entre os compostos carbonílicos identificados em vinhos, o **acetaldeído** é, quantitativamente, o mais importante, sendo considerado um composto indesejável, que confere sabor oxidado aos vinhos (Silva et al., 1997).\_Outra característica indesejada relacionada com a presença de aldeídos é o “gosto acético”. Esse defeito pode ser resultante da aeração do vinho, da oxidação do etanol, da contaminação por leveduras estranhas ao processo ou da conservação em recipiente cujo volume em líquido esteja incompleto, permitindo o contato com a camada interna de ar (Tomasset, 1998). O acetaldeído nos vinhos pode ser formado, ainda, por compostos carbonilados reativos ou por decomposição fotoquímica do ácido tartárico catalisada por traços de ferro.

Análises realizadas em vinhos jovens mostram que eles têm, geralmente, concentrações de acetaldeído abaixo de 75 mg L<sup>-1</sup> (Zoecklein et al., 1995), apesar de uma ampla gama de valores ter sido relatada (Etiévant, 1991; Romano et al., 1994).

Estatisticamente as bebidas fermentadas de lichia obtidas por fermentação espontânea (ESP) e por fermentação inoculada com as leveduras selecionadas UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174 diferiram entre si quanto ao teor de acetaldeído (Tabela 4). Somente as bebidas obtidas pela fermentação com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 apresentaram valores de acetaldeído abaixo daquele recomendado por Zoecklein et al. (1995), embora as concentrações encontradas para as duas outras bebidas não promovam efeitos desagradáveis, uma vez que se encontram abaixo do limiar de percepção, que, segundo Berg et al. (1955), é de 100 mg L<sup>-1</sup>.

Duarte et al. (2009) avaliaram duas bebidas fermentadas de gabioba e encontraram teores de 33,74 mg L<sup>-1</sup> de acetaldeído na bebida elaborada com fermentação espontânea e de 71,33 mg L<sup>-1</sup> na bebida inoculada com levedura *Saccharomyces cerevisiae* UFLA CA1162. Este resultado mostra a diferente capacidade das leveduras selvagens e inoculadas em produzir acetaldeído, uma

vez que as leveduras provenientes do mosto de gabioba apresentaram menor capacidade de produzir acetaldeído que a levedura selecionada UFLA CA1162, enquanto, nos mostos de lichia, observou-se o contrário, a maior produção de acetaldeído foi na bebida obtida pela fermentação espontânea do mosto.

**Acetato de etila** é produzido pela esterificação enzimática de ácido acético e etanol e é o segundo componente mais importante (após o ácido acético) na acidez volátil dos vinhos. Concentrações acima  $70 \text{ mg L}^{-1}$  são consideradas positivas para o aroma do vinho, mas maiores que  $150\text{-}200 \text{ mg L}^{-1}$  são consideradas negativas (Rapp, 1993). De acordo com Jackson (1994), o acetato de etila deve estar presente nos vinhos em concentrações abaixo do seu limiar de percepção que é  $150 \text{ mg L}^{-1}$ .

A partir dos resultados apresentados na Tabela 4, pode-se observar que houve diferença estatisticamente significativa entre os teores de acetato de etila nas bebidas obtidas pelos diferentes agentes fermentativos. Entre as quatro bebidas, aquela obtida pela fermentação com a levedura UFLA CA1183 foi a única que apresentou concentração de acetato de etila abaixo do limiar de percepção. Neste sentido, as altas concentrações de acetato de etila nas amostras das bebidas fermentadas com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1174, e também na bebida obtida pela fermentação espontânea, podem ter provocado características sensoriais desfavoráveis a essas bebidas.

Mono e **dietil succinato** são ésteres etílicos do ácido succínico. Ácido succínico é um dos os principais ácidos encontrados no vinho (Aragon et al., 1998) e contribui com um agradável sabor ácido. Muitos ésteres de ácidos succínico podem estar presentes nos vinhos e dão contribuições diferentes ao odor destas bebidas, tais como a imitação manteiga, rum, uva e framboesa.

Não foi detectado dietil succinato nas bebidas fermentadas pelas leveduras UFLA CA1183 e nem na bebida fermentada espontaneamente. A levedura UFLA CA116 produziu uma quantidade de dietil succinato

estatisticamente superior à concentração observada na bebida fermentada pela levedura UFLA CA1174 (Tabela 4).

Acetato de etila, lactato de etila e succinato dietílico são ésteres principalmente produzidos pelas bactérias a partir de alterações dos diferentes componentes do vinho, tais como etanol, açúcar e ácido tartárico, respectivamente (Souflerosa, 1978).

O **glicerol** tem um importante papel por contribuir no sabor e na “maciez” do vinho. De acordo com Balli et al. (2003), para cada 100 g de etanol formado são produzidos 8 g de glicerol. Os autores fazem referência, ainda, ao fato de que, no vinho, a concentração deste composto varia entre 1 e 10 g L<sup>-1</sup>, sendo dependente da levedura utilizada.

A concentração de glicerol nas bebidas obtidas pela fermentação do mosto de lichia foi influenciada significativamente pelo agente fermentativo. Constatou-se que os valores estão dentro da faixa de concentração para vinhos somente na bebida fermentada com a levedura UFLA CA1183, que apresentou a menor concentração deste álcool (Tabela 4). As bebidas fermentadas com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1174 e pela fermentação espontânea apresentaram altos valores de glicerol e maiores do que o recomendado por Balli et al. (2003), o que sugere ter havido um desvio na rota metabólica para a formação deste composto.

Glicerol é um importante produto da fermentação alcoólica (Gancedo et al., 1968; Pronk et al., 1996; Scanes et al., 1998). Quimicamente, glicerol é um poliol incolor, inodoro e altamente viscoso. Possui um gosto ligeiramente doce. Embora este triol não volátil não tenha impacto direto sobre as características aromáticas do vinho, o glicerol pode, dependendo de sua concentração e do estilo de vinho, ter um efeito visível sobre a doçura aparente (Noble & Bursick 1984). Testes sensoriais mostraram que glicerol transmite certa doçura a partir de um limiar de cerca de 5,2 g L<sup>-1</sup> de vinho branco seco.

**Álcool isoamílico** é um importante álcool, entre os álcoois alifáticos, que tem, normalmente, a mais alta concentração em vinhos. Os álcoois alifáticos são formados principalmente durante a transformação do suco antes da fermentação e são, em grande parte, responsáveis pelo frondoso odor gramíneo em vinhos (Ferreira et al., 1995; Hashizume & Samuta, 1997).

A concentração de álcool isoamílico diferiu estatisticamente entre as quatro bebidas fermentadas de lichia. O maior teor deste álcool foi observado na bebida fermentada com a levedura UFLA CA116 e o menor teor, na bebida fermentada com a levedura UFLA CA1174. O limiar de percepção para este composto em vinhos situa-se entre 60 e 180 mg L<sup>-1</sup> (Nurgel et al., 2002); assim, este composto pode ter contribuído para as características sensoriais das bebidas fermentadas de lichia, dando-lhe um aroma frutado (Selli et al., 2004), exceto para aquela que foi inoculada com a levedura UFLA CA1174, que apresentou concentração de álcool isoamílico abaixo do seu limiar de percepção.

Observaram-se diferenças significativas entre os teores de 1-hexanol nas quatro bebidas fermentadas de lichia. As quantidades de 1-hexanol variaram de 2,139 mg L<sup>-1</sup> e 4,16 a 4,181 mg L<sup>-1</sup>. Não foi detectado 1-hexanol na bebida fermentada com a levedura UFLA CA116 (Tabela 4).

Garde-Cerdán & Ancín-Azpilicueta (2006), estudando a contribuição das leveduras selvagens e inoculadas em vinhos de uva *Vitis vinifera* var. *Parellada*, observaram que o n-hexanol e o álcool benzílico foram formados em maior quantidade na fermentação espontânea e na mistura de leveduras selvagens e inoculadas do que na fermentação conduzida somente com as leveduras inoculadas. Os autores concluíram que a flora selvagem contribuiu em um grau apreciável para a sua síntese. Clemente-Jimenez et al. (2005) concluíram que a síntese de n-hexanol, durante a fermentação, é principalmente devida a leveduras *não-Saccharomyces*.

O composto produzido em quantidade mais elevada por todas as estirpes de levedura foi o **2,3-butanediol**. Houve diferença estatística significativa entre os teores de 2,3-butanediol encontrados para todas as bebidas fermentadas (Tabela 4). Existem numerosos subprodutos da fermentação alcoólica e o 2,3-butanediol como um componente normal do vinho, é muito abundante, representando, assim, uma importante fonte potencial de aroma. Nos vinhos a sua concentração pode variar entre cerca de 0,2 a 3 g L<sup>-1</sup>, com um valor médio de cerca de 0,57 g L<sup>-1</sup> (Sponholz et al., 1993). Todas as quatro bebidas fermentadas de lichia apresentaram teores de 2,3-butanediol dentro dos limites normalmente encontrados em vinho segundo Sponholz et al. (1993).

Elevado conteúdo de 2,3-butanediol em vinhos pode ter alguns efeitos sobre o “buquê” do vinho, devido ao seu gosto ligeiramente amargo, e sobre o corpo do vinho, devido à sua viscosidade. Romano et al. (1998) estudaram a capacidade de diferentes espécies levedura para produzir 2,3-butanediol em mostos de uvas e os dados indicaram que as cepas de *S. cerevisiae* apresentaram as maiores variabilidades, com teores variando de 276,1 mg L<sup>-1</sup> a 857,7 mg L<sup>-1</sup>.

Pela análise de variância para o **1,2-propanediol**, entre os fermentados de lichia, pode-se afirmar que não existe diferença significativa entre os processos conduzidos com a fermentação espontânea do mosto e as fermentações inoculadas com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174 (Tabela 4).

A quantidade de **2-feniletanol** foi a terceira maior entre os álcoois superiores encontrados no vinho fermentado com as três leveduras e também pela bebida obtida pela fermentação espontânea. Estatisticamente, as bebidas fermentadas de lichia diferiram entre si quanto ao teor de 2-feniletanol (Tabela 4). O 2-feniletanol é responsável, especialmente, pelo aroma de rosa e tem sido amplamente utilizado para a fabricação de perfumes. O limiar de percepção deste álcool em vinhos está entre 25 e 105 mg L<sup>-1</sup> (Ribéreau-Gayon, 1978;

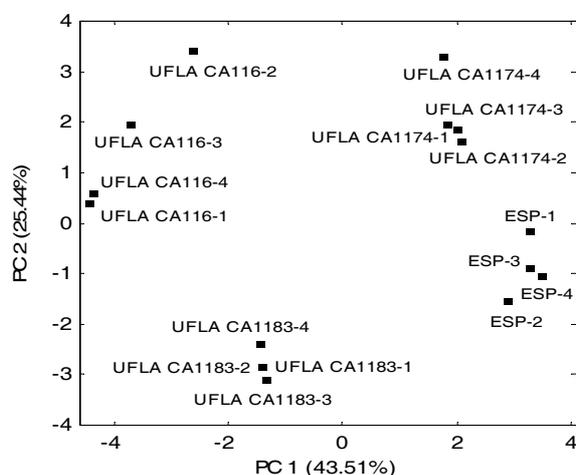
Simpson, 1979). Álcoois superiores, além de 2-feniletanol e álcool benzílico, são considerados como tendo um adverso efeito sobre a qualidade do aroma do vinho quando os seus níveis são superiores a 400 mg L<sup>-1</sup> (Rapp & Mandery, 1986; Etiévant, 1991).

Todas as bebidas apresentaram teores de 2-feniletanol acima do limiar de percepção deste álcool, contribuindo para um aroma floral nestas bebidas. Os teores mais elevados foram encontrados nas bebidas obtidas pela fermentação espontânea (128,4 mg L<sup>-1</sup>) e pela fermentação com a levedura UFLA CA116 (128,693 mg L<sup>-1</sup>).

### **5.3.3 Análises quimiométricas**

Os resultados obtidos para os compostos determinados nas bebidas fermentadas de lichia foram submetidos à análise do componente principal (PCA). A PCA foi aplicada com o intuito de estudar as características químicas das bebidas ao se empregarem quatro tipos de tratamentos, variando o agente fermentativo (leveduras).

Através da representação gráfica das duas primeiras componentes principais, que explicam 68,95 % da variabilidade total entre as bebidas (Figura 10), pode-se observar que quatro grupos foram claramente definidos. A primeira componente principal (CP1) explica 43,51% do total de variação e a segunda componente principal explica apenas 25,44%. Verifica-se o agrupamento das amostras de acordo com as maiores concentrações de ácidos, álcoois, aldeídos e ésteres presentes nas bebidas. As bebidas obtidas pela fermentação com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 aparecem destacadamente à esquerda na Figura 10, enquanto as bebidas obtidas pela fermentação espontânea e pela inoculação com a levedura UFLA CA1174 aparecem do outro lado, à direita do gráfico dos escores.

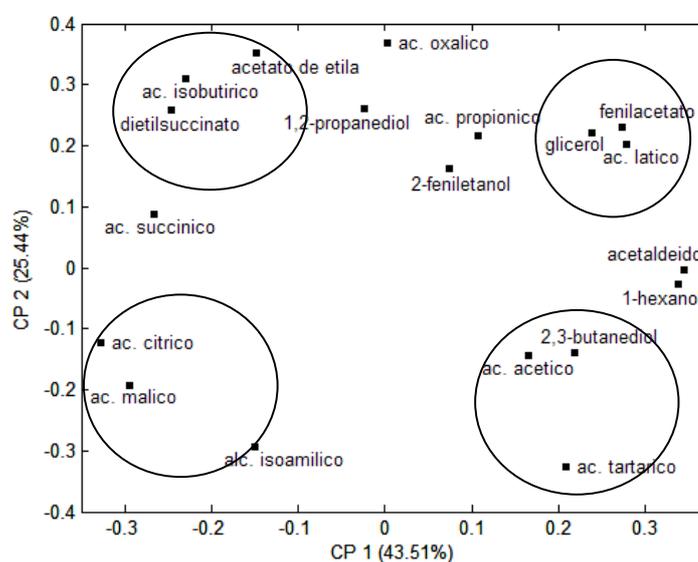


**FIGURA 10** Gráfico de escores da análise dos componentes principais (PCA) das bebidas fermentadas de lichia.

A partir do gráfico de escores (Figura 10) pode-se avaliar, também, a variação entre as repetições de uma mesma bebida. Os dados mostraram que as bebidas fermentadas com a levedura UFLA CA116 apresentaram maior variação entre as repetições, enquanto as bebidas fermentadas pela levedura UFLA CA1183 foram mais semelhantes umas às outras.

Observando a Figura 11, que representa os pesos (este gráfico traz informações sobre as variáveis), as bebidas fermentadas pelas leveduras UFLA CA1174 e por fermentação espontânea estão localizados na parte positiva do primeiro componente. Altas concentrações de acetaldeído, 1-hexanol, fenilacetato, glicerol, ácido lático e 2,3-butanediol parecem ser responsáveis pela variação explicada por este componente. Certamente, as altas concentrações destes compostos contribuíram para o desenvolvimento de características indesejadas nas bebidas, sendo responsáveis pela baixa aceitação destas por um grupo de provadores não treinados.

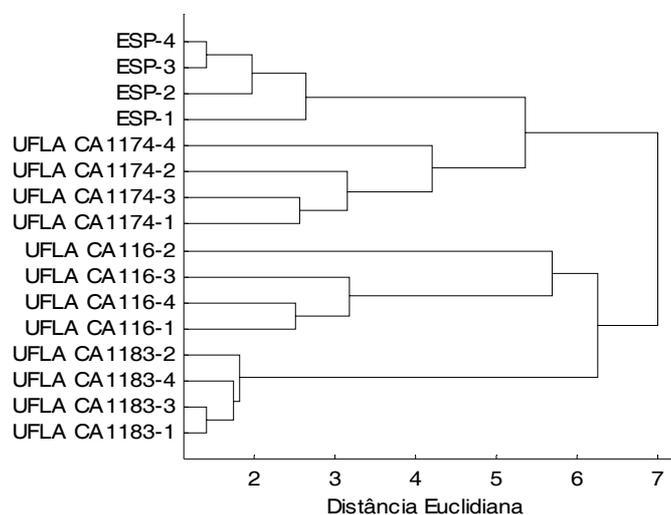
As bebidas fermentadas de lichia inoculadas com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183, localizadas na parte negativa do primeiro componente, estão fortemente relacionadas a altas concentrações dos ácidos succínico, málico cítrico, isobutírico e dietilsuccinato.



**FIGURA 11** Gráfico de pesos da análise dos componentes principais (PCA) das bebidas fermentadas de lichia.

Uma forma possível de discriminação entre as amostras, considerando as semelhanças entre as composições, é sugerida pela análise hierárquica de agrupamentos. Com esta análise é possível confirmar os resultados obtidos com a PCA e visualizar claramente alguns grupamentos formados pelo conjunto das amostras que não apresentaram grupos evidentes na PCA.

A partir da Figura 12 pode-se observar uma separação das bebidas fermentadas de lichia em dois grupos, um deles composto pelas bebidas fermentadas com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 e o outro, formado pelas bebidas fermentadas pela levedura UFLA CA1174 e pela fermentação espontânea (ESP), confirmando o resultado encontrado pelos gráficos de escores e pesos na análise do componente principal.



**FIGURA 12** Dendrograma obtido na análise hierárquica de agrupamento das quatro bebidas fermentadas de lichia.

#### 5.4 Análise Sensorial das bebidas fermentadas de lichia

De acordo com a Tabela 5, pode-se observar diferença estatisticamente significativa para o grau de aceitabilidade entre todas as bebidas fermentadas de lichia, em todos os parâmetros avaliados.

De acordo com Nurgel et al. (2002), compostos específicos presentes em

vinhos são responsáveis pelas características típicas de aroma e sabor. A principal origem destes compostos é o metabolismo das leveduras durante a fermentação; entretanto, alguns compostos nos vinhos se originam das uvas. As diferenças observadas na análise sensorial das quatro bebidas analisadas neste estudo podem ser resultantes das diferentes composições destes produtos finais, baseadas nas diferentes cepas de leveduras utilizadas para fermentar o mesmo mosto, sob as mesmas condições.

**TABELA 5** Resultado da pesquisa de grau de aceitabilidade das bebidas fermentadas de lichia com 50 provadores, expresso em valores médios das notas para cada atributo sensorial avaliado.

Bebidas	Atributos			
	Aparência	Aroma	Sabor	Impressão Global
UFLA CA116	7,36 a	6,80 a	5,74 ab	6,14 ab
UFLA CA1183	7,30 ab	6,92 a	5,90 a	6,24 a
UFLA CA1174	6,56 c	5,84 b	4,96 b	5,32 c
ESP	6,58 bc	5,48 b	4,98 b	5,42 bc

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A aceitabilidade de um produto pelos consumidores se dá principalmente pela sua aparência. As bebidas fermentadas de lichia inoculadas com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 obtiveram boa aceitação por parte dos provadores. As bebidas obtidas através da fermentação do mosto de lichia pela levedura UFLA CA1174 e pela fermentação espontânea apresentaram

as menores notas, mas mesmo assim mantiveram-se em bons níveis de aceitabilidade.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 5, observa-se que a bebida fermentada com o isolado UFLA CA1183 apresentou as maiores notas relacionadas ao julgamento, por parte dos provadores não-treinados, para os aspectos gerais das bebidas fermentadas de lichia; entretanto, estatisticamente, não foi observada diferença significativa entre a avaliação dos parâmetros de aceitabilidade para as bebidas UFLA CA1183 e UFLA CA116.

A Tabela 6 apresenta as porcentagens de aceitação das bebidas em função das notas atribuídas pelos provadores. Pode-se observar, em relação à aparência, que somente as bebidas CA116 e UFLA CA1183 não obtiveram recusa por parte dos provadores. Em relação ao aroma, estas bebidas obtiveram grande aceitação, enquanto as bebida UFLA CA1174 e ESP obtiveram uma média de 70% e 60% de recusa, respectivamente. Quanto ao sabor, houve desgosto maior pela bebida UFLA CA1174, ao mesmo tempo em que se observou uma convergência para a bebida UFLA CA116, com 86,8% dos provadores gostando ligeiramente ou gostando extremamente.

Sabe-se que o ácido succínico é uma mistura dos gostos ácido, salgado e amargo, podendo, assim, ser responsável, em parte, pelas baixas notas atribuídas ao atributo sabor das bebidas fermentadas de lichia, já que este ácido foi o que apresentou as concentrações mais elevadas nas quatro bebidas.

A maioria dos vinhos com alta concentração de acetaldeído foi mal apreciada pelos provadores, o que é consistente com a percepção limiar deste composto (próximo de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , de acordo com Zoecklein et al. (2001). Assim, a estirpe de levedura UFLA CA1174 e as leveduras selvagens do processo conduzido pela fermentação espontânea, que produziram os teores mais elevados de acetaldeído, produziram os dois vinhos de lichia menos apreciados.

**TABELA 6** Porcentagem de aceitação (6-9) e recusa (1-4) e das bebidas conforme análise de escala hedônica de 9 pontos respondida por 50 provadores não treinados.

Bebidas	UFLA CA116		UFLA CA1183		UFLA CA1174		ESP	
	(1-4)	(6-9)	(1-4)	(6-9)	(1-4)	(6-9)	(1-4)	(6-9)
Aparência	0	100	0	100	11,1	88,9	18,1	81,8
Aroma	6,6	93,5	2	98	30,2	69,7	40,4	59,5
Sabor	13,2	86,8	14	86	54,5	45,5	58,9	41,0
Impressão global	20,9	79,1	8	92	36,8	63,1	45,9	54,0

Outro fato relacionado às baixas notas atribuídas para o atributo aparência das bebidas UFLA CA1174 e espontânea é devido à coloração amarelo-escuro que estas duas bebidas apresentaram. Amerine & Joslyn (1951) definem uma doença do vinho, conhecida como casse oxidásica, como sendo caracterizada pela turvação ou pela mudança na coloração de vinhos quando expostos ao ar. Segundo estes autores, o vinho branco adquire vários tons de amarelo a marrom.

Provavelmente, as bebidas UFLA CA1174 e espontânea apresentaram uma coloração mais escura, comparadas às bebidas UFLA CA1183 e UFLA CA116, porque devem ter sofrido uma oxidação de seus álcoois, taninos, pigmentos e outros constituintes, uma vez que estas bebidas apresentaram condições favoráveis para isso, tais como altos teores de açúcar residuais, pH elevado, baixa concentração de dióxido de enxofre livre e total, além de um tempo necessário para completar a fermentação muito superior ao das leveduras

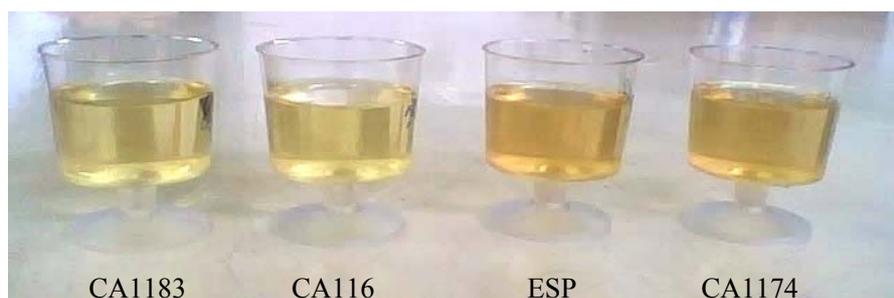
UFLA CA116 e UFLA CA1183, o que pode ter favorecido a aeração dos mostos.

Considerando os aspectos gerais, a bebida elaborada com a levedura UFLA CA1183 apresentou, em relação às demais bebidas, as maiores notas, indicando, assim, sua maior aceitação entre os provadores.

Estudando o uso de frutas tropicais na produção de bebidas fermentadas, Muniz et al. (2002) utilizaram mosto de ata, mangaba e ciriguela corrigidos a 16° Brix e inoculados com levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* var *bayanus*. Os resultados da análise sensorial demonstraram que a bebida de mangaba se destacou nos atributos aceitação global e intenção de compra.

Avaliando o uso da banana para produção de vinho, Akubor et al. (2003) constataram que, na avaliação sensorial, o vinho de banana foi semelhante a um vinho de uva para os atributos aparência, sabor e aceitação global.

Dias et al. (2007) encontraram boa aceitação, verificada na análise sensorial, para as bebidas fermentadas de cajá e cacau e concluíram que o uso da polpa de cajá e cacau na produção de vinho é uma nova e viável alternativa para utilização destes frutos.



**FIGURA 9** Aspecto final das bebidas alcoólicas fermentadas de lichia provenientes de processos conduzidos com leveduras (da esquerda para direita) UFLA CA1183; UFLA CA116; fermentação espontânea (ESP) e levedura UFLA CA1174.

## 6 CONCLUSÕES

A lichia mostrou-se adequada para a elaboração de bebida alcoólica fermentada.

As leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 apresentaram melhor desempenho fermentativo ao consumirem mais rapidamente os açúcares fermentescíveis presentes no mosto e finalizarem o processo fermentativo em menor tempo, em relação às demais leveduras testadas.

Apesar do teor de acidez volátil acima do limite máximo estabelecido pela Legislação, a bebida fermentada com a levedura UFLA CA116 apresentou características similares à bebida fermentada com a levedura UFLA CA1183, e ambas apresentaram boa aceitação na análise sensorial com provadores não treinados.

As bebidas fermentadas com a levedura UFLA CA1174 e por fermentação espontânea não foram bem aceitas nos testes de aceitação global, fato relacionado com o seu processo de fermentação.

A análise dos componentes principais e a análise hierárquica dos agrupamentos permitiram a percepção clara da separação das quatro bebidas em dois grupos bem distintos com base nas concentrações de álcoois, ácidos orgânicos, aldeídos e ésteres nas bebidas. UFLA CA116 e UFLA CA1183, reunidas em um grupo, e UFLA CA1173 e a bebida obtida pela fermentação espontânea, em outro.

A bebida elaborada pela fermentação com a levedura UFLA CA1183 apresentou-se tecnicamente viável para a elaboração de bebida fermentada de lichia em função das características químicas, físico-químicas e sensoriais do produto final, além de ter a graduação alcoólica e todas as outras características físico-químicas dentro dos limites estabelecidos pela Legislação Brasileira.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKUBOR, P.I.; OBIO, S.O.; NWADOMERE, K.A.; OBIOMAH, E. Production and quality evaluation of banana wine. **Plant Foods for Human Nutrition**, The Hague, v.58, p.1-6, 2003.

AMARAL, A.K. **Seleção de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* para produção de bebida fermentada de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*)**. 2004. 128p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

AMERINE, M.A.; JOSLYN, M.A. **Table wines**. Califórnia: University of California, 1951. 997p.

AMERINE, M.A.; OUGH, C.S. **Analisis de vinos y mostos**. Zaragoza: Acribia, 1974. 158p.

ANDRADE, J.S.; PANTOJA, L.; MAEDA, R.N. Melhoria do rendimento do processo de obtenção de bebida alcoólica de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, p.34-38, 2003. Suplemento.

AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. São Paulo: E.Blücher, 1983. v.5, 243p.

ARAGON, P.; ATIENZA, J.; CLIMENT, M.D. Influence of clarification, yeast type, and fermentation temperature on the organic acid and higher alcohols of Malaise and Muscatel wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.49, p.211-216, 1998.

ASQUIERI, E.R.; CANDIDO, M.A.; DAMIANI, C.; ASSIS, E.M. Fabricación de vino blanco y tinto de jaboticaba (*Mirciaria jaboticaba* Berg) utilizando la pulpa y la cáscara respectivamente. **Alimentaria**, Madrid, v.355, n.1, p.97-109, 2004.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 17.ed. Washington, DC, 2000. 1410p.

AZEVEDO, L.C.; REIS, M.M.; SILVA, L.A.; ANDRADE, J.B. Efeito da presença e concentração de compostos carbonílicos na qualidade de vinhos. **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.8, p.1968-1975, 2007.

BALLI, D.; FLARI, V.; SAKELLARAKI, E.; SCHOINA, V.; ICONOMOPOULOU, M.; BEKATOROU, A.; KANELLAKI, M. Effect of yeasts cell immobilization and temperature on glycerol content in alcoholic fermentation with respect to wine making. **Process Biochemistry**, v.39, p.499-506, 2003.

BARTOWSKY, E.J.; HENSCHKE, P.A. The 'buttery' attribute of wine – diacetyl – desirability, spoilage and beyond. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.96, p.235-252, 2004.

BEEBE, K.R.; PELL, R.J.; SEASHOLTZ, M.B. **Chemometrics: a practical guide**. New York: Wiley, 1998. 348p.

BENASSI, M.T.; CECCHI, H.M. Caracterização de vinhos Riesling Itália nacionais quanto aos ácidos carboxílicos e alguns compostos fenólicos. **Alimentos e Nutrição**, v.11, p.23-33, 2000.

BENDA, I. Wine and brandy. In: REED, G. (Ed.). **Prescott and dunn's industrial microbiology**. Westport: Avi, 1982. p.293-402.

BERG, H.; FILIPELLO, F.; HINREINER, E.; WEBB, A. Evaluation of thresholds and minimum difference concentrations for various constituents of wines: I., water solutions for pure substances. **Food Technology**, Oxford, v.9, p.23-26, 1955.

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

BORTOLINI, F.; SANT'ANA, E.S.; TORRES, R.C. Comportamento das fermentações alcoólicas e acéticas de sucos de kiwi (*Actinidia deliciosa*): composição dos mostos e métodos de fermentação acética. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.2, p.236-243, 2001.

BORZANI, W.; AQUARONI, E.; LIMA, U.A. **Engenharia bioquímica**. São Paulo: E.Blücher, 1983. v.3, 285p.

BRASIL. Instrução Normativa, oriunda da Portaria nº 64, de 23 de abril de 2008. Aprova os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para fermentado de fruta (anexo I), sidra (anexo II), hidromel (anexo III), fermentado de cana (anexo IV), fermentado de fruta licoroso (anexo V), fermentado de fruta composto (anexo VI) e saquê (anexo VII). **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, p.9, 24 abr. 2008. Seção 1.

BRASIL. **Lei n. 7678**, de 8 de outubro de 1988. Dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1988. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/leis.asp?lei=7678>>. Acesso em: 9 out. 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Vegetal. **Metodologias de análise de bebidas e vinagres**. Brasília, DF, 1985. Não paginado.

BUESCHER, R.W.; FURMANSKI, R.J. Role of pectinesterase and polygalacturonase in the formation of woolliness un peaches. **Journal of Food Science**, Chicago, v.43, p.264-266, 1978.

CABAROGLU, T. Methanol contents of Turkish varietal wines and effects of processing. **Food Control**, Turkey, v.16, p.177-181, Jan. 2005.

CATALUÑA, E. **As uvas e os vinhos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Globo, 1988. 207p.

CHERUBIN, R.A. **Efeitos da viabilidade da levedura e da contaminação bacteriana na fermentação alcoólica**. 2003. 137p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

CLEMENTE-JIMENEZ, J.M.; MINGORANCE-CAZORLA, L.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, S.; HERAS-VÁZQUEZ, F.J.; RODRÍGUEZ-VICO, F. Influence of sequential yeast mixtures on wine fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.98, p.301-308, 2005.

CORAZZA, M.L.; RODRIGUES, D.G.; NOZAKI, J. Preparação e caracterização do vinho de laranja. **Química Nova**, São Paulo, v.24, n.4, p.449-452, ago. 2001.

CRIVELLARO, C.G.; BARNABÉ, D. Vinho. In: VENTURINI FILHO, W.G. (Org.). **Tecnologia de bebidas**: matéria-prima, processamento, BPF / APPCC, legislação e mercado. São Paulo: E.Blücher, 2005. v.1, p.423-451.

DEQUIN, S. The potential of genetic engineering for improving brewing, wine-making and baking yeasts. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v.56, n.5/6, p.577-588, 2001.

DIAS, D.R.; SCHWAN, R.F.; FREIRE, E.S.; SERÔDIO, R.S. Elaboration of a fruit wine cocoa (*Thebroma cacao* L.) pulp. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.42, p.319-329, Mar. 2007.

DIAS, D.R.; SCHWAN, R.F.; LIMA, L.C.O. Methodology for elaboration of fermented alcoholic beverage from yellow mombin (*Spondias mombin*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.3, p.342-350, 2003.

DUARTE, W.F.; DIAS, D.R.; PEREIRA, G.V.M.; GERVÁSIO, I.M.; SCHWAN, R.F. Indigenous and inoculated yeast fermentation of gabirola (*Campomanesia pubescens*) pulp for fruit wine production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 2009. DOI 10.1007/s10295-009-0526-y.

ETIÉVANT, P.X. Wine. In: MAARSE, H. (Ed.). **Volatile compounds in foods and beverages**. New York: M.Dekker, 1991. p.483-532.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Programa e Resumos...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.235.

FERREIRA, B.; HERRY, C.; BARD, M.H.; TAISANT, C.; OLSSON, A.; LE FUR, Y. Effects of skin contact and settling on the level of the C18:2, C18:3 fatty acids and C6 compounds in Burgundy Chardonnay must and wines. **Food Quality Preference**, v.6, p.35-41, 1995.

FERTONANI, H.C.R.; SIMÕES, D.R.S.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Potencial da variedade Joaquina para o processamento de suco clarificado e vinho seco de maçã. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.2, p.434-440, 2006.

FOOD AGRICULTURAL ORGANIZATION. **Lychee production in the Asian-pacific region**. Bangkok: RAP, 2002. 135p.

- FOWLES, G.W.A. Acids in grapes and wines: a review. **Journal of Wine Research**, n.3, p.25-41, 1992.
- GANCEDO, C.; GANCEDO, J.M.; SOLS, A. Glycerol metabolism in yeast. Pathways of utilization and production. **European Journal of Biochemistry**, Amsterdam, v.5, p.165-172, 1968.
- GARDE-CERDÁN, T.; ANCÍN-AZPILICUETA, C. Contribution of wild yeasts to the formation of volatile compounds in inoculated wine fermentations. **European Food Research and Technology**, London, v.222, p.15-25, 2006.
- HASHIZUME, K.; SAMUTA, T. Green odorants of grape cluster stem and their ability to cause a wine stemmy flavor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.45, p.1333-1337, 1997.
- HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: BORZANI, W.; AQUARONE, E.; LIMA, U.A. **Biocologia industrial biocologia na produção de alimentos**. São Paulo: E.Blücher, 2001. v.4, p.21-48.
- HENSCHKE, P.A. An overview of malolactic fermentation research. **Australian and New Zealand Wine Industry Journal**, Melbourne, n.8, p.69-79, 1993.
- HERRAIZ, T.; REGLERO, G.; HERRAIZ, M.; MARTIN-ALVAREZ, P.J.; CABEZUDO, M.D. The influence of the yeast and type of culture on the volatile composition of wines fermented without sulfur dioxide. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.41, p.313-318, 1990.
- HOUTMAN, A.C.; MARAIS, J.; DU PLESSIS, C.S. Factors affecting the reproducibility of fermentation of grape juice and of the aroma composition of wines: I., grapes maturity, sugar, inoculum concentration, aeration, juice turbidity and ergosterol. **Vitis**, Siebeldingen, v.19, p.37-54, 1980.
- HULTIN, H.O.; SUN, B.; BULGER, J. Pectin methyl esterase of the banana: purification and properties. **Journal of Food Science**, Chicago, v.31, n.3, p.320-327, 1966.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. São Paulo, 2005. v.1, 371p.

JACKSON, R.S. Sensory perception and wine assessment. In: \_\_\_\_\_. **In wine science**. San Diego: Academic, 1994. p.447.

JOSHI, V.K.; BHUTANI, V.P. The influence of enzymatic clarification in fermentation behavior and qualities of apple wine. **Science des Aliments**, v.11, n.3, p.491-498, 1991.

JOSHI, V.K.; SANDHU, D.K.; ATTRI, B.L.; WALLA, R.K. Cider preparation from apple juice concentrate and its consumer acceptability. **Indian Journal of Horticulture**, New Delhi, v.48, p.321, 1991.

KAMER, S.B. von de; GINKEL, L. van. Rapid determination of crude fiber in cereals. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.19, n.4, p.239-251, July/Aug. 1952.

LEBEAU, T.; JOUENE, T.; JUNTER, G.A. Difusion of suger and alcohols through composite membrane structures immobilizing viable yeasts cell. **Enzyme and Microbial Technology**, v.22, p.434-438, 1998.

LIMA, U.A.; BASSO, L.C.; AMORIN, H.V. Produção de etanol. In: \_\_\_\_\_. **Biotecnologia**. São Paulo: E.Blucher, 2001. v.3, cap.1, p.1-43.

LOPES, R.V.V.; ROCHA, A.S.; SILVA, F.L.H.; GOUVEIA, J.P.G. Aplicação do planejamento fatorial para otimização do estudo da produção de fermentado do fruto da palma forrageira. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.7, n.1, p.25-32, 2005.

MAHATTANATAWEE, K.; PEREZ-CACHO, P.R.; VENPORT, T.; ROUSEFF, R. Comparison of three lychee cultivar odor profiles using gas chromatography–olfactometry and gas chromatography–sulfur detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.55, n.5, p.1939-1944, 2007.

MANFROI, L.; MIELE, A.; RIZZON, L.A.; BARRADAS, C.I.N. Composição físico-química do vinho Cabernet Franc proveniente de videiras conduzidas no sistema lira aberta. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.2, p.290-296, 2006.

MARKOVIC, O.; HEINRICHOVÁ, K.; LENKEY, B. Pectolytic enzymes from banana. **Collection Czechoslovak Chemistry Community**, London, v.40, p.769-774, 1975.

MCCREADY, P.M.; MCCOLOMB, E.A. Extraction and determination of total pectic material. **Analytical Chemistry**, Washington, v.24, n.12, p.1586, 1952.

MORAES, M. **Métodos para avaliação sensorial dos alimentos**. 8.ed. Campinas: Unicamp, 1993. 93p.

MORGANO, M.A.; QUEIROZ, S.C.N.; FERREIRA, M.M.C. Aplicação da análise exploratória na diferenciação de vegetais. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.2, n.1/2, p.73-79, 1999.

MUNIZ, C.R.; BORGES, M.F.; ABREU, F.A.P.; NASSU, R.T.; FREITAS, C.A.S. Bebidas fermentadas a partir de frutos tropicais. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos da Universidade Federal do Paraná**, Curitiba, v.20, n.2, p.309-322, 2002.

NOBLE, A.C.; BURSICK, G.F. The contribution of glycerol to perceived viscosity and sweetness in white wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.35, p.110-112, 1984.

NURGEL, C.; ERTEN, H.; CANBAS, A.; CABAROGLU, T.; SELLI, S. Influence of *Saccharomyces cerevisiae* strain on fermentation and flavor compounds of white wines made cv. Emir grown in Central Anatolia, Turkey. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v.29, n.2, p.28-33, Apr. 2002.

OUGH, C.S. **Tratado básico de enología**. Traduzido por Concepción Llaguno Marchena e María Dolores Cabezero Ibañes. Zaragoza: Acribia, 1996. 294p. Título original: Winemaking basics.

PATO, O. **O vinho: sua preparação e conservação**. 7.ed. Lisboa: Livraria Clássica, 1982. 433p. (Coleção técnica agrária).

PERKIN-ELMER. **Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry**. Connecticut: Norwalk, 1976. No page.

PEYNAUD, E. **Conhecer e trabalhar o vinho**. Lisboa: LTC, 1982. 347p.

PRONK, J.T.; STEENSMA, H.Y.; DIJKEN, J.P. van. Pyruvate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. **Yeast**, v.12, p.1607-1633, 1996.

RADLER, F. Yeast: metabolism of organic acids. In: FLEET, G.H. (Ed.). **Wine microbiology and biotechnology**. Chur: Harwood Academic, 1993. p.165-182.

RAPP, A. **Foreign and undesirable flavours in wine**. Paris: TEC&DOCLavoisier, 1993.

RAPP, A.; MANDERY, H. Wine aroma. **Experientia**, v.42, p.873-884, 1986.

RATNER, A.; GOREN, R.; MONSELINE, S.P. Activity of pectin esterase and cellulase in the abscission zone of citrus leaf explants. **Plant Physiology**, Washington, v.44, n.12, p.1717-1723, Dec. 1969.

REDDY, L.V.A.; REDDY, O.V.S. Production and characterization of wine from mango fruit (*Mangifera indica* L). **World Journal of Microbiology e Biotechnology**, Oxford, v.21, n.8/9, p.1345-1350, Dec. 2005.

RIBÉREAU-GAYON, P. Wine flavor. In: CHARALAMBOUS, G.; INGLETT, G.E. (Ed.). **Flavor of foods and beverages: chemistry and technology**. London: Academic, 1978. p.355-380.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. **Handbook of Enology**. Paris: J.Wiley, 2000. v.2, p.187-193.

RIZZON, L.A.; GASPARIN, A.M. O carbonato de cálcio na desacidificação do vinho Isabel. **Ciência Rural**, Santa Maria, n.35, p.720-723, 2005.

RIZZON, L.A.; ZANUZ, M.C.; MANFREDINI, S. **Como elaborar vinho de qualidade na pequena propriedade**. 3.ed. Bento Gonçalves: Embrapa-CNPUV, 1996. 36p. (Embrapa-CNPUV. Documentos, 12).

RIZZON, L.A.; ZANUS, M.C.; MANFREDINI, S. **Como elaborar vinho de qualidade na pequena propriedade**. Bento Gonçalves: Embrapa-CNPUV, 1994. 36p. (Embrapa-CNPUV. Documentos, 12).

ROMANO, P.; BRANDOLINI, V.; ANSALONI, C.; MENZIANI, E. The production of 2,3-butanediol as a differentiating character in wine yeasts. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Netherlands, n.14, p.649-653, 1998.

ROMANO, P.; SUZZI, G.; DOMIZIO, P.; FATICHENTI, F. Secondary products formation as a tool for discriminating non-*Saccharomyces* wine strains. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v.71, p.239-242, 1996.

ROMANO, P.; SUZZI, G.; TURBANTI, L.; POLSINELLI, M. Acetaldehyde production in *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. **FEMS Microbiol Letters**, Amsterdam, n.118, p.213-218, 1994.

SALUNKHE, D.K.; DESAI, B.B. **Postharvest biotechnology of fruits**. Boca Raton: CRC, 1986. v.1, 168p.

SCANES, K.T.; HOHMANN, S.; PRIOR, B.A. Glycerol production by the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and its relevance to wine: a review. **South African Journal of Enology and Viticulture**, Pretoria, v.19, p.17-24, 1998.

SCHLEGEL, H.G. **General microbiology**. 7.ed. Cambridge: Cambridge University, 1990. 214p.

SCHWAN, R.F.; MENDONÇA, A.T.; SILVA JÚNIOR, J.J. Microbiology and physiology of *cachaça* (*aguardente*) fermentations. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v.79, p.89-96, 2001.

SELLI, S.; CABAROGLU, T.; CANBAS, A.; ERTEN, H.; NURGEL, C.; LEPOUTRE, J.P.; GUNATA, Z. Volatile composition of red wine from cv. *Kalecik karasi* grown in central Anatolia. **Food Chemistry**, London, v.85, p.207-213, 2004.

SHARAF, M.A.; ILLMAN, D.L.; KOWALSKI, B.R. **Chemometrics**. New York: J.Wiley, 1986. 332p.

SHIMADZU. **Application data book**. Tokyo: Shimadzu, 1998. 104p. Catálogo C190-E001.

SILVA, J.B.A. e. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, G.W. **Tecnologia de bebidas**. São Paulo: E.Blücher, 2005. p.347-380.

SILVA, P.H. da; FARIA, F.C. de; TONON, B.; MOTA, S.J.D.; PINTO, V.T. Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*myrciaria jabuticaba*). **Química Nova**, São Paulo, v.31, n.3, p.595-600, 2008.

SILVA, R. da; FRANCO, C.M.L.; GOMES, E. Pectinases, hemicelulases e celulases, ação, produção e aplicação no processamento de alimentos: revisão. **Boletim do SBCTA**, Campinas, v.31, n.2, p.249-260, 1997.

SILVA, T.G.; REGINA, M.A.; ROSIER, J.P.; RIZZON, L.A.; CHALFUN, N.N.J. Diagnóstico vinícola do sul de minas gerais II: teores de minerais dos vinhos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.3, p.638-642, 1999.

SIMPSON, R.F. Some important aroma components of white wine. **Food Technology Australian**, Melbourne, n.31, p.516-522, 1979.

SPONHOLZ, W.R.; DITTRICH, H.H.; MUNO, H. Diols in wine. **Viticultural and Enological Science**, v.49, p.23-26, 1993.

SOUFLEROSA, E.H.; PISSAB, I.; PETRIDISB, D.; LYGERAKISB, M.; MERMELASB, K.; BOUKOUVALASB, G.; TSIMITAKIS, E. Instrumental analysis of volatile and other compounds of Greek kiwi wine; sensory evaluation and optimisation of its composition. **Food Chemistry**, London, v.75, p.487-500, 2001.

SOUZA, J.S.I.; PEIXOTO, A.M.; TOLEDO, F.F. **Enciclopédia agrícola brasileira**. São Paulo: EDUSP, 1995. v.3, 508p.

TOMASSET, L.U. **Química enológica**. Madri: Mundi, 1998. 400p.

TORRES NETO, A.B.T.; SILVA, M.E.; SILVA, W.B.; SWARNAKAR, R.; SILVA, F.L.H. Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.3, p.489-492, 2006.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Nutrient database for standard reference, release 21**. 2007. Disponível em: <[http://grande.nal.usda.gov/NDL/cgi-bin/list\\_nut\\_edit.pl?NDB\\_NO=09164&FDGP\\_CD=0900&FOOD\\_NAME=Litchi&SCI\\_NAME=Litchi%20chinensis&MSRE\\_NO=100grams&GRAMS\\_100=1%C2%A0](http://grande.nal.usda.gov/NDL/cgi-bin/list_nut_edit.pl?NDB_NO=09164&FDGP_CD=0900&FOOD_NAME=Litchi&SCI_NAME=Litchi%20chinensis&MSRE_NO=100grams&GRAMS_100=1%C2%A0)>. Acesso em: 10 nov. 2008.

VILAS BOAS, E.V. de B. **Modificações pós-colheita de banana 'Prata' (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* grupo AAB)  $\gamma$ -irradiada**. 1995. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

VOGT, E.; JAKOB, L.; LEMPERLE, E. **El vino**: obtención, elaboración y análisis. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1986. 294p.

WANG, Z.X.; ZHUGE, J.; FANG, H.; PRIOR, B.A. Glycerol production by microbial fermentation: a review. **Biotechnology Advances**, v.19, p.201-223, 2001.

ZOECKLEIN, B.W.; FUGELSANG, K.C.; GUMP, B.H.; NURY, F.S. **Wine analysis and production**. New York: The Chapman & Hall Enology Library, 1995. 613p.

ZOECKLEIN, B.W.; FUGELSANG, K.C.; GUMP, B.H.; NURY, F.S. **Análisis y producción de vino**. Zaragoza: Acribia, 2001. 621p.

## **CAPÍTULO 3**

**EFEITO DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E INOCULADA  
COM DIFERENTES LINHAGENS DE LEVEDURAS *S. cerevisiae*  
SOBRE PERFIL VOLÁTIL DE BEBIDAS FERMENTADAS DE LICHIA  
(*Litchi chinensis* Sonn)**

## 1 RESUMO

O aroma é um importante aspecto da qualidade de vinhos. A composição volátil influencia as características sensoriais dos vinhos, principalmente as características aromáticas. Estudar a contribuição das leveduras no perfil volátil de bebidas alcoólicas de lichia obtidas pela fermentação inoculada (com leveduras selecionadas: UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174) e pela fermentação espontânea do mosto foi o objetivo deste estudo. Os compostos aromáticos foram extraídos pela técnica de microextração em fase sólida (SPME) e, em seguida, foram submetidos à cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) para a separação e identificação dos componentes do aroma. Os dados foram analisados pela Análise de Componentes Principais (PCA). Um total de 26, 25, 28 e 22 compostos foram identificados na bebida fermentada espontaneamente e nas bebidas fermentadas com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174, respectivamente. Entre os voláteis detectados, álcoois superiores e ésteres foram os principais produtos. A PCA separou as amostras em dois grupos: um primeiro grupo (das bebidas fermentadas com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183), caracterizado por vinhos com maior intensidade de área relativa (%) de acetato de isoamila, butanoato de etila, acetato de citronellil e etanol, e um segundo grupo (das bebidas fermentadas pela levedura UFLA CA1174 e por fermentação espontânea), caracterizado pelas maiores áreas relativas de ácido acético, acetato de etila, 2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano, lactato de etila e 1-hexanol. Pode-se concluir que a escolha da estirpe da levedura oferece grande potencial para modular o perfil aromático de bebidas fermentadas, e que a bebida elaborada com a inoculação da levedura CA1183 apresentou o perfil aromático mais complexo, comparado às outras bebidas.

## 2 ABSTRACT

The aroma is an important aspect of quality wines. The volatile composition influence the sensory characteristics of wines, especially the aromatic characteristics. Studying the contribution of yeast in the volatile profile of alcoholic beverages obtained by fermentation of lychee inoculated (with selected yeasts: UFLA CA116, UFLA CA1183 and UFLA CA1174) and the spontaneous fermentation of the must was the objective of this study. The aromatic compounds were extracted by the technique of solid phase microextraction (SPME) and then were subjected to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) for separation and identification of components of the aroma. The data were analyzed by Principal Components Analysis (PCA). A total of 26, 25, 28 and 22 compounds were identified in the beverages fermented spontaneously and inoculated beverages with yeasts UFLA CA116, UFLA CA1183 and UFLA CA1174, respectively. Among the volatiles detected, higher alcohols and esters were the main products. The PCA separated the samples into two groups: a first group (of fermented beverages with yeast UFLA CA116 and UFLA CA1183) characterized by wines with greater intensity on the area (%) Isoamyl acetate, ethyl butanoate, acetate citronellil and ethanol, and a second group (from yeast fermented beverages by UFLA CA1174 and spontaneous fermentation) characterized by the largest areas for acetic acid, ethyl acetate, 2,4,5-trimethyl-1,3-dioxolane, ethyl lactate and 1-hexanol. It can be concluded that the choice of strain of yeast offers great potential to modulate the volatile profile of fermented beverages and the beverage produced by the inoculation of yeast UFLA CA1183 showed the most complex aroma profile compared to other beverages.

### 3 INTRODUÇÃO

A lichia (*Litchi chinensis* Sonn) é uma fruta conhecida mundialmente por seu sabor delicado e agradável, lembrando o da uva “Itália”. No Brasil, grande parte da produção de lichias é destinada ao consumo “*in natura*”. Entretanto, um dos principais problemas pós-colheita da lichia é o rápido escurecimento do seu pericarpo, o que faz com que diminua a aceitação da fruta por parte do consumidor, causando desperdício e prejuízos. Uma das maneiras viáveis de diminuir o desperdício é a comercialização das frutas de forma industrializada. A elaboração de bebidas fermentadas de lichia é uma alternativa à industrialização, que além da redução de perdas, agrega valor à fruta. A escolha das cepas de leveduras apropriadas para a fermentação de cada fruta é de extrema importância, considerando que a diferença entre vinhos obtidos por um mesmo mosto fermentado por leveduras distintas se deve aos produtos secundários formados durante a fermentação.

Assim, o estudo da fração volátil em produtos enológicos tornou-se necessário e é mais do que suficientemente justificado, considerando que estes compostos dão uma contribuição importante para a percepção global do consumidor sobre a qualidade de produtos alimentares e bebidas (Castro et al., 2008).

A formação de compostos voláteis durante a fermentação alcoólica depende das espécies de leveduras utilizadas para fermentar o mosto (Giudici et al., 1990; Lema et al., 1996; Lambrechts & Pretorius, 2000). Embora um número de componentes do flavor seja encontrado na uva (Schreier et al., 1976), a maioria compostos encontrados no vinho são formados durante a fermentação pela microbiota presente (Margalith & Schwartz, 1970). É por isso que o vinho tem mais sabor do que o suco de uva a partir do qual ele foi produzido,

demonstrando, assim, a importância da levedura e, em menor medida, das bactérias, para o desenvolvimento do perfil volátil do vinho.

A indústria vinícola está muito interessada em estirpes de levedura vínicas que produzam sabores únicos (Pretorius, 2000). Portanto, é importante conhecer as potenciais diferenças na produção de voláteis por diferentes cepas de levedura a fim de selecionar a melhor linhagem para produzir um vinho de interesse.

A elaboração de vinhos envolve procedimentos milenares que têm sido melhorados ao longo dos anos em termos de equipamentos e higiene das instalações, mas sem alterar a base tecnológica da fermentação (Nicolau et al., 2000; Willians, 2001). Atualmente, observam-se grandes inovações que envolvem a criação de vinhos de frutas, que não sejam a uva, mas que combinem elementos naturais e culturais de cada região e a busca constante por informações sobre os tipos de constituintes químicos presentes em sua composição, ou que possam ser formados durante o seu processamento e armazenamento.

Em alguns casos, um pequeno número deles parece colaborar de forma mais intensa na tipicidade dessa bebida, mas todos ajudam a formar a sua “personalidade”. Por isso, conhecer melhor as substâncias aromáticas desta bebida significa estabelecer novos critérios para controlar a sua qualidade.

O objetivo deste trabalho foi estudar a influência do uso de leveduras selvagens e de três diferentes estirpes de *Saccharomyces cerevisiae* selecionadas para a formação de compostos voláteis nas bebidas fermentadas de lichia obtidas a fim de fazer comparações entre elas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Elaboração das bebidas fermentadas de lichia

Os frutos de lichia ‘bengal’ foram provenientes de uma única área de produção do município de Lavras, MG, nos meses de dezembro de 2007 e janeiro de 2008. As lichias foram lavadas em água corrente para remoção de sujidades e imersas em solução de hipoclorito 200 mg L<sup>-1</sup>. Após processo de higienização, as lichias foram selecionadas de modo que as frutas ou parte delas que estivessem impróprias para utilização fossem descartadas. As polpas de lichia foram extraídas manualmente com a retirada da casca e da semente. Após esta fase, as polpas foram embaladas em sacos plásticos de 5000g e armazenadas a -20°C.

#### 4.1.1 Preparo do mosto

Para a preparação do mosto, as polpas foram descongeladas à temperatura ambiente. Após esta fase, as polpas foram trituradas em liquidificador industrial e filtradas em peneira comercial. O mosto de lichia foi preparado de acordo com as metodologias propostas por Dias et al. (2003, 2007) com algumas modificações. A polpa foi transferida para uma dorna de aço inoxidável. O grau Brix da polpa foi aferido por meio de um refratômetro. O passo seguinte foi chaptalizar o mosto para obter uma bebida cujo teor alcoólico estivesse entre 10 °GL e 13 °GL. Foi utilizada sacarose comercial (açúcar cristal) para o preparo da solução. Esta foi preparada segundo Cataluña (1988), de acordo com o qual cada 25 g de sacarose adicionados a um volume final de 1 litro elevam o °Brix do mosto em, aproximadamente, duas unidades. O teor final de açúcar no mosto foi de 24°Brix.

Após a determinação do grau Brix e a correção do açúcar, o volume total de mosto foi dividido em erlenmeyers de 2L contendo 1,1L de mosto para fermentação. Quatro tipos de fermentações foram realizadas: três delas foram inoculadas com leveduras selecionadas e uma delas seguiu a fermentação espontânea da polpa de lichia. Os erlenmeyers que continham o mosto no qual seriam inoculadas as leveduras foram autoclavados por 15 minutos a 121°C para a eliminação das leveduras e bactérias oriundas da fruta.

Devido ao aspecto viscoso da polpa de lichia, enzimas pectinolítica foram adicionadas ao mosto, também com o objetivo de facilitar a clarificação da bebida. Foi utilizada 0,7 mL da preparação Ultrazym<sup>R</sup> AFP- L (Novo Nordisk Ferment Ltd, Dinamarca) por Kg de mosto quando os mostos recém-autoclavados atingiram a temperatura de 20°C, aproximadamente. Aos erlenmeyers contendo mosto sem ter sido autoclavado foi adicionada a mesma concentração de Ultrazym<sup>R</sup>, já que este se encontrava à temperatura de 20°C. Ultrazym AFP-L é uma pectinase com adição de atividade de celulase que promove uma rápida redução na viscosidade de polpas de frutas facilitando a clarificação das bebidas.

A adição de 200 mg L<sup>-1</sup> de metabissulfito de potássio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) ao mosto para obtenção de 100 mg L<sup>-1</sup> de dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) residual, foi a proporção necessária para assegurar uma assepsia, ou seja, reduzir a carga microbiana deteriorante, sem afetar a atividade fermentativa das leveduras e prevenir oxidações indesejáveis.

Os frascos erlenmeyers, em quadruplicatas, foram inoculados separadamente com 100 mL dos isolados de *Saccharomyces cerevisiae* (UFLA CA116, UFLA CA1174, UFLA CA1183) previamente adaptados de maneira que se obtivessem no mínimo 10<sup>8</sup> células/mL no volume total de 1,2L (1,1L de polpa + 0,1L de inóculo).

Após o preparo e as devidas correções, os frascos contendo o mosto adicionado das leveduras, bem como aquele no qual não houve adição das cepas (fermentação espontânea), foram incubados em sala refrigerada a  $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Após a estabilização do °Brix (indício do fim da fermentação), os vinhos foram transferidos para recipientes limpos, eliminando o excesso da borra formada. Estes foram submetidos aos processos de colagem, trasfega e filtração.

A bentonite foi adicionada ao mosto na concentração de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , segundo Vogt et al. (1986), a partir de uma solução estoque a 10% em água destilada. Após a adição de bentonite o vinho foi colocado, por 7 dias, em câmara-fria a  $10^{\circ}\text{C}$  para facilitar a sedimentação do material sólido proveniente da fermentação dos mostos de lichia.

Depois de 5 dias sob a temperatura de  $10^{\circ}\text{C}$ , foi feita uma trasfega na bebida com aeração, que possui efeitos benéficos para favorecer a completa fermentação do açúcar e desprender o excesso de gás carbônico e ácido sulfúrico que estiver presente (Rizzon et al., 1996). Após esta primeira trasfega, a bebida foi recolocada à temperatura de  $10^{\circ}\text{C}$  por mais 10 dias e foi realizada uma segunda trasfega sem aeração. A bebida ficou por mais 5 dias sob temperatura de  $10^{\circ}\text{C}$ .

Após a segunda trasfega e findos os últimos 5 dias a  $10^{\circ}\text{C}$ , as bebidas foram filtradas sob vácuo em frasco tipo kitassato, de 4 litros de volume, ao qual foi acoplado um funil tipo Büchner, utilizando filtro de celulose (Dias et al., 2003, 2007).

Terminada a filtração, as bebidas foram acondicionadas em garrafas de vidro com capacidade para 750 mL e armazenadas a  $12^{\circ}\text{C}$ , em B.O.D.

#### **4.2 Extração dos compostos voláteis**

O procedimento de extração envolveu a exposição da fibra de polidimetilsiloxano (PDMS, 100  $\mu\text{m}$ , Supelco) ao “headspace” de cada amostra

nos frascos de vidro “vials” fechados.

Preliminarmente às extrações, a fibra extratora foi condicionada a 250°C por 60 minutos no cromatógrafo gasoso VARIAN CP-3800. Entre cada exposição das amostras, a fibra (PDMS) era limpa e condicionada a uma temperatura de 250°C por 30 minutos no mesmo cromatógrafo.

As análises de extração e identificação dos compostos voláteis das bebidas fermentadas de lichia foram realizadas no Centro de Análise e Prospecção Química da Universidade Federal de Lavras, Lavras- MG, através da técnica de microextração em fase sólida (SPME), utilizando cromatógrafo gasoso GC-2010 – Gás Chromatograph Shimadzu, acoplado ao espectrômetro de massas GCMS-QP2010 Plus-Gas Chromatograph Mass Spectrometer.

Um volume de 2 mL das bebidas fermentadas de lichia foi transferido para os “vials” com capacidade para 10 ml, os quais foram vedados com lacre de alumínio e septos de borracha faceados com teflon. Em seguida, foram levados para agitação a velocidade constante de 500 rpm a 30°C por 15 minutos.

Após este tempo de agitação, a fibra ficou exposta ao headspace dos vials contendo as bebidas fermentadas de lichia por 15 minutos. Após 15 minutos de exposição à fibra, a seringa foi imediatamente levada ao injetor do CG-EM, no qual os compostos voláteis foram dessorvidos por 2 minutos, a 250°C, em modo split, na razão de 1:5.

### **4.3 Identificação dos compostos voláteis**

Utilizou-se aparelho Shimadzu CG-17A, com detector seletivo de massas modelo QP5050A, sob as seguintes condições operacionais: coluna capilar de sílica fundida de 30 m x 0,25 mm e 0,25 µm de espessura, tendo como fase estacionária 5% de difenil e 95% de polidimetilsiloxano (DB5); temperatura do injetor de 270°C; programação da coluna com temperatura inicial de 35°C, sendo acrescidos 4°C a cada minuto até atingir 270°C; gás de arraste hélio, com

1,78 mL min<sup>-1</sup> na coluna; com modo de injeção split com pressão inicial na coluna de 120.9 KPa.

As condições do EM foram: detector seletivo de massas operando por impacto eletrônico e energia de impacto de 70 eV; velocidade de varredura 1000 m/z s<sup>-1</sup>; intervalo de varredura de 0,5 fragmentos/segundos e fragmentos detectados de 29 Da e 600 Da.

A identificação dos compostos voláteis foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados existentes na literatura com espectros avaliados pelo banco de dados (Wiley 8.LIB e FFNSC.1.2.lib). Visto que não foram utilizados padrões para a confirmação positiva da identidade dos compostos, estes foram considerados tentativamente identificados.

Os compostos foram obtidos pela análise dos componentes principais (PCA, *Principal Component Analysis*). Os dados obtidos foram autoescalonados como forma de pré-processamento antes das análises por PCA e AHA (análise hierárquica de agrupamento). Para ambas as análises utilizou-se o software MATLAB (Versão 7.5, 2007).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Perfil volátil das bebidas fermentadas de lichia

A identidade dos compostos voláteis tentativamente identificados, com seus respectivos íons majoritários, tempos de retenção e porcentagens médias das áreas relativas dos picos, nas bebidas fermentadas de lichia (inoculadas com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174) e fermentada espontaneamente, estão apresentados na Tabela 1.

Os dados apresentados na Tabela 1, relativos às áreas médias dos picos cromatográficos de cada bebida, nos permitem comparar somente as áreas médias de um mesmo composto químico entre as diferentes bebidas. Para comparar os compostos voláteis nas quatro bebidas fermentadas de lichia, as áreas dos picos foram normalizadas sobre o maior pico encontrado em todas as amostras. Este pico foi do etanol, na bebida fermentada pela levedura UFLA CA1183, e a ele foi atribuído um valor de 100; os picos restantes, em todas as quatro amostras, foram normalizados a partir dele.

Neste estudo verificou-se que o aquecimento do vinho a 35 °C com 15 minutos de exposição da fibra PDMS foi suficiente para detectar 37 compostos na bebida fermentada espontaneamente a partir do mosto de lichia, 42, 41 e 29 compostos nas bebidas fermentadas inoculadas com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174, respectivamente. Dos compostos detectados pela cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas, somente foram identificados 26, 25, 28 e 22 compostos na bebida fermentada espontaneamente e nas bebidas fermentadas com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174, respectivamente.

**TABELA 1** Compostos voláteis, padrão de fragmentação, tempo de retenção (TR), e porcentagem de áreas relativas de componentes aromáticos de bebidas fermentadas de lichia obtidas pela fermentação inoculada (com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174) e pela fermentação espontânea (ESP)

Composto*	Íons majoritários ( <i>m/z</i> )	TR	Área relativa (%)			
			UFLA CA116	UFLA CA1183	UFLA CA1174	ESP
<b>Álcoois</b>						
Etanol	45	1,27	90,43	100	68,27	79,82
Álcool isobutílico	45, 56, 69, 74	1,99	0,39	2,06	0,47	1,63
Álcool isoamílico	45, 55, 57, 70	3,23	30,67	19,44	11,01	19,27
2,3-butanediol	45, 57	4,20	1,06	1,19	1,17	1,65
1-hexanol	45, 56, 69, 73	6,43	nd	0,05	0,18	0,07
1-octen-3-ol	55, 57, 67, 70, 73	9,93	0,06	0,06	nd	0,16
2-feniletanol	51, 65, 91, 122	14,70	3,52	4,20	1,45	3,27
<b>Ésteres</b>						
Acetato de etila	43, 61, 70, 73, 88	1,89	7,88	2,87	7,28	8,90
Acetato de isobutila	55, 56, 71, 73	3,96	nd	0,18	nd	0,13
Acetato de isoamila	55, 70, 73, 87	6,56	3,9	5,34	0,58	0,63
Butanoato de etila	60, 71, 88, 101	4,52	0,36	0,47	nd	0,09

nd: não detectado;

(continua da próxima página)

\*considerado tentativamente identificado por comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados existentes na literatura (Wiley 8.LIB e FFNSC.1.2.lib).

Tabela 1 (continuação)

<b>Ésteres</b>						
Hexanoato de etila	60, 70, 88, 99	10,63	8,34	0,11	3,82	0,58
Octanoato de etila	57, 70, 73, 88, 101	17,77	60,98	53,83	51,93	4,12
Nonanoato de etila	55, 70, 73, 88, 101	21,20	0,23	0,09	nd	0,07
Decanoate de etila	55, 70, 73, 88, 101	24,46	20,33	21,12	18,03	0,84
Pentadecanoato de etila	55, 70, 88, 101	40,97	0,58	0,38	1,38	0,26
Lactato de etila	45, 56, 75	4,87	nd	nd	0,63	0,49
Dietil succinato	45, 55, 101, 128, 129	17,23	0,16	nd	0,07	nd
Fenetil acetato	51, 65, 78, 91, 104	19,80	0,82	2,33	0,29	0,75
Citronelil acetato	55, 69, 81, 95	23,08	0,53	0,82	ni	0,27
Geranil acetato	69, 80, 91, 121, 136	24,07	nd	0,16	nd	nd
dec-9-enoato de etila	55, 69, 84, 88, 101	24,21	0,09	4,67	0,55	0,09
<b>Compostos carbonílicos</b>						
Ácido acético	45,60	1,75	0,56	1,09	2,50	2,25
Ácido octanóico	55, 60, 73, 101	17,05	0,38	0,33	0,31	nd
Ácido p- hidroxicinâmico	45, 55, 60	1,50	ni	2,07	ni	ni
<b>Monoterpenos</b>						
Linalool	41, 55, 71, 80, 93	14,23	0,23	0,45	0,42	8,34
Citronelol	41, 55, 69, 81, 95	18,87	1,58	0,76	1,98	4,03

nd: não detectado;

(continua da próxima página)

\*considerado tentativamente identificado por comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados existentes na literatura (Wiley 8.LIB e FFNSC.1.2.lib).

Tabela 1 (continuação)

<b>Outras classes</b>							
2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano	45, 55, 72, 101	3.11	0,16	nd	0,72	0,92	
1,1-dietoxietano	45, 61, 73, 103	3.16	0,51	1,95	0,44	1,07	
cis - Rose oxide	41, 69, 83, 139	14.62	0,4	0,52	0,57	0,57	

nd: não detectado; \*considerado tentativamente identificado por comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados existentes na literatura (Wiley 8.LIB e FFNSC.1.2.lib).

Como mostrado na Tabela 1, as quatro bebidas fermentadas de lichia obtiveram resultados similares quanto a sua composição volátil. Os compostos voláteis que apareceram em maior número, identificados por cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massa (CG-EM), através de SPME nas quatro bebidas fermentadas, foram os álcoois e os ésteres.

As bebidas fermentadas de lichia apresentaram um perfil aromático muito semelhante ao de vinhos tintos e vinhos brancos. Grbz et al. (2006) encontraram resultados muito parecidos com os deste trabalho fazendo uma comparação entre os compostos voláteis em vinhos comerciais Merlot e Carbenet Sauvignon. Segundo estes autores, dos 66 compostos voláteis identificados por CG-EM, 28 eram ésteres e 19 eram álcoois; e 81 a 88% do total da área dos picos do cromatograma de íons obtido pela espectrometria de massa de cada tipo de vinho correspondiam a etanol, octanoato de etila, decanoato de etila, acetato de 3-metil-1-butanol (acetato de isoamila), hexanoato de etila, dietil succinato e 2-feniletanol. Todos estes compostos foram identificados nas bebidas fermentadas de lichia.

Curiosamente, a semelhança entre vinhos e lichia já foi observada por autores como Ong & Acree (1999), que estudaram as semelhanças no aroma de vinhos de uvas da variedade Gewürztraminer e frutos de lichia (*Litchi chinesis* Sonn.). Gewürztraminer é a única variedade que produz vinhos brancos aromáticos e “encorpados” com características facilmente identificáveis. Pode-se caracterizar o aroma dos vinhos desta uva exclusivamente como tendo um aroma evocativo da qualidade de lichias (Ong & Acree, 1999).

Entre os compostos identificados nas bebidas fermentadas de lichia, os álcoois e os ésteres apareceram em maior número.

Os álcoois superiores são constituintes do aroma, os quais são libertados para o meio como produtos secundários do metabolismo das leveduras. Os principais álcoois encontrados em vinhos são: 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-

butanol, isobutanol (2-metil-1-propanol), n-propanol, tirosol, 1-hexanol e fenetil álcoois. Em parte, eles são formados por transaminação ou desaminação do aminoácido correspondente, de acordo com a rota de Ehrlich. Os ceto-ácidos resultantes desta rota são descarboxilados a aldeídos, que são finalmente reduzidos a álcoois superiores. Alguns álcoois superiores não têm um possível precursor entre os aminoácidos, e são formados a partir de ácidos cetônicos (Hensehek & Jiranek, 1993). Altas quantidades desses compostos são consideradas indesejáveis nos vinhos de mesa, e concentrações abaixo de 350 mg L<sup>-1</sup> podem ser considerada positivas para aroma do vinho (Rapp & Mandery, 1986).

Entre os álcoois superiores identificados, o **álcool isoamílico** apresentou os maiores picos nos cromatogramas de íons das bebidas fermentadas pela levedura UFLA CA116, em comparação às outras bebidas.

O valor limiar de odor do álcool isoamílico está entre 60 e 180 mg L<sup>-1</sup> (Nurgel et al., 2002) e é considerado relativamente elevado. Apesar disso, a contribuição deste álcool ao aroma final tende a ser elevada, considerando a alta concentração normalmente encontrada em vinhos (Nóbrega, 2003).

Este álcool foi encontrado como o maior constituinte volátil no vinho de laranja (Selli et al., 2003) e em vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon analisados por Grbz et al. (2006).

Os acetatos são resultados da reação do acetil-CoA com álcoois superiores que são formados a partir da degradação de aminoácidos e carboidratos (Perestrelo et al., 2006). Ésteres são responsáveis pela maior parte (60-83%) do total de picos do espectrômetro de massas da maioria dos vinhos.

**Acetato de etila** foi formado em maior quantidade na fermentação espontânea que nas fermentações inoculadas com as leveduras selecionadas. Entre as bebidas inoculadas, a bebida inoculada com a levedura UFLA CA1174 apresentou uma área relativa (%) maior deste éster com relação às outras duas

bebidas. Este alto teor de acetato de etila pode ser devido ao fato de as taxas de fermentação da bebida inoculada com a levedura UFLA CA1174 e da bebida obtida pela fermentação espontânea (ESP) terem sido muito baixas, favorecendo uma maior aeração do mosto e susceptibilidade à oxidação ou ao ataque de microorganismos. O alto teor de acetato de etila apresentado pela bebida obtida pela fermentação espontânea do mosto, comparado às bebidas obtidas pela fermentação inoculada com leveduras selecionadas, deve-se também ao fato de que as leveduras não-*Saccharomyces* presentes no mosto de lichia sintetizam este éster em maior quantidade que as leveduras *Saccharomyces* (Rojas et al., 2001; Plata et al., 2003).

Quanto aos **ésteres etílicos de ácidos graxos**, estes são produzidos enzimaticamente durante a síntese ou degradação dos ácidos graxos. Sua concentração é dependente de vários fatores: estirpe levedura, temperatura de fermentação, aeração e teor de açúcar (Perestrelo et al., 2006).

Um total de 7 ésteres etílicos de ácidos graxos foram identificados nas bebidas fermentadas de lichia. Destes, 2 não foram identificados na bebida fermentada com a levedura UFLA CA1174 (Tabela 1).

Os ésteres deste grupo têm uma contribuição positiva para a qualidade geral do vinho. A maior parte deles tem nuances de sabor de frutos maduros, como butanoato de etila (fruta azeda, morango, frutado), hexanoato de etila (maçã verde, frutado, morango, anis), octanoato de etila (abacaxi, pera, floral), decanoato de etila (frutado, oleoso, agradável) e lactato de etila (láctico, framboesa). Estes cinco ésteres etílicos são responsáveis pelo aroma “frutado” e “floral” dos vinhos (Li et al., 2008).

Além dos acetatos e dos ésteres etílicos de ácidos graxos, alguns outros ésteres também foram identificados nas bebidas, tais como dietilsuccinato, fenetilacetato, citronelil acetato e dec-9-enoato de etila.

Foi observada a presença de **lactato de etila** no “headspace” das bebidas fermentadas com a levedura UFLA CA1174 e pela fermentação espontânea. Vilanova & Sieiro (2006) observaram que concentrações inferiores de lactato de etila foram produzidas em vinhos fermentados com leveduras selecionadas. Quanto à produção de lactato de etila nas bebidas fermentadas espontaneamente, estes autores a atribuíram ao próprio processo fermentativo. Embora Nurgel et al. (2002) afirmem que o lactato de etila é formado durante a fermentação malolática, para as bebidas fermentadas com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 não foi detectada a presença deste éster.

Com relação aos ácidos graxos que normalmente são encontrados em vinhos, somente foi identificado o ácido octanóico nas bebidas fermentadas de lichia, exceto na bebida fermentada espontaneamente. Nurgel et al. (2002) encontraram baixas concentrações de ácidos graxos nos vinhos cv. Emir. Segundo estes autores, as fermentações realizadas com leveduras comerciais resultaram em baixa concentração de ácidos graxos de cadeia longa, como os ácidos hexanóico e octanóico.

Monoterpenóides são potentes componentes do aroma que são produzidos de um precursor comum, geranyl pirofosfato (GPP), cuja biossíntese começa com acetil-coenzima A (CoA) (King & Dickinson, 2000). Numerosos estudos têm relatado que os compostos terpenóides poderiam ser utilizados para caracterização varietal. Estes compostos pertencem aos constituintes secundários das plantas. Microorganismos também são capazes de sintetizar compostos terpênicos, mas a formação de terpenos por *Saccharomyces cerevisiae* ainda não foi observada. Desta forma, os terpenos não são alterados pelo metabolismo das leveduras durante a fermentação (Rapp, 1988). Alguns terpenos, como linalol, citronelol,  $\alpha$ -terpineol, nerol e geraniol, são importantes contribuintes para o aroma de vinhos devido à baixa sua percepção limiar. Estes componentes têm aroma floral parecido com rosa e citronela. Os mais aromáticos são citronelol e

linalol e seus limites de percepção são 18 e 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Dois terpenos foram identificados nas bebidas fermentadas de lichia. **Linalol** e **citronelol** foram encontrados em todas as amostras de bebidas fermentadas de lichia. Estes monoterpenos já foram identificados em lichias frescas por Ong & Acree (1998, 1999) e Mahattanatawee et al. (2007) e classificados por esses autores como compostos de caráter de impacto em lichias.

Diversos estudos têm atribuído o distinto sabor de uvas e de vinhos Gewürztraminer, bem como Riesling e Muscat, à presença de alguns monoterpenos, tais como linalol, geraniol, nerol (Schreier et al., 1976; Rapp, 1988; Etievant, 1991; Macaulay & Morris, 1993). Selli et al. (2003) também encontraram citronelol e linalol como os principais monoterpenos que contribuem para o aroma do vinho de laranja cv.Kozan.

Citronelol é um composto perfumado e flavorizante de grande interesse para as empresas industriais porque pode ser usado para sintetizar outros compostos do aroma. A biotransformação do citronelol pode produzir uma grande quantidade de metabólitos (Brunerie et al., 1987; Kaminska et al., 1989; Onken & Berger, 1999; Demyttenaere et al., 2004), entre os quais um dos mais interessantes é o composto rose oxide.

Nos trabalhos sobre lichias, Ong & Acree (1998) mostraram que cis-rose óxido esteve presente como um dos mais importantes compostos do odor na fruta fresca. Uma análise sensorial mostrou que este composto foi um importante contribuinte para o aroma fresco da lichia e também de vinhos Gewürztraminer (Ong & Acree, 1998).

**Ácido hidroxicinâmico** foi identificado somente no perfil volátil da bebida inoculada com a levedura UFLA CA1183. Este ácido é um importante precursor dos compostos fenólicos voláteis. Fenóis voláteis têm um limiar de

detecção relativamente baixo e, portanto, são facilmente detectados. Embora os fenóis voláteis possam contribuir positivamente para o aroma de alguns vinhos, eles são mais conhecidos por sua contribuição para odor de ‘madeira’, que resulta de elevadas concentrações de etilfenóis (Dubois, 1983).

Fenóis são produtos da via do ácido chiquímico e podem ser extraídos de madeira queimada ou liberados a partir de precursores glicosídicos das uvas. 2-metoxi-4-(2-propenil) fenol (eugenol), a 2-metoxifenol (guaiacol), 4-etilfenol, e 2-feniletanol são tipicamente compostos extraídos da madeira (Grbz et al., 2006).

Outro composto identificado nas quatro bebidas fermentadas de lichia, e que pertence à classe dos acetais, é o **1,1-dietoxietano**. Este composto é formado através da reação entre aldeídos e álcoois, fazendo com que o odor pungente dos aldeídos nas bebidas fermentadas seja reduzido (Nykanen & Nykanen, 1983; Etiévant, 1991).

A formação de 1,1-dietoxietano resulta da reação de adição entre aldeído e etanol, formando um hemiacetal, seguida pela condensação deste com outra molécula de etanol. Como o acetaldeído e o etanol são o aldeído e o álcool encontrados em maior quantidade nas bebidas alcoólicas não é surpreendente encontrar 1,1-dietoxietano nestas bebidas (Nóbrega, 2003).

O 1,1-dietoxietano tem valor de limiar de odor em água de 40 ppb (Gemert & Nettenbreijer, 1977) e características de odor reportadas como “refrescante”, “frutado” e “verde” (Williams, 1974). Assim, o 1,1-dietoxietano deve contribuir para o aroma final das bebidas fermentadas, seja pela redução do odor “pungente” do aldeído majoritário (acetaldeído), seja pelo provimento das características de aroma citadas.

Embora se saiba que os componentes oriundos da fruta fresca são contribuintes muito importantes para o sabor típico de um vinho, a estirpe da

levedura pode também contribuir para o sabor característico de uma bebida alcoólica fermentada.

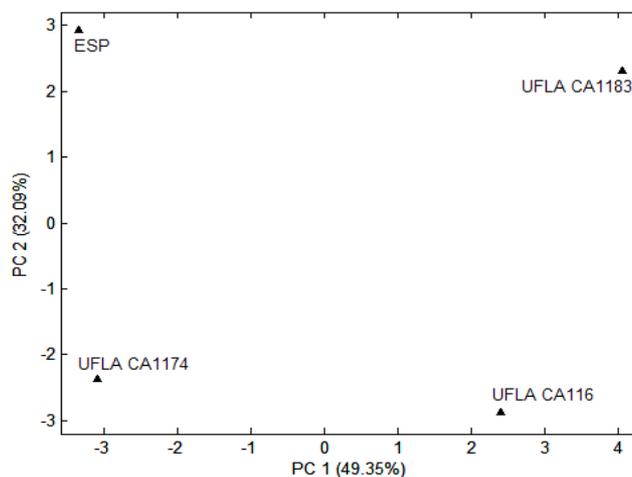
Os compostos **2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano** podem atingir altas concentrações em vinhos oxidados. Em altas concentrações, têm cheiro picante parecido com alguns aldeídos, e podem contribuir para um odor pungente apresentado por alguns vinhos oxidados (Schreier et al., 1979). Conforme indica a sua estrutura, estes compostos são formados pela reação de condensação entre o acetaldeído e 2,3-butanediol; e os outros isômeros também encontrados em vinhos correspondem ao produto da condensação entre o acetaldeído e outros dióis vinhos.

## **5.2 Análises quimiométricas**

A aplicação da análise dos componentes principais (PCA) com as áreas normalizadas identificadas por SPME-CGEM nas bebidas fermentadas de lichia obtidas pela fermentação com as leveduras selecionadas UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174 e pela fermentação espontânea do mosto (ESP) permitiu uma boa separação das quatro bebidas.

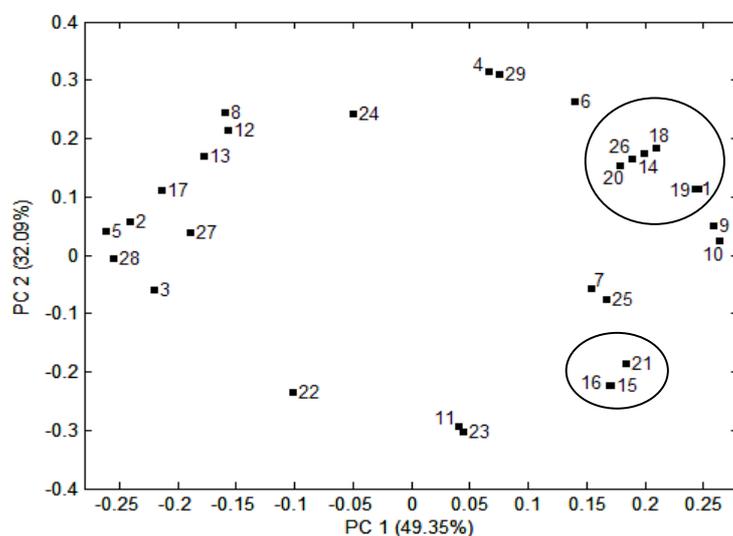
A Figura 1 mostra os escores (comportamento das amostras para os componentes principais mais importantes) nos quais os dois primeiros componentes principais são responsáveis por 80,93% da variabilidade total presente no conjunto de dados.

A PC1, que explica 52.5% da variabilidade total, caracteriza a separação das bebidas em dois grupos: um deles formado pelas bebidas fermentadas com as leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 e o outro, formado pelas bebidas elaboradas pela levedura UFLA CA1174 e pela fermentação espontânea (ESP).



**FIGURA 1** Gráfico de escores da análise dos componentes principais (PCA) para as bebidas fermentadas de lichia.

Na Figura 2 estão apresentados os pesos (contribuições das áreas dos picos do CG dos compostos voláteis para os componentes principais) que revelam a relação entre os compostos voláteis identificados nas quatro bebidas e as leveduras utilizadas para a fermentação do mosto de lichia. A relação entre cada região mostra que as bebidas fermentadas com as leveduras CA116 e CA1183 se encontram no mesmo grupo (de pesos positivos) e apresentam, em comum, altas áreas relativas (%) de compostos voláteis como acetato de isoamila, butanoato de etila, acetato de citronelil e etanol.



**FIGURA 2** Gráfico dos pesos dos compostos aromáticos de acordo com o tipo de fermentação: espontânea (ESP) ou inoculada com as cepas de leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183, UFLA CA1174: (1) etanol; (2) ác. acético; (3) acetato de etila; (4) isobutanol; (5) 2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano; (6) 1,1-dietoxietano; (7) álcool isoamílico; (8) 2,3-butanediol; (9) butanoato de etila; (10) acetato de isoamila; (11) hexanoato de etila; (12) linalool; (13) rose oxide; (14) 2-feniletanol; (15) ác. octanóico; (16) octanoato de etila; (17) citronelol; (18) 2-fenilacetato; (19) acetato de citronelil; (20) 9-decenoato de etila; (21) decanoato de etila; (22) pentadecanoato de etila; (23) dietilsuccinato; (24) 1-octen-3-ol; (25) Nanoato de etila; (26) ác. hidroxicinâmico; (27) 1-hexanol; (28) lactato de etila e (29) acetato de isobutila.

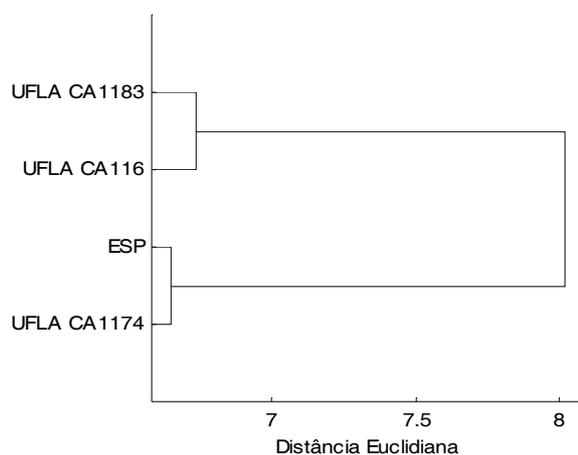
A utilização da levedura CA116 resultou em uma bebida alcoólica com as maiores áreas relativas (%) do seu perfil volátil correspondente aos ésteres, hexanoato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila, nonanoato de etila, ácido octanóico e álcool isoamílico, enquanto na UFLA CA1183 destacaram-se os componentes 1,1-dietoxietano, ácido hidroxicimâmico, dec-9-enoato de etila, fenetil acetato e 2-feniletanol. O outro grupo identificado pela PC1 (pesos negativos) engloba as bebidas fermentadas espontaneamente e fermentada com a levedura UFLA CA1174 devido às elevadas áreas relativas (%) que estas bebidas apresentaram em seus perfis voláteis relacionadas ao ácido acético, acetato de etila, 2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano, lactato de etila e 1-hexanol. Ainda dentro deste grupo, pode-se verificar outro conjunto de variáveis, identificado pelo linalol, citronelol, roseoxide, 2,3-butanediol e 1-oct-3-enol, os quais foram encontrados em maiores porcentagens de área relativa na bebida obtida pela fermentação espontânea do mosto de lichia.

O conjunto de compostos encontrados com as maiores áreas relativas nas bebidas em que se utilizaram a levedura UFLA CA1174 e a fermentação espontânea são compostos que, em altas concentrações, estão relacionados à fermentação malolática e ao excesso de aeração, sendo considerados como compostos deteriorantes da qualidade de bebidas fermentadas.

As tendências observadas através da PCA podem ser confirmadas através do dendograma obtido pela análise de agrupamento hierárquico (AHA). Essa área da quimiometria desenvolve ferramentas computacionais que permitem explorar os resultados obtidos por meio de análises químicas a fim de verificar a existência de similaridades entre as amostras que, por sua vez, correspondem às semelhanças na composição química. A AHA busca agrupar as amostras em classes com base na similaridade dos participantes de uma mesma classe e nas diferenças entre os membros de classes diferentes. A representação

gráfica obtida é chamada de dendrograma, um gráfico bidimensional independente do número de variáveis do conjunto de dados (Beebe et al., 1997; Teófilo & Ferreira, 2006).

Uma avaliação dos agrupamentos existentes no dendrograma obtido (Figura 3) mostra que todas as bebidas são adequadamente separadas. As amostras das bebidas fermentadas pelas leveduras UFLA CA116 e UFLA CA1183 formaram um grupamento. As bebidas obtidas pela fermentação com a levedura UFLA CA1174 e pela fermentação espontânea (ESP) se localizam no dendrograma separadas das duas outras bebidas e formando outro grupo.



**FIGURA 3** Dendrograma obtido por AHA (análise hierárquica de agrupamento) para as bebidas fermentadas de lichia elaboradas pela fermentação espontânea (ESP) e inoculada com as leveduras UFLA CA116, UFLA CA1183 e UFLA CA1174.

## 6 CONCLUSÕES

A formação e a concentração dos compostos voláteis dependem da estirpe de levedura utilizada para a fermentação do mosto. Os resultados obtidos pela técnica SPME e os dados quimiométricos mostram diferenças no perfil volátil das bebidas fermentadas de lichia pela fermentação espontânea e inoculada com diferentes cepas de leveduras.

A bebida elaborada pela fermentação com a levedura UFLA CA1183 produziu mais compostos aromáticos, apresentando aroma mais complexo quando comparada às outras três bebidas com realação à fermentação do mosto de lichia.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ, M.A.; GARCIA, E. Componentes aromáticos en la fermentación alcohólica del jerez. **Microbiologia Espanola**, Madrid, v.37, p.37-45, 1984.
- ANTONELLI, A.; CASTELLARI, L.; ZAMBONELLI, C.; CARNACINI, A. Yeast influence on volatile composition of wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.47, p.1139-1144, 1999.
- ARAGON, P.; ATIENZA, J.; CLIMENT, M.D. Influence of clarification, yeast type, and fermentation temperature on the organic acid and higher alcohols of Malaise and Muscatel wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.49, p.211-216, 1998.
- BEEBE K.R.; PELL, R.J.; SEASHOLTZ, M.B. **Chemometrics: a practical guide**. New York: J.Wiley, 1997. 348p.
- BRUNERIE, P.; BENDA, I.; BOCK, G.; SCHREIER, P. Bioconversion of citronellol by *Botrytis cinerea*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v.27, n.1, p.6-10, 1987.
- CASTRO, R.; NATERA, R.; DURÁN, E.; GARCÍA-BARROSO, C. Application of solid phase extraction techniques to analyse volatile compounds in wines and other enological products. **European Food Research and Technology**, London, v.228, p.1-18, 2008.
- CATALUÑA, E. **As uvas e os vinhos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Globo, 1988. 207p.
- DEMYTTENAERE, J.C.R.; VANOVERSCHELDE, J.; KIMPE, N. de. Biotransformation of (*R*)-(+)- and (*S*)-(-)-citronellol by *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp. and the use of solid phase microextraction for screening. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1027, n.1/2, p.137-146, 2004.
- DIAS, D.R.; SCHWAN, R.F.; FREIRE, E.S.; SERÔDIO, R.S. Elaboration of a fruit wine from cocoa (*Theobroma cacao* L.). **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.42, n.2, p.319-329, Mar. 2007.
- DIAS, D.R.; SCHWAN, R.F.; LIMA, L.C.O. Metodologia para elaboração de fermentado de cajá (*Spondias mombin* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.3, p.342-350, set./dez. 2003.

- DUBOIS, P. Volatile phenols in wine. In: PIFGOTT, J.R. (Ed.). **Flavour of distilled beverages, origins and developments**. Chichester: E.Horwood, 1983. p.110-119.
- ETIÉVANT, P.X. Wine. In: MAARSE, H. (Ed.). **Volatile compounds in foods and beverages**. New York: M.Dekker, 1991. chap.14, p.483-546.
- GEMERT, L.M. van; NETTENBREIJER, A.H. **Compilation of odor threshold values in air and water**. Netherlands: Food Analysis Institute, 1977.
- GIUDICI, P.; ROMANO, P.; ZAMBONELLI, C. A biometric study of higher alcohol production in *Saccharomyces cerevisiae*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.36, p.61-64, 1990.
- GRBZ, O.; ROUSEFF, J.M.; ROUSEFF, R.L. Comparison of aroma volatiles in commercial merlot and cabernet sauvignon wines using gas chromatography–olfactometry and gas chromatography: mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.54, n.11, p.3990-3996, 2006.
- HENSCHKE, P.A.; JIRANEK, V. Yeast metabolism of nitrogen compounds. In: FLEET, G.H. (Ed.). **Wine microbiology and biotechnology**. [S.l.]: Harwood Academic, 1993. p.77-163.
- KAMINSKA, J.; MARKOWICZ, L.; STOŁOWSKA, J.; GÓRA, J. Biotransformation of citronellol by means of horseradish peroxidase. **Enzyme and Microbial Technology**, v.11, n.7, p.436-438, 1989.
- KING, A.; DICKINSON, J.R. Biotransformation of monoterpene alcohols by *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii* and *Kluyveromyces lactis*. **Yeast**, v.16, p.499-506, 2000.
- LAMBRECHTS, M.G.; PRETORIUS, I.S. Yeast and its importance to wine aroma: a review. **South African Journal of Enology and Viticulture**, Prettoria, v.21, p.97-129, 2000.
- LEMA, C.; GARCIA-JARES, C.; ORRIOLS, I.; ANGULO, L. Contribution of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* populations to the production of some components of Albarino wine aroma. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.47, p.206-216, 1996.

- LI, H.; TAO, Y.S.; WANG, H.; ZHANG, L. Impact odorants of Chardonnay dry white wine from Changli County (China). **European of Food Research and Technology**, London, n.227, p.287-292, 2008.
- MACAULAY, L.E.; MORRIS, J.R. Influence of cluster exposure and winemaking processes on monoterpenes and wine olfactory evaluation of golden Muscat. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.44, p.198-204, 1993.
- MAHATTANATAWEE, K.; PEREZ-CACHO, P.R.; VENPORT, T.; ROUSEFF, R. Comparison of three lychee cultivar odor profiles using gas chromatography–olfactometry and gas chromatography–sulfur detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.55, n.5, p.1939-1944, 2007.
- MARGALITH, P.; SCHWARTZ, Y. Flavor and microorganisms. In: PERLMAN, D. (Ed.). **Advances in applied microbiology**. New York: Academic, 1970. p.35.
- NICOLAU, L.P.; REVEL, G.; BERTRAND, A.; MAUJEAN, A. Formation of flavor components by the reaction of amino acid and carbonyl compounds in mild conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.48, n.9, p.3761-3766, 2000.
- NÓBREGA, I.C.C. Análise de compostos voláteis de aguardente de cana por concentração dinâmica “headspace” e cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.2, p.210-216, maio/ago. 2003.
- NYKANEN, L.; NYKANEN, I. **Rum flavour of distilled beverages**: origin and development. Pigoott Chichiste: Society of Chemical Industry, 1983. 63p.
- NURGEL, C.; ERTEN, H.; CANBAS, A.; CABAROGLU, T.; SELLI, S. Influence of *Saccharomyces cerevisiae* strains on fermentation and flavor compounds of white wines made from cv. Emir grown in Central Anatolia, Turkey. **Journal of Industrial and Microbiology Biotechnology**, v.29, p.28-33, 2002.
- ONG, P.K.C.; ACREE, T.E. Similarities in the aroma chemistry of gewürztraminer variety wines and lychee (*Litchi chinesis* Sonn.) Fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.47, p.665-670, 1999.
- ONG, P.K.C.; ACREE, T.E.; LAVIN, E.H. Characterization of volatiles in rambutan fruit (*Nephelium lappaceum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.46, p.611-615, 1998.

ONKEN, J.; BERGER, R.G. Biotransformation of citronellol by the basidiomycete *Cystoderma carcharias* in an aerated-membrane bioreactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v.51, n.2, p.158-163, 1999.

PERESTRELO, R.; FERNANDES, A.; ALBUQUERQUE, F.F.; MARQUES, J.C.; CAMARA, J.S. Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: identification of the main odorants compounds. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.563, p.154-164, 2006.

PRETORIUS, I.S. Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. **Yeast**, v.15, p.675-729, 2000.

RAPP, A. Wine aroma substances from gas chromatographic analysis. In: LINSKENS, H.F.; JACKSON, J.F. (Ed.). **Wine analysis**. New York: Springer-Verlag, 1988. p.29-66.

RAPP, A.; MANDERY, H. Wine aroma. **Experientia**, v.42, p.873-884, 1986.

PLATA, C.; MILLÁN, C.; MAURICIO, J.C.; ORTEGA, J.M. Formation of ethyl acetate and isoamyl acetate by various species of wine yeasts. **Food Microbiology**, London, v.20, p.217-224, 2003.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. **Handbook of Enology**. Paris: J.Wiley, 2000. v.2, p.187-193.

RIZZON, L.A.; ZANUZ, M.C.; MANFREDINI, S. **Como elaborar vinho de qualidade na pequena propriedade**. 3.ed. Bento Gonçalves: Embrapa-CNPUV, 1996. 36p. (Embrapa-CNPUV. Documentos, 12).

ROJAS, V.; GIL, J.V.; PIÑAGA, F.; MANZANARES, P. Studies on acetate ester production by non-*Saccharomyces* wine yeasts. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.70, p.283-289, 2001.

SCHREIER, P.; DRAWER, F.; JUNKER, A.; REINER, L. Anwendung der multiplen Diskriminanzanalyse zur Differenzierung von rebsorten anhand der quantitativen Verteilung fluchtiger Weininhaltsstoffe. **Mitt. Klosterneuburg**, Berlin, n.26, p.225-234, 1976.

SELLI, S.; CABAROGLU, T.; CANBAS, H. Flavour components of orange wine made from a Turkish cv. Kozan. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.38, p.587-593, 2003.

TEÓFILO, R.F.; FERREIRA, M.M.C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, São Paulo, v.29, p.338-350, 2006.

VILANOVA, M.; SIEIRO, C. Contribution by *Saccharomyces cerevisiae* yeast to fermentative Xavour compounds in wines from cv. Albariño. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.33, p.929-933, 2006.

VOGT, E.; JAKOB, L.; LEMPERLE, E. **El vino**: obtención, elaboración y análisis. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1986. 294p.

WILLIAMS, A.A. Flavour research and the cider industry. **Journal of the Institute of Brewing**, n.80, p.455-470, 1974.

WILLIAMS, P. Positioning wine tourism destinations: an image analysis. **International Journal of Wine Marketing**, v.13, n.3, p.42-60, 2001.

## ANEXOS

### ANEXO A

		<b>Página</b>
TABELA 1A	Resumo da análise de variância para os ácidos oxálico, tartárico e cítrico entre as bebidas fermentadas de lichia.....	164
TABELA 2A	Resumo da análise de variância para os ácidos málico, láctico e succínico entre as bebidas fermentadas de lichia.....	164
TABELA 3A	Resumo da análise de variância para os ácidos acético e propiônico entre as bebidas fermentadas de lichia.....	165
TABELA 4A	Resumo da análise de variância para os ésteres acetaldeído, acetato de etila e fenilacetato entre as bebidas fermentadas de lichia.....	165
TABELA 5A	Resumo da análise de variância para o álcool isoamílico, 1-hexanol e glicerol entre as bebidas fermentadas de lichia.....	166
TABELA 6A	Resumo da análise de variância para os álcoois 2,3-butanediol; 1,2-propanediol e 2-feniletanol entre as bebidas fermentadas de lichia.....	166
TABELA 7A	Resumo da análise de variância para o ácido isobutírico e o éster dietilsuccinato entre as bebidas fermentadas de lichia.....	167
TABELA 8A	Resumo da análise de variância para a aparência das bebidas fermentadas de lichia.....	167

TABELA 1A Resumo da análise de variância para os ácidos oxálico, tartárico e cítrico entre as bebidas fermentadas de lichia

Causas de variação	GL	Quadrados médios		
		Ác. oxálico	Ác. tartárico	Ác. cítrico
Levedura	3	0.000094*	0.257989	0.259404**
Erro	12	0.000020	0.001231	0.002853
Média geral		0.0047250	0.4194250	0.2305700
CV%		95.53	8.37	23.17

ns, \* e \*\* indicam valores de Teste de F não significativos, significativos a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 2A Resumo da análise de variância para os ácidos málico, láctico e succínico entre as bebidas fermentadas de lichia

Causas de variação	GL	Quadrados médios		
		Ác. málico	Ác. láctico	Ác. succínico
Levedura	3	68.911918**	30.085949**	5.880929**
Erro	12	0.818242	0.079388	0.722872
Média geral		4.7866300	2.0066450	8.0662950
CV%		18.90	14.04	10.54

ns, \* e \*\* indicam valores de Teste de F não significativos, significativos a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 3A Resumo da análise de variância para os ácidos acético e propiônico entre as bebidas fermentadas de lichia

Causas de variação	GL	Quadrados médios	
		Ác. acético	Ác. propiônico
Levedura	3	6.309594**	0.385439**
Erro	12	0.112678	0.019745
Média geral		2.9459850	0.8097850
CV%		11.39	17.35

ns, \* e \*\* indicam valores de Teste de F não significativos, significativos a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 4A Resumo da análise de variância para os ésteres acetaldeído, acetato de etila e fenil acetato entre as bebidas fermentadas de lichia

Causas de variação	GL	Quadrados médios		
		Acetaldeído	Acetato de etila	Fenilacetato
Levedura	3	955.026098**	53159.0412*	598.117114**
Erro	12	14.482555	11347.959097	38.189109
Média geral		72.6383062	244.8980250	35.0848750
CV%		5.24	43.50	17.61

ns, \* e \*\* indicam valores de Teste de F não significativos, significativos a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 5A Resumo da análise de variância para o álcool isoamílico, 1-hexanol e glicerol entre as bebidas fermentadas de lichia

Causas de variação	GL	Quadrados médios		
		Álcool isoamílico	1-hexanol	Glicerol
Levedura	3	945.117583**	15.872668**	87.235246**
Erro	12	16.316124	0.030280	2.488766
Média geral		60.9812063	2.6201562	14.8089494
CV%		6.62	6.64	10.65

ns, \* e \*\* indicam valores de Teste de F não significativos, significativos a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 6A Resumo da análise de variância para os álcoois 2,3-butanediol; 1,2-propanediol e 2-feniletanol entre as bebidas fermentadas de lichia

Causas de variação	GL	Quadrados médios		
		2,3-butanediol	1,2-propanediol	2-feniletanol
Levedura	3	39688.872102**	1425.191932ns	1941.815783*
Erro	12	476.508000	3773.542959	191.129920
Média geral		625.2038750	157.2940625	109.6668375
CV%		3.49	39.05	12.61

ns, \* e \*\* indicam valores de Teste de F não significativos, significativos a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 7A Resumo da análise de variância para o ácido isobutírico e o éster dietilsuccinato entre as bebidas fermentadas de lichia

Causas de variação	GL	Quadrados médios	
		Ácido isobutírico	Dietilsuccinato
Levedura	3	826.682664**	8671.429987**
Erro	12	2.860637	80.301616
Média geral		10.4518500	33.5986250
CV%		16.18	26.67

ns, \* e \*\* indicam valores de Teste de F não significativos, significativos a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 8A Resumo da análise de variância para a aparência das bebidas fermentadas de lichia

Causas de variação	GL	Quadrados médios			
		Aparência	Aroma	Sabor	Impressão global
Levedura	3	9.6600*	25.2000**	12.25833ns	11.373333*
Erro	196	1.982245	2.259592	2.801122	2.133673
Média geral		6.95	6.26	5.395	5.78
CV%		20.26	24.01	31.02	25.27

ns, \* e \*\* indicam valores de Teste de F não significativos, significativos a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

## ANEXO B

### FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL

Nome: \_\_\_\_\_ Sexo: ( )F ( )M

Data: \_\_\_\_\_

Faixa etária:

( ) 18- 25 ( ) 26 - 30 ( ) 31-35 ( ) 36-40 ( ) acima de 40 anos

Tem o hábito de tomar vinho? \_\_\_\_\_ Sim \_\_\_\_\_ Não

Frequência com que você consome vinho: ( ) mais de 2 vezes por semana

( ) 1 vez por semana ( ) 2 vezes por mês ( ) raramente

Avalie as amostras e indique, utilizando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou da aparência, do aroma, do sabor e do aspecto geral das amostras de vinho de lichia:

9 - gostei extremamente

8 - gostei muito

7 - gostei moderadamente

6 - gostei ligeiramente

5 - nem gostei/nem desgostei

4 - desgostei ligeiramente

3 - desgostei moderadamente

4 - desgostei ligeiramente

2 - desgostei muito

1 - desgostei extremamente

Nº da amostra	Nota Aparência	Nota Aroma	Nota Sabor	Nota Impressão global

Comentários/Sugestões: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_