

NATHÁLIA DE ANDRADE NEVES

**COMPOSTOS FITOQUÍMICOS E BIOATIVOS EM DIFERENTES
ESPÉCIES, EM LICOR E FERMENTADO DE JABUTICABA (*Plinia Jaboticada*
(DC) Berg).**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

N515c
2016
Neves, Nathália de Andrade, 1986-
Compostos fitoquímicos e bioativos em diferentes espécies,
licor e fermentado de jabuticaba / Nathália de Andrade Neves. –
Viçosa, MG, 2016.
x, 92f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Paulo César Stringheta.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Jabuticaba - Composição. 2. Jabuticaba - Licores.
3. Bebidas fermentadas. 4. *Myrciaria cauliflora*. 5. Antocianinas.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia
de Alimentos. Programa de Pós-graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos. II. Título.

CDD 22 ed. 664.80442

NATHÁLIA DE ANDRADE NEVES

**COMPOSTOS FITOQUÍMICOS E BIOATIVOS EM DIFERENTES
ESPÉCIES, EM LICOR E FERMENTADO DE JABUTICABA (*Plinia Jaboticada*
(DC) Berg).**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

APROVADA: 18 de novembro de 2016.

Adriana Corrêa Mendonça

Maria Helena Nasser Brumano

Isidro Herмосín Gutierrez
(Coorientador)

Monique Renon Eller
(Coorientadora)

Paulo César Stringheta
(Orientador)

“O começo de todas as ciências é o espanto de as coisas serem o que são”.

Aristóteles

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e à Universidade de Castilla La Mancha por me receberem como estudante.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de estudo.

À minha mãe, Maria Helena, ao meu pai, Saladim, ao meu irmão, Thiago e à minha nova família, meu marido Guto e minha filha Elis, pelo apoio, pela compreensão, pela confiança e pela eterna torcida. À minha mãe, minha sogra e cunhadas pelo carinho, apoio e a grande ajuda para cuidar da Elis.

Ao meu orientador Paulo César Stringheta por me receber como estudante e por todo o suporte para o planejamento, execução e finalização do trabalho. Ao meu orientador estrangeiro Isidro Hermosín Gutierrez, ao Sérgio Gomez Alonso e Estéban García Romero, por me receberem em seus laboratórios e pela valiosa contribuição com meu trabalho. À professora Monique pela ajuda como orientadora e demais membros da banca, pela disponibilidade e pelas contribuições ao trabalho. Ao professor Fred pela total disponibilidade e parceria. A todos os professores, técnicos e funcionários do DTA/UFV pelo trabalho e por tornarem a execução do trabalho possível.

Às produtoras da ASPRODEJAS pela contribuição com o trabalho e por me receberem de portas abertas.

Aos meus amigos por anos de amizade, alegrias, cumplicidade. Em especial às amigas Aninha, Mila, Isa e Rita, por dividirem os momentos bons e ruins dessa jornada. Aos queridos colegas do Laboratório por compartilharem seus conhecimentos, por toda a ajuda e cumplicidade diárias. Vocês tornaram os dias de trabalho muito mais prazerosos! Ju, Igor, Adriana, Tonye, Isadora, Dani, Kéllen, Jeferson, Elder, Mari, Thaís, Eliana, Luciana, Rita, Valério, Luíza, Maria Adelaide, todos vocês da equipe “competente e qualificada” que me ajudaram muito! A todos meus amigos de Viçosa e da Espanha, que tornaram a minha estadia por lá ainda mais prazerosa Lorena, María, Alberto, Miguel, Poliana, Daniel, Iasnaia, Flávio e Maurício, vocês me acolheram e me fizeram sentir em casa!

Muito Obrigada

SUMÁRIO

Resumo.....	vii
Abstract	ix
Introdução Geral.....	1
Referências bibliográficas	2
Capítulo I. Diagnóstico das características de produção e comercialização de produtos derivados da jabuticaba no município de Sabará- Minas Gerais.	4
1. Introdução	4
2. Material e métodos	6
3. Resultados e discussão	6
3.1. Aquisição da matéria-prima e comercialização dos produtos.....	6
3.2. Aspectos técnicos envolvendo a elaboração de licores e vinhos de jabuticaba .	8
4. Conclusões	10
5. Referências bibliográficas	11
Anexo I- Modelo do questionário aplicado aos associados da ASPRODEJAS	13
Capítulo II. Identificação e quantificação da composição fenólica de diferentes espécies de jabuticaba (<i>Plinia spp.</i>) POR HPLC-DAD-ESI/MS ⁿ	17
1. Introdução	17
2. Material e métodos	19
2.1. Reagentes	19
2.2. Aquisição e preparo das amostras	19
2.3. Análises espectrofotométricas.....	19
2.4. Análise dos compostos fenólicos por HPLC-DAD-ESI-MS ⁿ	20
2.5. Identificação e quantificação de taninos condensados por HPLC-ESI-MS/MS e MRM.....	22
2.6. Análises estatísticas.....	23
3. Resultados e discussão	23
3.1. Análises espectrofotométricas.....	23
3.2. Identificação e quantificação de antocianinas.....	25
3.3. Identificação e quantificação de compostos fenólicos não antociânicos	27
3.4. Taninos hidrolisáveis	35
3.5. Taninos condensados	37
4. Conclusões	38
5. Referências bibliográficas	39

Capítulo III. Produção e caracterização de fermentados alcoólicos e licores artesanais de jaboticaba (<i>Plinia jaboticaba</i>).....	43
1. Introdução	43
2. Material e métodos	45
2.1. Aquisição e tratamento da matéria-prima	45
2.2. Elaboração dos fermentados alcoólicos	45
2.3. Elaboração dos licores.....	46
2.4. Análise da cachaça e álcool de cereais.....	46
2.5. Caracterização dos produtos	46
2.5.1. pH.....	46
2.5.2. Compostos fenólicos totais	47
2.5.3. Antocianinas totais e polimerizadas.....	47
2.5.4. Açúcares	47
2.5.5. Teor alcoólico.....	47
2.5.6. Taninos	47
2.5.7. Capacidade antioxidante	47
2.5.8. Intensidade de cor, tonalidade e composição da cor	47
2.5.9. Análise das antocianinas monoméricas e ácido elágico por HPLC-DAD-ESI-MS ⁿ	48
2.6. Análise sensorial	50
2.7. Análise estatística.....	50
3. Resultados e discussão	50
3.1. Caracterização da cachaça e do álcool de cereais utilizados na elaboração dos licores	50
3.2. Caracterização química dos licores e fermentados alcoólicos	51
3.3. Teor de antocianinas monoméricas e ácido elágico	56
3.4. Aceitação das bebidas	58
4. Conclusões	59
5. Referências bibliográficas	60
Capítulo IV. Identificação dos compostos voláteis minoritários em fermentado alcoólico e licores de jaboticaba (<i>Plinia jaboticaba</i>) por CG/MS.....	63
1. Introdução	63
2. Material e métodos	64
2.1. Amostras	64
2.2. Preparo das amostras - extração em fase sólida.....	64

2.3. Análise dos compostos voláteis por CG/MS.....	65
3. Resultados e discussão	65
4. Conclusões	75
5. Referências bibliográficas	76
Capítulo V. Identificação dos aminoácidos e ácidos orgânicos em fermentados alcoólicos e licores de jaboticaba (<i>Plinia jaboticaba</i>) produzidos artesanalmente.....	79
1. Introdução	79
2. Material e métodos	81
2.1. Aquisição da matéria-prima	81
2.2. Determinação do conteúdo de glicerina, 2,3-butanodiol e ácidos cítrico, tartárico, succínico, láctico e acético por HPLC	81
2.3. Determinação dos aminoácidos, aminas biogênicas e íon amônia por HPLC	82
2.4. Análises estatísticas.....	83
3. Resultados e discussão	83
3.1. Ácidos orgânicos, glicerina e 2,3-butanodiol.....	83
3.2. Aminoácidos e aminas biogênicas	85
4. Conclusões	88
5. Referências bibliográficas	89
Conclusão Geral	92

RESUMO

NEVES, Nathália de Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2016. **Compostos fitoquímicos e bioativos em diferentes espécies, em licor e fermentado de jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (DC) Berg).** Orientador: Paulo César Stringheta. Coorientadores: Isidro Herмосín Gutierrez e Monique Renon Eller.

A jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (DC) Berg.) é conhecida como uma das mais ricas fontes brasileiras de antocianinas, além de possuir grandes quantidades de taninos e outros compostos fenólicos. O fruto é consumido basicamente in natura e, embora muito popular, seu consumo é restrito à safra anual e de curto período. Diversos produtos são elaborados a partir da jaboticaba, incluindo fermentados alcoólicos e licores. A cidade de Sabará é conhecida pela produção de jaboticaba e produtos derivados, que são elaborados artesanalmente e comercializados em um festival anual. São escassos os estudos em relação às bebidas alcoólicas derivadas de jaboticaba. Por outro lado, o entendimento das formas de obtenção e o estudo da composição química desses produtos pode auxiliar na melhoria de sua qualidade. O presente trabalho teve por objetivo a produção de fermentados alcoólicos e licores de jaboticaba e a caracterização dos compostos fenólicos, aminoácidos, ácidos orgânicos e compostos voláteis das bebidas obtidas. Foram produzidos três fermentados, utilizando os tempos de maceração de 24, 48 e 72 horas além de dois licores os quais foram elaborados a partir de cachaça e álcool de cereais. Objetivou-se, também, o estudo do modo de produção e comercialização desses produtos em Sabará e a caracterização fenólica de 4 diferentes espécies de jaboticaba, sendo de uma espécie, estudadas duas variedades. Foram identificados nas cascas das diferentes jaboticabas cinco tipos de antocianinas, com destaque para a cianidina-3-glicosídeo e delphinidina-3-glicosídeo, além de 49 compostos entre flavonóis derivados de quercetina e miricetina, além de derivados de ácido elágico e metilelágico. A castalagina e vescalagina foram os principais taninos nas polpas e sementes. Foi detectada a presença de catequina e galocatequina nas cascas, polpa e sementes de todas as espécies estudadas. A jaboticaba sabará apresentou maior concentração de antocianinas. A branca-vinho apresentou, por sua vez, maior teor de compostos fenólicos totais. Quanto ao estudo sobre as formas de produção de fermentados e licores em Sabará, notou-se grande variação no modo de preparo de um produtor para outro, além de falhas nas formas de produção e classificação das bebidas, resultando na falta de um padrão de qualidade condizente com a abrangência e importância econômica do festival. Em relação às bebidas, o fermentado alcoólico

produzido com 24 h de maceração apresentou qualidade química inferior aos demais fermentados devido à baixa concentração de fenólicos e à baixa capacidade de armazenamento. Os fermentados apresentaram maiores teores de antocianinas e ácidos orgânicos, sendo eles os ácidos málico, cítrico, succínico, láctico e acético. Os licores apresentaram maiores concentrações de aminoácidos e compostos fenólicos totais. A capacidade antioxidante dos fermentados e licores foi semelhante. Foram identificados 106 compostos voláteis minoritários entre as bebidas analisadas, com destaque especial para o licor obtido a partir da cachaça, que apresentou maior número de compostos, resultando em maior complexidade do aroma. As bebidas de jabuticaba, embora artesanais, mostraram qualidade química e segurança para o consumo, estando livres de contaminantes e substâncias consideradas nocivas. Este estudo abrangente sobre a composição de bebidas derivadas de jabuticaba pode auxiliar trabalhos futuros que objetivem a melhoria na qualidade desses tipos de bebidas.

ABSTRACT

NEVES, Nathália de Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, November, 2016. **Phytochemical and bioactive compounds in different species, liqueur and fermented beverage from jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (DC) Berg.).** Adviser: Paulo César Stringheta. Co-adviser: Isidro Herмосín Gutierrez and Monique Renon Eller.

The jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (DC) Berg.) is known as one of the richest Brazilian sources of anthocyanins, as well as having large amounts of tannins and other phenolics compounds. The fruit is consumed in natura and, although very popular, its use is restricted to the annual harvest. Several products are made from jaboticaba including liquors and alcoholic fermented beverages. The city of Sabará, in Minas Gerais state, Brazil, is known for producing jaboticaba and related products, which are made by hand and sold in an annual festival. There are few studies about alcoholic beverages from jaboticaba and it's necessary to improve those products quality. For that, it's also necessary understand about the productions ways and this influence in the beverages compositions. This work aimed the production of alcoholic fermented beverages and liquors from jaboticaba and the characterization of phenolic compounds, amino acids, organic acids and volatile compounds of those beverages. It was produced three alcoholics' fermented beverages, using the maceration times of 24, 48 and 72 hours and two liqueurs which were made from cachaça and cereals alcohol. The aim of this work also was the study of the mode of production and marketing of those products in Sabará as well the characterization of phenolic composition in four different species of jaboticaba, in wich one of then was carcterizated two varieties. Were identified in the jaboticaba's peels five different types of anthocyanins, especially cyanidin-3-glucoside and delphinidin-3-glucoside, and 49 compounds between flavonol derivatives of quercetin and myricetin and derivatives of ellagic acid and methyl ellagic acid. The castalagin and vescalagin were the main tannins in the pulp and seeds. Furthermore, it detected the presence of catechin and galocatechin in the peel, pulp and seeds for all species. The jaboticaba "sabará" showed higher concentration of anthocyanins and the "branca-vinho" showed higher content of phenolic compounds. The study of fermented beverages and liquours ways of production showed a great variation in the method of preparation from one producer to another, as well as failures in the forms of production and classification of those beverages, resulting in the absence of a quality standard. The fermented beverage produced with 24 h of maceration had inferior quality with low

concentration of phenolic compounds and low storage capacity. The fermented beverages had higher anthocyanins and organic acids concentrations, being malic, citric, succinic, lactic and acetic acids. Liqueurs showed higher concentrations of amino acids and phenolic compounds. The antioxidant capacity of fermented beverages and liquors was similar. Were identified 106 minority volatiles between the beverages analyzed, with particular attention to the liquor obtained from cachaça, with the highest number of compounds, resulting in greater complexity of aroma. The jabuticaba's alcoholic beverages, while handmade, showed chemical quality and safety for consumption, and is free of contaminants and substances considered harmful. This study about the composition of alcoholic beverages from jabuticaba may help future studies that aim to improve the quality of such products.

INTRODUÇÃO GERAL

A jabuticabeira (*Plinia jaboticaba* (DC) Berg.) é uma planta típica do cerrado brasileiro, cujos frutos são conhecidos como uma das mais ricas fontes brasileiras de antocianinas, além de possuir grandes quantidades de taninos e outros compostos fenólicos. Os frutos são do tipo baga, subgloboso, com cascas negras e extremamente finas, onde estão concentradas as antocianinas. São consumidos basicamente in natura e, embora muito populares, seu consumo é restrito à safra anual e de curto período, em razão da sua elevada perecibilidade (Leite-Legatti et al., 2012). Diversos produtos são obtidos a partir da jaboticaba, tais como doces, compotas, geleias, licores e fermentados alcoólicos, ocasionando a extensão do período de consumo para além da safra. Dentre os diversos produtos, a geleia e as bebidas alcoólicas possuem maior tempo de prateleira, podendo ser consumidos ao longo de todo o ano. Embora populares, os fermentados alcoólicos e licores de jaboticaba são produzidos de maneira artesanal, estando restritos a um mercado consumidor regional, mesmo possuindo um grande potencial de expansão do mercado.

A cidade de Sabará, no estado de Minas Gerais, é uma das mais importantes produtoras de jaboticabas e de seus produtos processados. Todos os anos, na época da safra, a cidade recebe um grande número de turistas que são atraídos pelo Festival da Jaboticaba. Devido à abundância do fruto na região e a grande tradição na elaboração dos produtos derivados, a cidade é uma referência no estado de Minas Gerais. A organização do festival e a elaboração das iguarias são realizadas por membros da Associação dos Produtores de Derivados de Jaboticaba de Sabará (ASPRODEJAS), que as elaboram de maneira artesanal e sem procedimentos operacionais padronizados.

Quando se trata de bebidas alcoólicas pouco usuais, o estudo das formas de obtenção e da composição química dos produtos obtidos é fundamental para a melhoria da qualidade das bebidas. Para fermentados alcoólicos de jaboticaba, embora alguns trabalhos tenham realizado a caracterização físico-química (Asquieri, Candido, Damiani & Assis, 2004; Asquieri, Damiani, Candido & Assis, 2004; Asquieri, Silva & Candido, 2009; Silva, Faria, Tonon, Mota & Pinto, 2008), não se tem conhecimento sobre a existência de pesquisas específicas sobre a sua composição química, sobretudo aminoácidos e compostos voláteis. Em relação aos licores, os estudos são ainda mais escassos.

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo o estudo da qualidade das bebidas alcoólicas de jaboticaba com informações sobre a composição da matéria-prima

e do produto, bem como conhecimento sobre as formas de processamento e comercialização. Sendo assim, o trabalho foi dividido em 5 capítulos:

Capítulo I- “Diagnóstico das características de produção e comercialização de produtos derivados de jaboticaba no município de Sabará- Minas Gerais”, no qual objetivou-se conhecer melhor a forma de elaboração dos produtos derivados de jaboticaba, com destaque especial para fermentados alcoólicos e licores.

Capítulo II- “Identificação e quantificação da composição fenólica de diferentes espécies de jaboticaba (*Plinia spp.*) por HPLC-DAD-ESI/MSⁿ”, no qual objetivou-se o estudo de diferentes espécies de jaboticaba quanto à composição fenólica, de forma a conhecer as diferenças entre as espécies e o potencial para a composição de fenólicos nas bebidas obtidas, uma vez que esses compostos são importantes em bebidas alcoólicas, sobretudo em relação ao sabor, capacidade antioxidante e equilíbrio químico e microbiológico das bebidas.

Capítulo III- “Produção e caracterização de fermentados alcoólicos e licores artesanais de jaboticaba (*Plinia jaboticaba*)”. Nesse capítulo, o objetivo foi produzir, em escala laboratorial, fermentados alcoólicos e licores de jaboticaba seguindo a forma de elaboração tradicionalmente empregada pelos produtores de Sabará. Foram elaborados três tipos de fermentados, empregando diferentes tempos de maceração e dois tipos de licores, com a utilização de álcool de cereais e cachaça. Com isso pretendeu-se conhecer o efeito desses tratamentos sob o perfil fenólico das bebidas, além da comparação entre os tipos de bebidas, de modo a entender qual delas, fermentado ou licor, tem o perfil fenólico mais interessante e de melhor aceitação dos consumidores.

Nos demais capítulos foi realizada a caracterização da composição química das bebidas obtidas, sendo eles: Capítulo IV- “Identificação dos compostos voláteis minoritários em fermentados alcoólicos e licores de jaboticaba por CG-MS” e Capítulo V- “Identificação dos aminoácidos e ácidos orgânicos em fermentados alcoólicos e licores de jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) produzidos artesanalmente”.

Referências Bibliográficas

- Asquiere, E. R., Candido, M. A., Damiani, C., Assis, E. M. (2004). Fabricación de vino blanco y tinto de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* Berg) utilizando la pulpa y la cáscara respectivamente. *Alimentaria*, 355, 97–109.
- Asquiere, E. R., Damiani, C., Candido, M. A., Assis, E. M. (2004). Vino de jaboticaba

- (*Myrciaria cauliflora* Berg): estudio de las características físico-químicas y sensoriales de los vinos tinto seco y dulce, fabricados com la fruta integral. *Alimentaria*, 355, 111–122.
- Asquieri, E. R., Silva, A. G. M., Cândido, M. A. (2009). Aguardente de jaboticaba obtida da casca e borra da fabricação de fermentado de jaboticaba. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 29 (4), 896–904.
- Leite-Legatti, A. V., Batista, A. G., Dragano, N. R. V., Marques, A. C., Malta, L. G., Riccio, M. F., Eberlin, M. N., Machado, A. R. T., Carvalho-Silva, L. B., Ruiz, A. L. T. G., CARvalho, J. E., Pastore, G. M., Morástica-Júnior, M . R. (2012). Jaboticaba peel : Antioxidant compounds , antiproliferative and antimutagenic activities. *Food Research International*, 49, 596–603.
- Silva, P. H. A., Faria, F. C., Tonon, B., Mota, S. J. D., Pinto, V. T. (2008). Avaliação da Composição Química de Fermentados Alcoólicos de Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*). *Quimica Nova*, 31(3), 595–600.

CAPÍTULO I. DIAGNÓSTICO DAS CARACTERÍSTICAS DE PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE PRODUTOS DERIVADOS DA JABUTICABA NO MUNICÍPIO DE SABARÁ- MINAS GERAIS.

Resumo

A jabuticaba e seus produtos derivados são tradicionais no município de Sabará-MG, atraindo milhares de turistas todos os anos na ocasião do Festival da Jabuticaba. Por ocasião deste evento, os produtores de derivados de jabuticaba, membros da Associação dos Produtores de Derivados de Jabuticaba de Sabará (ASPRODEJAS), produzem e comercializam diversas iguarias a partir da fruta. Objetivando conhecer as características desse sistema de produção e comercialização, foram aplicados questionários aos produtores desta associação para o entendimento dos aspectos socioeconômicos da atividade e os aspectos técnicos envolvendo a elaboração de fermentado alcoólico e de licor de jabuticaba. A partir da aplicação do questionário, pode-se concluir que a produção é de caráter artesanal e familiar, além de a comercialização ser informal. Dentre os diversos produtos elaborados, a geleia, o fermentado alcoólico e o licor são os mais populares e, por terem maior vida de prateleira, podem ser comercializados ao longo do ano enquanto que os demais produtos têm sua comercialização restrita ao festival. Quanto aos aspectos técnicos envolvendo a elaboração do fermentado alcoólico e licor, notou-se uma grande diversificação da forma de elaboração. Para a obtenção dos licores, a maioria dos produtores opta pela utilização da cachaça como fonte de etanol. Já para o fermentado alcoólico, as características mais marcantes são a obtenção de bebidas ditas como suaves, elaboradas a partir da fermentação espontânea e com a adição de cachaça. Foram apontados, ainda, alguns aspectos críticos na atividade e nas técnicas de elaboração dessas bebidas, e constatou-se a potencialidade do município para a ampliação e aperfeiçoamento da atividade.

1. Introdução

A cidade mineira de Sabará, localizada na zona metropolitana de Belo Horizonte, é considerada a cidade da jabuticaba, sendo que a espécie *Plinia jaboticaba* (DC) Berg. recebe o nome de “jabuticaba sabará” em homenagem ao município, onde é endêmica.

Segundo historiadores, a região compreendeu o primeiro povoamento do estado de Minas Gerais, que atraiu os bandeirantes paulistas em busca de ouro e pedras preciosas. O nome Sabará, segundo acredita-se, pode ter surgido da palavra Sabarabuçu, ou “pedra

grande e reluzente”, que compreende a lenda do Eldorado, ou montanhas de ouro, prata e pedras preciosas, histórias contadas pelos índios, que aguçavam a cobiça dos colonizadores. O fato é que a riqueza mineral da região atraiu os primeiros moradores e seus escravos que começaram a explorar minas de ouro (Delvaux, 2014).

A jabuticaba ou Iapoti Kaba, do Tupi-Guarani, que significa fruto em botão, é nativa da região e era consumida pelos índios desde tempos remotos. Com o povoamento da região, os colonizadores passaram a conhecer a fruta e aos poucos passaram a consumi-la. Acredita-se que seus primeiros derivados, como licores e doces de jabuticaba surgiram logo depois, devido à necessidade de conservação da fruta, que é muito perecível. A elaboração de geleias, licores, fermentados alcoólicos, compotas dentre outros é atualmente uma tradição no município, que tem sempre seu nome relacionado a esses produtos.

A jabuticaba é considerada o “ouro negro” sabarense, possuindo papel importante na economia local. Todos os anos milhares de turistas vão à cidade na época da safra, entre outubro e dezembro, sendo esse um dos principais atrativos turísticos do município. É comum que o turista alugue jabuticabeiras por um dia ou por algumas horas, consumindo o fruto in natura. O poder público é incentivador dessa tradição, fato evidenciado pela criação da lei municipal nº 146/82 de 1983 que oferece um desconto no IPTU para as propriedades que possuem jabuticabeiras, e pela criação, em 1987, do Festival de Jabuticaba de Sabará.

O festival acontece anualmente, também na época da safra e abrange a comercialização dos frutos in natura e de produtos processados, bem como da culinária com a jabuticaba como ingrediente. O festival é a data festiva mais importante da cidade, tendo alcançado um público recorde de 60 mil participantes no ano de 2014. A elaboração de produtos derivados é realizada por membros da ASPRODEJAS (Associação dos produtores de derivados de jabuticaba de Sabará), criada em 2008 com o intuito de organizar o festival, incentivar e regulamentar a participação dos produtores.

A ausência de dados oficiais acerca das formas de produção e comercialização dos produtos derivados de jabuticaba limita o conhecimento sobre o assunto e dificulta a criação de programas que promovam a capacitação e melhoria na qualidade dos produtos. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo o diagnóstico da elaboração e comercialização de produtos derivados de jabuticaba no município de Sabará.

2. Material e métodos

O diagnóstico da elaboração e comercialização de produtos derivados de jabuticaba no município de Sabará foi realizado mediante entrevistas e aplicação de questionários diretamente aos produtores associados à ASPRODEJAS.

As entrevistas foram realizadas em reunião ordinária da Associação com o objetivo de recolher relatos e informações que pudessem auxiliar na elaboração do questionário. O questionário (anexo), também aplicado em reunião ordinária, foi dividido em duas partes. A primeira parte constituiu de perguntas voltadas ao entendimento do volume de produção, tipos de produtos elaborados, forma de trabalho e motivação. A segunda parte foi constituída por questões técnicas sobre a elaboração de licores e fermentados alcoólicos de jabuticaba. Esses dois produtos foram escolhidos pela popularidade e por ser, dentre os derivados de jabuticaba, aqueles com menor perecibilidade, o que os tornam potencialmente os produtos mais indicados para a expansão do mercado consumidor. A elaboração das perguntas técnicas foi baseada na literatura sobre elaboração de bebidas alcoólicas de jabuticaba (Silva et al., 2008, Chiarelli et al., 2005, Asquieri et al., 1997).

Os dados obtidos foram analisados por meio de estatística descritiva simples.

3. Resultados e Discussão

A elaboração de produtos derivados de jabuticaba, por ocasião do festival, é realizada por cerca de 30 produtores cadastrados e associados à ASPRODEJAS, sendo constituído somente por mulheres. Dentre os membros associados, 18 estavam presentes no momento da reunião e participaram da pesquisa. Durante a entrevista às associadas, constatou-se que a Associação não possui apoio técnico para a elaboração de seus produtos. De carácter artesanal, os produtos não possuem nenhum tipo de padronização, sendo que cada produtora possui sua própria técnica, receita e rótulo.

3.1. Aquisição da matéria-prima e comercialização dos produtos

Toda a jabuticaba utilizada na elaboração dos produtos é proveniente da zona urbana e rural do município de Sabará, que corresponde também aos distritos pertencentes ao município, tais como Ravena, Pompeu, dentre outros.

Dentre as entrevistadas, 38,89% produzem 100% da jabuticaba utilizada na elaboração de seus produtos derivados. A maior parte dessa produção provem de até 5 jabuticabeiras, cultivadas nos quintais das próprias casas. Das entrevistadas que não produzem toda a jabuticaba utilizada, 33,33% complementam a sua produção, 27,77% adquirem toda a matéria-prima. Fora a produção própria, a jabuticaba utilizada é

adquirida diretamente do produtor (75%) no próprio município. O restante é recebido em forma de doação.

Em relação à quantidade da fruta utilizada na elaboração dos produtos, medida em litros, 16,66% das entrevistadas utilizam menos de 500 L da fruta, 27,77% utilizam entre 500 e 1.000 L, 11,11% utilizam entre 1.000 e 2.000 L e 44,44% utilizam mais de 3.000 L. A quantidade de fruta utilizada e, conseqüentemente, o volume de produtos elaborados, varia de acordo, principalmente, com a disponibilidade de mão-de-obra na época da safra. Segundo as entrevistadas, a maioria trabalha sozinha ou é ajudada por algum membro da família, sobretudo os filhos e, mais raramente, os maridos. A quantidade de pessoas contratadas é baixa, praticado somente por 11% das produtoras, que dispõem somente um ajudante.

A comercialização dos produtos ocorre principalmente na ocasião do festival, que é justamente a razão da existência da Associação. No entanto, 61,11% das entrevistadas declararam comercializar os produtos durante todo o ano, enquanto que 33,33% comercializam na época da safra e meses subsequentes. A comercialização é realizada principalmente no município de Sabará e região, sendo que a saída do produto para outros estados brasileiros ocorre esporadicamente e de maneira informal. A venda dos produtos ao longo de todo o ano depende do tempo de conservação de cada um deles, sendo que a geleia, o licor e o fermentado alcoólico são os mais vendidos nesse caso.

A motivação para a elaboração dos produtos é muito variada, sendo que, dentre as opções fornecidas (i) tradição de família, ii) oportunidade de utilizar a safra anual, iii) oportunidade de negócio, iv) complemento à renda familiar e v) forma de por em prática os conhecimentos culinários), houve certa homogeneidade na escolha por parte das participantes. Destas, 58,82% declararam que a atividade contribui em até 25% da renda, enquanto que, para 35,29% delas, a comercialização dos derivados de jabuticaba corresponde de 25 a 75% da renda anual da família. Todas as participantes declararam não receber qualquer assistência técnica na elaboração de seus produtos.

Dentre todos os produtos elaborados, os mais populares são a geleia e o licor, sendo que 100% das participantes os produzem. Em seguida está o fermentado alcoólico, elaborado por 88,89% das participantes e o molho agridoce e a cachaça curtida, por 83,33% das participantes. Dentre estes, somente o molho possui um período de validade mais curto, o que restringe sua comercialização. Além desses produtos, o bombom, doce em compota, suco e bolo recheado também são populares e comercializados exclusivamente na ocasião do festival. A preferência dos consumidores, baseada no volume de venda é pelos produtos: fermentado alcoólico, geleia e licor.

Segundo o relato dos produtores, notou-se grande motivação na elaboração e comercialização dos produtos. A boa aceitação dos consumidores e a competição entre os produtores, que são premiados em relação à melhor geleia, são os grandes incentivadores da produção, contribuindo para aguçar o interesse em aperfeiçoar e inovar cada vez mais. Mesmo sem o apoio público, os membros da Associação buscam fazer um festival cada vez mais bem elaborado e buscam investir, na medida do possível, na melhoria da qualidade da produção. Sendo assim, a intervenção de universidades ou outras instituições capacitadoras poderia ser realizada facilmente, com grande aceitação e abertura por parte da Associação. Nota-se ainda que a atividade tem grande potencial de crescimento no município de Sabará, tendo em vista a tradição e abrangência do festival. O investimento na melhoria da qualidade dos produtos, assim como, o investimento em selos de indicação geográfica e a saída da informalidade, podem fazer com que esses produtos alcancem o mercado nacional, trazendo retorno financeiro ainda maior para o município.

3.2. Aspectos técnicos envolvendo a elaboração de licores e vinhos de jabuticaba

O processo de produção de licores consiste na impregnação de um líquido, no qual está contido elevadas quantidades de etanol, pelos sólidos solúveis contidos na matéria-prima utilizada, no caso, o fruto de jabuticaba, acrescido de açúcar também em elevadas quantidades (Lima, 2009). As matérias-primas tradicionalmente utilizadas na elaboração dos licores são cachaça, álcool de cereais, vodca, conhaque e uísque, sendo que o álcool de cereais e a vodca são os mais empregados em licores comerciais (Teixeira et al., 2011). Segundo as recomendações técnicas, na elaboração de licores artesanais é preferível a utilização de fontes de álcool neutras, como o álcool de cereais, por ser refinado e sem odor, o que permite realçar o aroma e sabor da fruta. A aguardente, apesar de extrair os aromas da matéria-prima, afeta o buquê com os componentes secundários que não são eliminados na destilação em alambique, além de ser passível de conter contaminantes tais como metanol e metais pesados provenientes do processo de destilação (EMATER, 2013; Lima 2009). Os licores artesanais produzidos em Sabará pelas participantes do questionário são majoritariamente elaborados a partir da cachaça (58,82%), enquanto que 29,41% utilizam o álcool de cereais e 11,76% utilizam os dois, em produções separadas.

Outra variação encontrada é em relação à forma com a qual a fruta é posta em contato com o etanol. A opção por utilizar frutas inteiras foi escolhida por 35,29% das participantes, enquanto que 64,71% optaram pela fruta esmagada. Quanto ao tempo de

infusão, ou o tempo em que a fruta permanece em contato com o etanol, as opções foram bem variadas, sendo que o menor tempo assinalado foi de 15 dias, o maior foi de 90 dias e a média encontrada foi de 35 dias.

Os fermentados alcoólicos produzidos são majoritariamente tintos e suaves. A legislação brasileira para fermentado alcoólico de frutas (Brasil, 2009) não regulamenta esse tipo de classificação, que é exclusiva para vinhos. Entretanto, a legislação de vinhos (Brasil, 1988) é utilizada por alguns autores para avaliar a qualidade química dos fermentados alcoólicos de frutas (Torres Neto et al., 2006; Silva et al., 2008). No caso dos fermentados alcoólicos de jabuticaba, a classificação como bebida tinta indica que elas são elaboradas mantendo-se as cascas junto ao mosto de fermentação, resultando na transferência da sua matéria corante para o fermentado (Asquieri et al., 1997). A classificação como bebida suave indica que a quantidade de açúcares final é elevada, acima de 25 g/L. Embora todos os participantes tenham escolhido essa opção, sabe-se que foi de modo empírico, uma vez que não existe controle sobre a quantidade de açúcar residual ao processo fermentativo, tampouco são realizadas análises nos produtos finais.

A polpa de jabuticaba possui cerca de 9,4% de açúcares, o que não é suficiente para resultar em bebidas suaves após o processo de fermentação (Asquieri et al., 1997). Sendo assim, a prática de chaptalização, ou o acréscimo de sacarose ao mosto fermentativo, é recorrente na elaboração de fermentados alcoólicos de jabuticaba e realizada por todos os produtores. Essa prática, que é permitida para fermentados de frutas, é menos recorrente em vinhos, podendo ocasionar em perdas sensoriais, aumento da densidade e do conteúdo de extrato seco, sendo considerada uma fraude na elaboração de vinhos finos (Castilhos et al., 2013; Perini et al., 2014).

Em todos os questionários aplicados foi constatado que a fermentação ocorre de maneira espontânea, com os microrganismos naturalmente presentes nas cascas da jabuticaba e tonéis de fermentação. A fermentação espontânea pode ser desejável por aumentar a diversidade de metabólitos secundários na bebida, os quais podem contribuir positivamente para os aspectos sensoriais das bebidas alcoólicas, sobretudo nos vinhos. No entanto, esse tipo de fermentação pode ocasionar no retardamento do processo fermentativo devido ao número inferior de microrganismos iniciais, além de possibilitar a competição e facilitar o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis (Spitaels et al., 2015). Como não existe controle sob o processo fermentativo, não se sabe ao certo a sua duração. Cada produtor mantém o sistema contendo a fruta esmagada, açúcar, cachaça e às vezes água, em um sistema fechado durante intervalos de tempo variados.

O tempo mínimo assinalado para o processo foi de 8 dias e o máximo de 90, obtendo-se uma média de 30 dias.

Outro aspecto detectado em todos os questionários foi a ausência de conservantes. Alguns produtores (75%) têm a prática de acrescentar cachaça aos fermentados alcoólicos de jabuticaba, no início do processo de fermentação. O acréscimo de cachaça justificaria a ausência de conservantes ou outros métodos de preservação, uma vez que aumenta o teor alcoólico das bebidas e dificulta a proliferação bacteriana, fazendo com que o produto possa ser comercializado e consumido durante todo o ano. O acréscimo de cachaça ou outra fonte de álcool em fermentados alcoólico de fruta é permitido, desde que a bebida seja classificada como fermentado de fruta licoroso e possua graduação alcoólica de “quatorze a dezoito por cento em volume, a vinte graus Celsius” (Brasil, 2009). Dessa forma, para a comercialização é necessário se fazer uma reclassificação das bebidas elaboradas. No entanto, o teor alcoólico das bebidas também é uma incógnita, uma vez que não existe o controle do processo ou análises posteriores que verifiquem a quantidade de etanol, não havendo segurança para a classificação dos produtos, o que reforça a necessidade de análises posteriores, no produto final.

4. Conclusões

A jabuticaba e seus produtos derivados têm papel importante na economia e aspectos sociais do município de Sabará, especialmente para as produtoras associadas à ASPRODEJAS. No entanto, a atividade ainda é informal, tendo em vista o modo de produção e comercialização. Tal fato indica a necessidade de intervenção do poder público no preparo e na capacitação das produtoras, além da formalização da atividade no município.

Quanto aos aspectos técnicos envolvendo a elaboração dos produtos, especialmente do licor e fermentado de jabuticaba, pode-se perceber que faltam informações básicas, que vão desde os conceitos e questões legais dos produtos até técnicas de produção e aspectos de qualidade das bebidas.

A capacitação técnica dos produtores pode contribuir para a qualidade química, microbiológica e sensorial dos produtos derivados de jabuticaba. Essa melhoria na qualidade é atualmente um fator crítico devido à tradição e abrangência do festival. A capacitação poderia ocasionar na saída da informalidade, inserção dos produtos em novos mercados e até mesmo na criação de produtos com uma identidade atrelada ao município, o que poderia culminar na obtenção do selo de indicação geográfica.

Mesmo considerando todos os aspectos críticos apontados, é inquestionável o potencial do município na elaboração e comercialização do fruto de jabuticaba in natura e seus produtos processados. Esse potencial se deve, sobretudo, à tradição e ao nome do município, sempre atrelado ao fruto. Dessa forma, estudos que visem o conhecimento dos aspectos de qualidade dos produtos de jabuticaba são de fundamental importância para a tecnificação e profissionalização da produção de derivados de jabuticaba no município.

5. Referências Bibliográficas

- Asquiere, E. A; Candido, M. A; Damiani, C; Assis, E. M. (1997) Fabricacion de vino Blanco y tinto de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba* Berg) utilizando la pulpa y cascara respectivamente. *Alimentaria*, v.4, p. 97-109.
- Brasil (2009). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº6.871 de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Disponível em <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em 20/09/2013.
- Brasil (1988) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº229, de 25 de outubro de 1988. Aprova as normas referentes a complementação dos padrões de identidade e qualidade do vinho. Disponível em <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>> Acesso em 17/09/2015.
- Castillhos, M. B, M., Cattelan, M. G., Conti-Silva, A. C., Bianchi, V. L. D. (2013) Influence of two different vinification procedures on the physicochemical and sensory properties of Brazilian non-*Vitis vinifera* red wines. *Food Science and Technology*, 54, p; 360-366.
- Chiarelli, R. H. C., Nogueira, A. M. P., Venturini-Filho, W. G. (2005). Fermentados de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg): processos de produção, características físico-químicas e rendimento. *Brazilian Journal of Food Technology*, 8(4), 277–282.
- Delvaux, M. M. (2014) Fontes de Mitos: Sem conhecer o interior da Colônia, exploradores recorriam à imaginação. O que os olhos não veem, os cartógrafos desenham. *Revista de historia.com.br*, disponível em <<http://www.revistadehistoria.com.br/secao/artigos-revista/fontes-de-mitos>> Acesso em 17/09/2015.
- EMATER (2013) Agroindústria: Processamento Artesanal de Frutas- Licor. Disponível em <<http://www.emater.mg.gov.br/doc%5Csite%5Cserevicoseprodutos%5Clivraria%5>

CAgroind% C3% BASTria% 5CProcessamento% 20Artesanal% 20de% 20Frutas% 20-
% 20Licor.pdf Acesso em 26/11/2013.

Lima, U. A., Licores: in Bebidas Alcoólicas, Ciência e Tecnologia. Waldemar Gastoni Venturini Filho, São Paulo: Blucher, 2009.

Perini, M., Guzzon, R., Simini, M., Malacarne, M., Larcher, R., Camim, F. (2014) The effect of stopping alcoholic fermentation on the variability of H, C and O stable isotope ratios of ethanol. Food Control, 4, p. 368-373.

Prefeitura Municipal de Sabará (2015). Sabará. Disponível em <
<http://www.sabara.mg.gov.br/portal/index.php/2014-12-03-18-48-15>>. Acesso em 17/09/2015.

Silva, P. H. A., Faria, F. C., Tonon, B., Mota, S. J. D., Pinto, V. T. (2008) Avaliação da Composição Química de Fermentados Alcoólicos de Jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). Química Nova, v.31, n.3, p;595-600.

Spitaels, F., Wieme, A. D., Janssens, M., Aerts, M., Landschoot, A. V., Vuyst, L., Vandamme, P. (2015) The microbial diversity of an industrially produced lambic beer shares members of a traditionally produced one and reveals a core microbiota for lambic beer fermentation. Food Microbiology, 49, p. 23-32.

Teixeira, L. J. Q., Simões, L. S., Rocha, C. T., Saraiva, S. H., Junqueira, M. S. Tecnologia, Composição e Processamento de Licores. Enciclopédia Biosfera, v. 7, p. 1-17, 2011.

Torres-Neto, A. B., Silva, M. E., Silva, W. B., Swarnakar, R., Silva, F. L. H. (2006) Cinética e Caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). Química Nova, v. 29, n 3, p. 489-492.

**ANEXO I- MODELO DO QUESTIONÁRIO APLICADO AOS ASSOCIADOS
DA ASPRODEJAS**

Diagnóstico das Características de Produção e Comercialização de Produtos derivados da jabuticaba no município de Sabará-MG.

Esta pesquisa é parte de um projeto desenvolvido por uma equipe de pesquisadores da Universidade Federal de Viçosa (UFV), coordenada pelo prof. Paulo César Stringheta, com o objetivo de compreender a situação da produção e comercialização de produtos derivados da jabuticaba, sobretudo licores e vinhos, no município de Sabará, entendido como o principal e o mais tradicional produtor da fruta no país.

Responder a este questionário não demorará mais do que 15 minutos. Não é necessário que você se identifique e sua participação é voluntária. A qualquer momento, você poderá interromper o preenchimento do questionário, se assim desejar.

Os dados que você irá nos fornecer serão confidenciais e serão divulgados apenas em congressos ou publicações científicas, não havendo divulgação de nenhum dado que possa lhe identificar.

Desde já agradecemos a sua participação!

1. Você é produtor de jabuticaba ou adquire a fruta de outras pessoas para a elaboração dos produtos?

- produzo 100% da jabuticaba que utilizo
- produzo cerca de 75% da jabuticaba que utilizo
- produzo cerca de 50% da jabuticaba que utilizo
- produzo cerca de 25% da jabuticaba que utilizo
- não produzo jabuticaba

2. Caso você não produza 100% da jabuticaba que utiliza, qual é a forma de aquisição do fruto?

- Compra diretamente do produtor
- Compra de algum atravessador
- Doação
- Consignação

3. Caso você não produza 100% da jabuticaba que utiliza, qual a procedência do fruto adquirido?

- Área urbana da cidade de Sabará
- Zona rural pertencente ao município de Sabará
- Municípios vizinhos a Sabará. Especifique: _____
- Outro: _____

4. Caso seja produtor, onde as jabuticabeiras são cultivadas?
- Quintal da própria casa
 - Lote/ área arrendada
 - Propriedade rural
 - Outro: _____
5. Caso seja produtor, quantos pés de jabuticaba você possui (em unidades)
- menos de 5
 - entre 5 e 10
 - entre 10 e 15
 - entre 15 e 20
 - mais de 20
6. Quantos litros de jabuticaba você utiliza para na produção anual?
- Menos de 500 L
 - Entre 500 e 1.000L
 - Entre 1.000 e 2.000L
 - Entre 2.000 e 3.000L
 - Mais de 3.000L
7. Quanto a jabuticaba e seus produtos derivados contribuem para a renda anual da sua família?
- Até 25% da renda familiar
 - 25 a 50% da renda familiar
 - 50 a 75% da renda familiar
 - 100% da renda familiar
8. Quais são as pessoas envolvidas no processo de obtenção dos frutos e derivados?
- só você
 - você e sua família
 - você e algum amigo (sócio)
 - você e alguma(s) pessoa(s) contratada(s) para o serviço.
- No caso dessa opção, especificar a quantidade de pessoas contratadas _____
9. Você recebe o apoio de algum tipo de assistência técnica na elaboração e comercialização dos produtos?
- Não Sim. Especifique _____
10. A comercialização dos seus produtos derivados de jabuticaba ocorre:
- somente no município de Sabará
 - no município de Sabará e região
 - em outras regiões do estado de Minas Gerais
 - Em todo o estado de Minas Gerais
 - Em outros estados brasileiros

11. Em qual época do ano ocorre a comercialização dos produtos derivados de jabuticaba?

- somente por ocasião do festival da jabuticaba em Sabará
- somente na época da safra
- durante a época da safra e meses subsequentes
- durante todo o ano

12. O que te motivou a ser um produtor de derivados de jabuticaba? Assinalar uma ou mais opções.

- uma tradição de família
- uma oportunidade de utilizar a safra anual de jabuticaba
- uma boa oportunidade de negócio
- uma forma de complementar a renda da família
- uma forma de por em prática os conhecimentos culinários

13. Quais são os produtos que você costuma elaborar e comercializar a partir da jabuticaba?

- vinho de jabuticaba compota cachaça com jabuticaba
- geleia sorvete cachaça de jabuticaba
- Licor Picolé suco
- bombom molho bolo
- outros. Especifique _____

14. Onde você aprendeu a elaborar esses produtos?

- Com meus antepassados (pais, avós, etc)
- Aprendeu sozinho, experimentando
- Aprendeu através de algum conhecido
- Aprendeu em cursos ou outro tipo de assistência técnica
- Outros. Especifique _____

15. Dentre os produtos elaborados por você, qual (ou quais) é aquele preferido pelo consumidor (o mais procurado)? _____

As perguntas a seguir, são relacionadas à elaboração de vinhos e licores, especificamente, caso você não produza nenhum deles, não é necessário que responda a essas perguntas.

16. Em relação ao processo de obtenção de licores, quais são as técnicas empregadas?

a) Fonte de álcool:

- cachaça álcool de cereais vodca outra _____

b) Forma de utilização da fruta? fruta inteira fruta esmagada

c) Tempo de contato das frutas com o álcool? _____

d) Forma de adição do açúcar

Desde de o início do processo Só depois da retirada da fruta, após o fim do tempo de contato das frutas com o álcool

e) Forma de adição do açúcar

Puro, em cristais Dissolvidos em água Dissolvido em suco de jabuticaba

f) Existe algum controle da quantidade de álcool nas bebidas? sim não

g) É adicionado algum outro ingrediente no seu licor?

Sim. Qual? _____ não

17. Em relação ao processo de obtenção de vinhos de jabuticaba, quais são as técnicas empregadas?

a) O vinho produzido por você é :

Quanto à cor

tinto rosé branco não sei responder

Quanto ao teor de açúcares:

seco meio seco suave não sei responder

b) O processo de fermentação ocorre:

através da inoculação de fermento fermentação espontânea

c) Ocorre a adição de açúcar? Sim Não

d) Ocorre a adição de água? Sim Não

e) Ocorre a adição de cachaça? Sim Não

f) Em quanto tempo ocorre a fermentação? _____

g) Ocorre adição de açúcar após a fermentação? sim não

h) E utilizado algum tipo de conservante? sim não

i) Existe algum controle em relação à quantidade de álcool contido no vinho?

Sim Não

Sexo: Feminino Masculino

Idade:

Até 29 anos

30 a 39 anos

40 a 49 anos

50 a 59 anos

60 a 69 anos

Acima de 70 anos

Escolaridade:

Ensino fundamental incompleto

Ensino fundamental completo

Ensino médio incompleto

Ensino médio completo

Ensino superior incompleto

Ensino superior completo

Pós-graduação

Obrigada pela sua participação!

CAPÍTULO II. IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FENÓLICA DE DIFERENTES ESPÉCIES DE JABUTICABA (PLINIA SPP.) POR HPLC-DAD-ESI/MS^N.

Resumo

A jabuticabeira, árvore frutífera tipicamente brasileira, vem sendo largamente estudada, sobretudo em relação à sua composição fenólica e capacidade antioxidante. Embora existam diversas espécies, as pesquisas concentram-se em duas principais, a sabará e a paulista, devido à maior dispersão dessas. Esse trabalho teve por objetivo o estudo da composição fenólica e capacidade antioxidante de 4 diferentes espécies de jabuticaba, sendo que, para uma das espécies foram estudadas duas variedades. As jabuticabas apresentaram em suas cascas as antocianinas delphinidina-3-glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo, já descritas anteriormente para jabuticabas, além de pelargonidina-3-glicosídeo e cianidina-3-cumarilglicosídeo, que não haviam sido descritas no fruto até então. A espécie *Plinia phitrantha* (jabuticaba branca-vinho), que possui cascas verdes, não possui concentrações significativas de antocianinas. Nas cascas dos frutos foram detectados flavonóis derivados de quercetina e miricetina e grande variedade de compostos derivados de ácido elágico e ácido metilelágico. Tais derivados foram encontrados nas formas aciladas, até então não descritas para jabuticabas. Nas polpas e sementes foram detectados majoritariamente os elagitaninos vescalagina e castalagina, além dos ácidos gálico e elágico. As cascas, polpa e sementes apresentaram ainda baixas concentrações de catequina e galocatequina. Quantitativamente, a jabuticaba sabará mostrou-se com concentrações mais altas de antocianinas e a jabuticaba branca-vinho se destacou pela maior quantidade de elagitaninos e flavan-3-ols em suas polpas e sementes. A jabuticaba sabará possui também maiores concentrações de flavonóis derivados de miricetina. Qualitativamente, as duas variedades da espécie *P. cauliflora*, canã-açu e paulista, possuem a maior variedades de compostos derivados de ácido elágico e metilelágico.

1. Introdução

A jabuticabeira (*Plinia* sp.) é uma árvore frutífera pertencente à família Myrtaceae, que compreende mais de 3.000 espécies. É uma planta tipicamente brasileira, ocorrendo em grande parte do território nacional, embora a maior produção ocorra nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo (Ascheri, Ascheri & Carvalho, 2006). Anteriormente, essas árvores eram classificadas no gênero *Myrciaria*, proposto

por Berg em 1857. No entanto, houve uma mudança nessa classificação, proposta por Sobral, em 1985. Segundo este autor, sementes com cotilédones separados, como na jaboticaba, ocorrem com frequência no gênero *Plinia*, mas é raro em *Myrciaria* que, na maioria das vezes, possui cotilédones soldados. Além disso, inflorescências congestas e caulifloras, como ocorrem nas jaboticabeiras, são características do gênero *Plinia*. Embora tenha havido essa reclassificação, o termo *Myrciaria* é ainda utilizado para as jaboticabas, sendo largamente empregado no meio científico e considerado um sinônimo do gênero *Plinia* (Danner et al., 2007).

São conhecidas nove espécies de jaboticabeiras, sendo que algumas delas possuem mais de uma variedade. Uma dessas espécies é considerada extinta, cinco são encontradas apenas em alguns sítios de pesquisa e bancos de germoplasma e três possuem dispersão natural e em cultivos no Brasil (Citadin, Danner & Sasso, 2010). As espécies cultivadas são: *P. trunciflora* (Berg) Mattos (jaboticaba de cabinho), *P. cauliflora* (DC.) Berg (jaboticaba-paulista, ponhema ou açu) e *P. jaboticaba* (Vell.) Berg (jaboticaba-sabará, cascuda, pingo-de-mel e rajada). As demais espécies conhecidas são *P. aureana* Mattos (jaboticaba-branca), *P. coronata* Mattos (jaboticaba-coroada ou jaboticaba-de-coroa), *P. grandifolia* Mattos (jaboticabatuba, jaboticaba-graúda), *P. oblongata* Mattos (jaboticaba-azeda, jaboticaba-ácida) e *P. phitrantha* (Kiaersk) Mattos (jaboticaba-costada, jaboticaba-branca-vinho) (Lorenzi, Bacher, Lacerda & Sartori, 2006).

A espécie *P. jaboticaba* (sabará) é a mais popular, também a mais cultivada no país, seguida pela jaboticaba paulista, *P. cauliflora*. A *P. phitrantha* (jaboticaba branca-vinho) é ocasionalmente cultivada em pomares domésticos, sendo pouco conhecida e, ao contrário das demais espécies, os frutos dessa jaboticaba possuem cascas verdes.

Recentes estudos destacam o potencial da jaboticaba para a indústria farmacêutica e de alimentos em razão de sua elevada capacidade antioxidante, decorrente da presença de diversos compostos fenólicos, sobretudo antocianinas e outros flavonóides, galotaninos e elagitaninos (Leite-Legatti et al., 2012; Wu et al., 2013). Até o momento já foram identificados trinta e dois compostos fenólicos em frutos de jaboticaba, com destaque especial para as antocianinas cianidina-3-glicosídeo e delfinidina-3-glicosídeo, ácido elágico e ácido gálico (Alejandro, Dubé, Desjardins, Lajolo & Genovese, 2013). Entretanto, esses estudos são restritos quase unicamente às espécies sabará e paulista. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo a caracterização do perfil fenólico de 4 diferentes espécies de jaboticaba (*P. trunciflora*, *P. cauliflora*, *P. jaboticaba*, *P.*

phitrantha) sendo que da espécie *P. cauliflora* foram estudadas as variedades paulista e canaã-Açu.

2. Material e métodos

2.1. Reagentes

Todos os solventes utilizados foram em grau HPLC, os reagentes em grau analítico (>99%) e água ultrapura (Mili-Q). Para a identificação dos compostos fenólicos foram utilizados os seguintes padrões comerciais da Phytolab (Vestenbergsgreuth, Alemanha): malvidina 3-glucoside e (-)-galocatequina. Foram utilizados os seguintes padrões comerciais da Extrasynthese (Genay, França): cianidina-3-glicosídeo, quercetina, miricetina e quercetina- 3-glicosídeo, além dos seguintes padrões comerciais da Sigma Aldrich (Tres Cantos, Madrid, Espanha) (+)-catequina e (-)-galocatequina 3-gallato. Foram utilizados também padrões não-comerciais: miricetina- 3-glicosídeo e quercetina 3-glucuronideo, previamente isolados de cascas da uva Petit Verdot.

2.2. Aquisição e preparo das amostras

Os frutos de jabuticaba foram colhidos em novembro de 2013 no pomar do Setor de Fruticultura do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa - Minas Gerais. Todas as espécies foram cultivadas sob as mesmas condições de solo, clima e tratamentos culturais e apresentavam o máximo grau de maturação. Os frutos foram submetidos à separação manual de suas partes constituintes: cascas, sementes e polpa. Cada fração desses frutos foi liofilizada, embalada a vácuo e armazenada até o momento da análise.

Os extratos das partes constituintes do fruto (cascas, polpa e sementes) foram obtidos utilizando-se solução de água:metanol:ácido fórmico (48,5:50:1,5 v/v/v). Foram utilizados 250 mg de amostra seca para 25 mL de solução extratora os quais foram mantidos em ultrassom por 3 minutos com 80% de amplitude. Após a extração, o sobrenadante foi recuperado e a amostra submetida a uma re-extração com mais 25 mL de solução, sendo realizado um total de três extrações sequenciais.

2.3. Análises espectrofotométricas

Os extratos obtidos das frações dos frutos de jabuticaba foram analisados quantitativamente quanto aos teores de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e polimerizadas, taninos totais e capacidade antioxidante.

Os teores de compostos fenólicos totais foram estimados por meio do método de Folin-Ciocalteu (Ough & Amerine, 1988). A quantificação foi feita utilizando curvas de calibração tendo o ácido gálico como padrão.

As concentrações de antocianinas totais e polimerizadas foram determinadas pelo método de descoloração por dióxido de enxofre (Ribéreau-Gayon & Stonestreet, 1965). A quantificação foi realizada utilizando-se curva de calibração com o padrão de cianidina-3-glicosídeo.

A capacidade antioxidante foi determinada pelo método de captura de radicais DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil) (Brand-Williams, Cuvelier & Berset, 1995). Os resultados foram expressos em equivalentes de μmol Trolox por 100 gramas de fruto.

Os teores de taninos totais foram determinados pelo método de reação com ácido clorídrico, conforme descrito por Bate-Smith (Glories, 1984).

2.4. Análise dos compostos fenólicos por HPLC-DAD-ESI-MSⁿ

Preparo dos extratos

Para minimizar a interferência das antocianinas nas análises dos demais compostos fenólicos, os extratos das cascas das jabuticabas foram previamente purificados por meio de extração em fase sólida, segundo a metodologia descrita por Castillo-Munõz, Gómez-Alonso, García-Romero & Hermosín-Gutiérrez (2007). Os extratos foram passados em coluna (Bond Elute Plexa PCX, Agilent[®]) com 6 cm³ de capacidade e recheio de 500 mg de material absorvente. A fração recolhida foi evaporada em rotavapor (35 °C), ressuspensa em 1,5 mL de metanol (20% v/v) e diretamente injetada no sistema de HPLC.

Para a análise dos taninos hidrolisáveis, 3 mL da amostra dos extratos foram primeiramente evaporados em rota-vapor e redissolvidos em 2 mL de ácido acético 2,5% (v/v). As amostras obtidas foram então passadas por cartucho de Sephadex LH-20 (capacidade de 6 mL) (Sigma Aldrich, San Luis, MO, USA). Os cartuchos foram preparados manualmente suspendendo em metanol a resina durante 24 h, seguido da recarga dos cartuchos até a metade de sua capacidade, realizando assim a compactação da resina primeiramente pela passagem do metanol no qual está suspenso e depois pela passagem de água, conforme metodologia descrita previamente (Navarro et al., 2016). Após a passagem das amostras, as colunas foram lavadas com 2 mL de água, 2 mL de etanol 96% (v/v) e 1 mL de metanol. Foram passados então 10 mL de metanol, seguidos de 10 mL de acetato de etila, que foram recolhidos em balão e levados à evaporação em rota-vapor. Após a evaporação, a fração contendo os taninos

hidrolisáveis foi redissolvida em 1,5 mL da solução de ácido fórmico 0,4% (v/v) em água e diretamente injetados no sistema de HPLC.

Análise por HPLC

A separação, identificação e quantificação dos compostos fenólicos das amostras foram realizadas pelo sistema de HPLC Agilent 1100 Series (Agilent, Alemanha), equipado com detectores do tipo DAD (G1315B) e LC/MSD Trap VL (G2445 VL) além de sistema de ionização e espectroscopia de massa (ESI-MSⁿ), acoplados ao sistema de processamento de dados Agilent ChemStation (versão B.01.03). Os dados do espectrômetro de massas foram processados pelo software Agilent LC/MS Trap software (versão 5.3).

As antocianinas e compostos fenólicos não antociânicos foram analisados segundo metodologia descrita por Lago-Vanzela, Da-Silva, Gomes, García-Romero & Hermosín-Gutierrez (2011). Para a análise de antocianinas foram utilizados 20 µL dos extratos das partes dos frutos após diluição de 1:1 em HCl 0.1 N. Para a análise dos compostos fenólicos não antociânicos foram utilizados 20 µL dos extratos previamente purificados. Essa alíquota foi diretamente injetada em coluna de fase reversa, Zorbax Eclipse XDB-C18 (2.1 X 150 mm; 3,5 µm partícula; Agilent, Germany), termoestabilizada a 40 °C. A vazão utilizada foi de 0,19 mL/min e os solventes foram: solvente A: acetonitrila/água/ácido fórmico (3:88,5:8,5 v/v/v), solvente B: acetonitrila/água/ácido fórmico (50:41,5:8,5, v/v/v) e solvente C: metanol/água/ácido fórmico (90:1,5:8,5, v/v/v). O gradiente de eluição dos solventes para a análise das antocianinas foi: zero min (97% A e 3% B), 20 min (72% A e 28% B), 34 min (57% A e 43% B), 36 min (100% B), 42 min (100% B), 45 min (97% A e 3% B). O gradiente de eluição dos solventes para a análise dos compostos fenólicos não antociânicos foi: 0 min (98% A e 2% B), 8 min (96% A e 4% B), 37 min (70% A, 17% B e 13% C), 51 min (50% A, 30% B e 20% C), 51,5 min (30% A, 40% B e 30% C), 56 min (50% B e 50% C), 57 min (50% B e 50% C), 64 min (98% A e 2% B).

Para a identificação, o sistema ESI/MS-MS foi utilizado nos modos positivo e negativo de ionização, para as antocianinas e compostos não-antociânicos, respectivamente. O sistema operou nas seguintes condições: gás de secagem N₂ com fluxo de 8 L/m e temperatura de secagem de 325 °C, nebulização com N₂ a 50 psi. Os parâmetros de fragmentação foram otimizados com a inserção direta de soluções padrão de malvidina-3,5-diglicosídeo para a ionização positiva e quercetina-3-glicosídeo para a negativa, utilizando o intervalo de varredura de 50-1200 m/z. A identificação foi

baseada nos dados espectroscópicos (UV-Vis e MS/MS) comparados com padrões autênticos e dados previamente reportados.

Para a quantificação, foram utilizados os dados obtidos pelo cromatograma DAD a 520 nm para antocianinas e 360 nm para flavonóis e derivados de ácido elágico. Nos casos em que houve sobreposição dos picos, a quantificação foi realizada com base nos cromatogramas de extração iônica (EIC), utilizando os valores de m/z de cada um dos compostos co-eluídos, onde a integração foi realizada a partir da estimativa da contribuição de cada um dos compostos na área do pico obtido por DAD.

A análise dos taninos hidrolisáveis foi realizada conforme descrição de metodologia prévia (Navarro et al., 2016). Foram injetados 20 µL das amostras previamente preparadas em coluna de fase reversa Ascentis Express C18 (fused core, 4,6 × 150 mm, partículas de 2,7 µm, Supelco Analytical), termoestabilizada a 40 °C. Foram utilizadas as fases móveis: Fase A: água-ácido fórmico (0,4% v/v), Fase B: metanol-ácido fórmico (0,4% v/v). O fluxo foi de 0,28 mL/min. O gradiente de eluição para o solvente B foi: 0 min, 0%; 3 min, 0%; 25 min, 12,5%; 40 min, 50%; 45 min, 100%; 50 min, 100%; 55 min, 0,0%. A identificação dos compostos foi baseada no espectro de massas e padrões comerciais dos compostos encontrados. A quantificação foi realizada a partir de curvas de calibração utilizando os padrões comerciais dos compostos identificados, detectados a 280 nm.

2.5. Identificação e quantificação de taninos condensados por HPLC-ESI-MS/MS e MRM

Para a análise dos taninos condensados (Lago-Vanzela et al., 2011), os extratos foram preparados utilizando-se cartuchos de fase sólida (SPE C18; Sep-pak Plus C18, Waters Corp., Mildford, MA; cartuchos preenchidos com 820 mg de adsorvente). Foram tomados 2 mL de amostra adicionadas de 12 mL de água ultra pura e passados pelo cartucho. Após a passagem da amostra e uma lavagem com água (5 mL), passou-se pelo cartucho 15 mL de metanol e 5 mL de acetato de etila, sendo recolhidos os eluentes em um balão. Os extratos foram evaporados em rotavapor a 35 °C e redissolvidos em 2 mL de metanol. Os extratos foram então injetados diretamente no HPLC antes e após a reação de despolimerização com pirogalol.

As análises foram realizadas pelo sistema de HPLC Agilent 1200 series equipado com detector DAD (Agilen, Germany) e acoplado ao sistema de espectroscopia de massas com tubo de ionização de triplo quadrupolo (AB Sciex 3200 TRAP). O sistema de cromatografia foi manejado pelo processador de dados Agilent ChemStation (versão

B.01.03). Os dados de espectroscopia de massas foram processados pelo software Analyst MSD (Applied Biosystems, version 1.5).

As amostras, antes e após a reação de despolimerização com pirogalol foram injetadas (20 µL) em uma coluna de fase reversa Ascentis C18 (150 mm x 4.6 mm com 2,7 µm de partícula) termoestatizada a 16 °C. Os solventes utilizados foram: solvente A metanol/água/ácido fórmico (2:97:1, v/v/v) e solvente B metanol. O fluxo foi de 0,3 mL/min com 65-75 atm de pressão. O gradiente de eluição utilizado para o solvente B foi: 0 min, 5%; 2 min, 5%; 25 min, 30%; 40 min, 55%; 50 min, 65%; 55 min, 95%; 65 min, 95%; 70 min, 5%; 80 min, 5%.

Foram utilizados dois sistemas de escaneamento para identificação (Enhanced Mass Spectrum- EMS) e quantificação (Monitoramento de reação múltipla-MRM). As condições do EMS foram: polarização negativa com escaneamento de 230-1200 m/z, 0,03 Da de tamanho, gás de cortina 15 psi, gás de colisão elevado, tensão de pulverização iônica -4000 V, temperatura 400 °C, fonte de gás de ionização 1,01:50 (em unidades arbitrárias), fonte de íons de gás 2,02:50 (unidades arbitrárias), taxa de leitura 100 Da.s⁻¹, polaridade -20 V, potencial de entrada -10 V, energia de colisão -10 V. As condições do MRM foram as mesmas utilizadas para o EMS, exceto: potencial de desagregação, -35 V; energia de colisão -30 V e potencial de saída da célula de colisão (CXP), -3 V.

2.6. Análises estatísticas

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados quantitativos foram expressos pelas médias e desvios-padrão. Os dados foram comparados por ANOVA e as médias pelo teste t e teste Student- Neuman-Keuls a 0,05 de significância.

Os teores de flavonóis e derivados de ácido metilelágico foram ainda submetidos à Análise de Componentes Principais (PCA).

Todas as análises estatísticas foram executadas pelos softwares SAS versão 9.0 e SPSS Statistics.

3. Resultados e discussão

3.1. Análises espectrofotométricas

Os resultados encontrados nas análises espectrofotométricas das jabuticabas estudadas estão representados na Tabela 2.1.

Tabela 2.1. Compostos fenólicos totais, antocianinas totais e polimerizadas, taninos e atividade antioxidante de frações de frutos de diferentes espécies de jabuticaba.

Jabuticaba	Compostos Fenólicos Totais (mg/100 g de fruto)	Antocianinas Totais (mg/100 g de fruto)	Antocianinas Polimerizadas (mg/100 g de fruto)	Taninos (mg/100 g de fruto)	Atividade antioxidante (mmol de trolox/100 g de fruto)
Branca Vinho casca	1149,93 ± 151,1659	2,074 ± 0,000	0,000 ± 0,000	1,766 ± 0,052	1,904 ± 0,177
Branca Vinho polpa	412,961 ± 105,770	Na	na	1,149 ± 0,009	19,382 ± 5,146
Branca Vinho semente	468,197 ± 27,890	Na	na	1,138 ± 0,006	2,821 ± 0,533
Total	2031,085 ± 73,693 a	2,074 ± 0,000 d	0,000 ± 0,000 d	4,053 ± 0,066 a	24,108 ± 4,495 b
Cabinho cascas	605,134 ± 63,926	67,062 ± 1,197	2,184 ± 3,782	1,984 ± 0,073	8,195 ± 0,904
Cabinho polpa	95,287 ± 16,411	Na	na	0,890 ± 0,038	5,257 ± 0,533
Cabinho semente	496,061 ± 55,649	Na	na	1,126 ± 0,039	5,500 ± 1,426
Total	1196,483 ± 102,455 c	67,062 ± 1,197 b	2,184 ± 3,782 d	4,000 ± 0,055 a	18,952 ± 0,721 cd
Canaã-açu casca	683,249 ± 144,615	73,284 ± 33,207	8,078 ± 3,108	1,949 ± 0,073	9,696 ± 2,641
Canaã-açu polpa	163,679 ± 35,420	Na	na	1,029 ± 0,177	8,653 ± 1,385
Canaã-açu semente	357,852 ± 102,027	Na	na	1,160 ± 0,039	2,866 ± 3,899
Total	1204,780 ± 140,782 c	73,284 ± 33,207 b	8,078 ± 3,108 b	4,138 ± 0,115 a	21,216 ± 2,059 bc
Paulista cascas	696,861 ± 165,754	38,025 ± 8,635	4,029 ± 0,434	1,777 ± 0,188	4,547 ± 0,670
Paulista polpa	179,524 ± 25,715	Na	na	1,099 ± 0,089	6,151 ± 1,187
Paulista semente	713,139 ± 248,060	Na	na	1,195 ± 0,034	5,380 ± 2,552
Total	1589,524 ± 167,270 b	38,025 ± 8,635 c	4,029 ± 0,434 c	4,071 ± 0,224 a	16,078 ± 3,621 d
Sabará casca	819,819 ± 118,184	109,235 ± 9,802	10,809 ± 0,230	1,897 ± 0,043	12,267 ± 0,671
Sabará polpa	57,311 ± 31,864	Na	na	0,609 ± 0,139	10,139 ± 1,334
Sabará semente	387,184 ± 33,494	Na	na	1,223 ± 0,025	11,237 ± 1,124
Total	1264,314 ± 115,130 c	109,235 ± 9,802 a	10,809 ± 0,230 a	3,719 ± 0,098 b	33,643 ± 0,531 a

na- não analisado. Em uma mesma linha, letras diferentes significam diferenças estatísticas pelo test t a p>0,05.

A jabuticaba sabará apresentou a maior concentração de antocianinas, seguida da canaã-açu e cabinho, que não apresentaram diferenças estatísticas entre si. Nas cascas dos frutos foram observadas as maiores concentrações de compostos fenólicos totais dentre as três frações estudadas. Nesse contexto, a espécie branca-vinho merece destaque por apresentar a maior concentração de compostos fenólicos, muito embora não tenha antocianinas na sua composição. Essa mesma espécie apresentou as menores concentrações de taninos e capacidade antioxidante *in vitro*. Tal fato sugere que as cascas da jabuticaba branca-vinho contêm algum composto fenólico não flavonóide, não identificado nesse trabalho e que possui atividade antioxidante menor que os demais compostos presentes nas outras espécies. Muitos fatores influenciam a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos, dentre eles a posição de substituição e o número de grupos hidroxila (Scotti et al., 2007). De forma geral, o maior número de substituintes de hidroxila acarreta em maior capacidade antioxidante. Dessa forma, os flavonoides apresentam maior capacidade antioxidante que os demais compostos fenólicos (Cao, Sofic & Piora, 1997) e, conseqüentemente, as jabuticabas que possuem maiores teores de antocianinas nas cascas apresentam maior capacidade antioxidante em relação às demais. Este fato foi reforçado pela baixa capacidade antioxidante encontrada para a jabuticaba paulista, que apresentou o segundo menor valor, sendo que essa variedade obteve o segundo menor teor de antocianinas nas cascas. Da mesma forma, a jabuticaba sabará possui a maior concentração de antocianinas nas cascas e a maior atividade antioxidante nesta parte do fruto.

A capacidade antioxidante de frutos de jabuticaba varia de acordo com a espécie e com o grau de maturação (Alezandro et al., 2013). Wu, Long & Kennelly (2013) reportam a capacidade antioxidante de frutos de jabuticaba em cerca de 36,300 μmol de trolox/100 g de fruto, valor próximo ao encontrado para a jabuticaba sabará nesse trabalho.

As polpas de jabuticaba apresentaram teores de compostos fenólicos totais e taninos inferiores aos das cascas. A branca-vinho mais uma vez apresentou os maiores teores de compostos fenólicos totais nesta parte do fruto assim como nas sementes.

3.2. Identificação e quantificação de antocianinas

Por apresentarem quantidades pouco significativas de antocianinas nas polpas e sementes e, no caso da jabuticaba branca-vinho, também nas cascas, a identificação desta classe de compostos foi realizada somente para as cascas das quatro espécies de jabuticabas negras estudadas. Foram identificadas as antocianinas delphinidina-3-

glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo, pelargonidina-3-glicosídeo, peonidina-3-glicosídeo e cianidina-3-cumarilglicosídeo. As antocianinas delphinidina (Dp), cianidina (Cy), pelargonidina (Pg) e peonidina (Pn) foram identificadas a partir da fragmentação das moléculas, originando íons produtos com valores de m/z de 303, 287, 271 e 301, respectivamente. A identificação de estruturas monoglicosadas ocorreu com base nos padrões de fragmentação observados nos espectros MS/MS, nos quais era observado apenas um tipo de fragmento, caracterizando a perda de um fragmento neutro que corresponde a uma glicose (162 uma). No caso da cy-3-cumarilglicosídeo, observou-se a perda de um fragmento neutro que corresponde a uma cumaroilglicose (308 uma). A identificação de cy-3-cumarilglicosídeo foi confirmada pelo correspondente espectro de UV-vis, nos quais aparece um pico característico do resíduo cumaril no comprimento de onda de 314 nm.

A cy-3-glc foi a antocianina predominante nas cascas das quatro variedades de jabuticaba, seguida da dp-3-glc (Tabela 2.2). Esse fato havia sido reportado em trabalhos anteriores (Inada et al., 2015; Leite-Legatti et al., 2012; Plaza et al., 2016; Santos et al., 2016). A pn-3-glc também havia sido previamente identificada em frutos de jabuticaba (Trevisan, Bobbio & Bobbio, 1972). Entretanto, este é o primeiro trabalho que descreve a presença de pg-3-glicosídeo nesse fruto.

Tabela 2.2. Concentração relativa (% de antocianinas totais) e concentração total, em equivalentes de cianidina-3-glicosídeo, de antocianinas em cascas de 4 diferentes jabuticabas, quantificadas por HPLC-DAD.

Antocianina	Cabinho	Canaã-açu	Paulista	Sabará
dp-3-glc (%)	7,715 ± 1,067 b	4,518 ± 0,532 c	23,722 ± 2,125 a	18,484 ± 0,870 b
cy-3-glc (%)	81,692 ± 0,959 b	93,996 ± 0,676 a	75,109 ± 1,811 c	80,589 ± 0,932 b
pg-3-glc (%)	0,318 ± 0,077 b	0,364 ± 0,112 ab	0,6477 ± 0,311 a	0,309 ± 0,074 b
pn-3-glc (%)	0,244 ± 0,060 c	0,690 ± 0,084 a	0,520 ± 0,123 ab	0,387 ± 0,107 bc
cy-3-cmglc (%)	0,029 ± 0,016 c	0,429 ± 0,106 a	0,000 ± 0,000 c	0,229 ± 0,001 b
Total (mg/100 g de fruto)	77,456 ± 4,358 b	71,470 ± 15,558 b	33,173 ± 13,632 c	105,776 ± 9,507 a

dp= delphinidina, cy= cianidina, pg= pelargonidina, pn= peonidina, glc= glicosídeo, cmglc= coumarilglicosídeo. Em uma mesma linha, letras diferentes significam diferenças estatísticas pelo test t p>0.05.

Nas cascas de jabuticabas foram encontradas majoritariamente antocianinas na forma não-metilada (cy e dp). Tal característica confere às estruturas maior instabilidade quando comparadas às antocianinas metiladas, uma vez que a metilação estabiliza o anel fenólico e reduz a reatividade da molécula (Fournier-Level et al., 2011). A acilao, ou ligao de resíduos de auares a ácidos aromáticos, como p-coumarico, cafeico, ferúlico, sinápico ou alifáticos, tais como ácido acético, málico e malnico na posio C6, também confere maior estabilidade às moléculas de antocianinas (He et al., 2010). Em trabalhos anteriores a presença de antocianinas na forma coumarilada da cy-

3-glicosídeo ainda não havia sido detectada em jaboticabas, o que pode ser entendido pelas baixas concentrações desses compostos nas amostras estudadas.

Todas as jaboticabas possuem o mesmo perfil de antocianinas, exceto a jaboticaba paulista, que não possui a cy-3-cmglc em níveis detectáveis. No entanto, a outra variedade dessa mesma espécie, jaboticaba canaã-açu, apresentou a maior concentração relativa desta antocianina, o que pode vir a ser um marcador varietal para esta espécie, facilitando os trabalhos de identificação.

A concentração de antocianinas monoméricas nas cascas diferiu entre as espécies, sendo maior na jaboticaba sabará e menor na jaboticaba paulista. No entanto, para todas as espécies estudadas, a antocianina majoritária foi a cy-3-glc, seguida da dp-3-glc. Tais resultados são coerentes aos valores encontrados na análise espectrofotométrica de antocianinas totais. Wu, Long & Kennelly (2013) relatam a quantificação de antocianinas totais em frutos de jaboticaba de 58,1 a 315 mg/100 g de fruto, por espectrofotometria e outros métodos, valores próximos aos encontrados nesse trabalho.

3.3. Identificação e quantificação de compostos fenólicos não antociânicos

Não foi detectada a presença de ácidos hidroxicinâmicos nas cascas das jaboticabas. No entanto, foram detectados diversos flavonoides e grandes quantidades de derivados de ácido elágico e ácido metilelágico (Tabela 2.3). Dentre os flavonoides identificados, nota-se a presença de derivados de quercetina e miricetina. Dentre os derivados de quercetina, nota-se ainda a presença de compostos pouco comuns, com restos acilados (com ácido glucurônico, gálico, cafeico, *p*-coumárico e ferúlico). Compostos semelhantes a esses ainda não haviam sido reportados em frutos de jaboticaba (Inada et al., 2015; Plaza et al., 2016; Silva et al., 2016).

Os picos 2 e 4 (Tabela 2.3) possuem pseudo íon molecular com *m/z* de 479 e fragmentos MS/MS de 317, caracterizando miricetina-hexose. Os padrões de absorção no UV-vis, e os seus respectivos tempos de retenção, sugerem a identificação desses compostos como miricetina-3-galactosídeo e miricetina-3-glicosídeo, respectivamente. O pico 5 apresentou *m/z* de 463 e fragmento MS/MS de 317, caracterizando uma miricetina-rahmnosídeo (Romani, Campo & Pinelli, 2012). O total de derivados de miricetina, expressos em equivalentes de miricetina-glicosídeo (mg) por 100 g de fruto, foi maior na espécie sabará.

Os picos 18, 19, 23 e 31 apresentaram o mesmo padrão de *m/z* (585) e fragmentos majoritários MS/MS (433, 301, 300) sugerindo se tratar de isômeros de um mesmo composto. O fragmento 433 caracteriza a perda de um grupo galoil (152 uma) e o

fragmento de 301 sugere a perda de um grupo pentosídeo na sequência (-152, -132). O fragmento de 301 que permanece, sugere a presença de uma quercetina, sendo então esses isômeros identificados como quercetina-galloyl-pentosídeo (Sobeh et al., 2016). Outro composto identificado como derivado acilado da quercetina foi o presente no pico 26, com m/z de 625, identificado como quercetina-caffeoil-hexose. Os picos 33 e 35, com m/z de 609, apresentaram maiores absorbâncias em 314 nm, sugerindo a presença de um grupo coumaroil, sendo os compostos identificados como isômeros de quercetina-coumaroil-hexose. Os picos 36 e 37 apresentaram maiores absorbâncias a 325 e 328 nm, sugerindo a presença de grupos ferúlicos, sendo identificados como isômeros de quercetina-feruloil-hexose. Não houve diferença quantitativa entre o total de derivados de quercetina entre as jabuticabas estudadas, expressos em equivalentes de quercetina-glicosídeo (Tabela 2.4). No entanto, qualitativamente, a jabuticaba branca-vinho foi a espécie que apresentou o menor número de compostos.

Dentre os derivados de ácido elágico, destacam-se também os compostos acilados. Os picos 20,24, 27, 29, 32 e 38 possuem m/z de 489 e fragmentos de MS/MS 301 e 300. A análise dos espectros UV-Vis desses compostos apresentaram, no campo do visível, picos de absorções próximos a 360 nm, característico de derivados de ácido elágico. Além disso, a presença de picos próximos a 253 e ombros próximos a 292 sugerem se tratar de ácido elágico-acetil-ramnosídeos. Composto similar foi encontrado em amostras camu-camu, fruto brasileiro pertencente ao gênero *Myrciaria* (Fracassetti et al, Costa, Moulay & Tomás-Barberán, 2013).

Os picos 40, 41, 42 e 44 possuem m/z de 531 e fragmentos majoritários MS/MS de 301, característicos do composto ácido elágico-valeryl-rhamnosídeo. Foram ainda identificados os compostos ácido elágico-caprilil-rhamnosídeo e ácido elágico-galoil-rhamnosídeo, com m/z de 531 e 573, respectivamente.

Foram identificados também derivados de ácido metilelágico com radicais semelhantes aos encontrados para os derivados de ácido elágico. Esses compostos, que apresentaram comportamento de fragmentação semelhante aos anteriores, tinham como característica m/z contendo 14 uma a mais que seus correspondentes não metilados.

Tabela 2.3. Lista de compostos identificados na análise de compostos fenólicos não antociânicos por HPLC-DAD-ESI-MSⁿ em diferentes espécies de jabuticaba

Peak	Composto	m/z	Rt (min)	UV-vis (nm)	Ms	Ms ²	Ms ³
1	EA-hex	463	13,917	254; 292 sh; 345 sh; 360	463,2	300,8	(300,8): 301,0, <u>299,8</u> , 256,8, 228,7, <u>184,7</u>
2	M-hex-1(M-3-gal)	479	15,901	255; 265 sh; 305 sh; 352	479,2	316,9, <u>315,8</u>	(316,9): 315,8, 286,8, <u>270,8</u> , 178,7, 150,7
3	EA-pent-1	433	17,153	253; 292 sh; 345 sh; 358	433,3	<u>300,8</u> , <u>299,8</u>	(300,8): 301,0, <u>299,8</u> , 256,8, 228,8, <u>184,7</u>
4	M-hex-2 (M-2-glu)	479	17,326	352	479,4	316,8, <u>315,8</u>	(316,8): 315,8, 286,8, <u>270,8</u> , 178,7, 150,7
5	M-rhm	463	21,627	255 sh; 261; 305 sh; 348	463,4	316,7, <u>316,0</u>	(316,7): 315,8, 286,8, <u>270,8</u> , 178,9, 150,9
6	Free-EA	301	23,191	253; 292 sh; 355 sh; 367	301,3	<u>300,8</u> , <u>256,8</u> , 228,7, 184,7	Not Acquired
7	Q-hex-1 (Q-3-gal)	463	24,371	256 sh; 262; 305 sh; 352	463,4	<u>300,8</u> , 300,1	(300,8): 299,8, 270,8, 254,7, 228,8, <u>178,7</u> , <u>150,7</u>
8	EA-pent-2	433	24,611	254; 295 sh; 348 sh; 359	433,4	300,7	(300,7): 301,0, <u>299,8</u> , 256,8, 228,8, 184,8
9	Q-glcu (Q-3-glucur)	477	24,893	352	463,4	<u>300,8</u> , 300,0	(300,8): 299,8, 270,8, 254,7, 228,8, <u>178,7</u> , <u>150,7</u>
10	EA-rhm-1	447	24,895	254; 261 sh; 303 sh; 348 sh; 359	447,5	300,8	(300,8):301,0, <u>299,8</u> , 256,8, 228,7, 184,7
11	Me-EA-hex	477	25,200	251; 262 sh; 295 sh; 350 sh; 365	477,3	<u>314,8</u> , 299,9	(315,0): 299,8
12	Q-hex-2 (Q-3-glu)	463	26,337	353	463,4	<u>300,8</u> , 300,0	(300,8): 299,8, 270,8, 254,7, 228,8, <u>178,7</u> , <u>150,8</u>
13	EA-rhm-2	447	26,548	254; 260 sh; 290 sh; 348 sh; 362	447,4	<u>300,6</u> , <u>299,9</u>	(300,8): 301,0, <u>299,8</u> , 256,8, 228,7, 184,7
14	Q-pent-1	433	27,565	351	433,2	300,8	(300,8): 299,8, 270,8, 254,7, 228,8, <u>178,7</u> , <u>150,7</u>
15	Q-pent-2	433	29,175	354	433,3	300,8	(300,8): <u>299,8</u> , <u>270,8</u> , <u>254,7</u> , 228,8, <u>178,7</u> , <u>150,7</u>
16	Q-pent-3	433	30,008	256; 262 sh; 310 sh; 350	433,4	300,8	(300,8): 299,8, 270,8, 254,7, 228,8, <u>178,7</u> , <u>150,7</u>
17	Q-rhm (Q-3-rhm)	447	31,821	255; 260 sh; 305 sh; 348	447,4	300,8	(300,8): 270,9, 255,2, 228,9, <u>179,0</u> , <u>151,0</u>
18	Q-galloyl-pent-1	585	32,169	357	585,2	(433,4), <u>300,9</u>	(433,0): <u>300,9</u> , 299,8
19	Q-galloyl-pent-2	585	33,162	357	585,2	(433,4), <u>300,9</u>	(301,0): <u>272,7</u> , <u>178,9</u> , <u>150,7</u>
20	EA-ac-rhm-1	489	33,608	252; 262 sh; 308 sh; 345 sh; 361 sh; 376	489,3	299,8, <u>300,8</u>	(300,8): 301,0, <u>299,8</u> , 256,8, 228,7, 184,7
21	Me-EA-pent	447	33,935	254; 260 sh; 290 sh; 350 sh; 364	447,4	<u>314,8</u> , 299,9	(315,0): 314,9, 300,7, <u>299,8</u>
22	Free Me-EA	315	34,350	252; 262 sh; 295 sh; 355 sh; 370	315,1	299,8	Not Acquired
23	Q-galloyl-pent-3	585	35,149	353	585,2	<u>433,0</u> , <u>300,9</u> , 299,8	(433,0): 300,9
24	EA-ac-rhm-2	489	35,415	254; 260 sh; 295 sh; 336 sh; 345 sh; 358	489,3	<u>299,8</u> , 300,8	(300,8): 301,0, <u>299,8</u> , 256,8, 228,7, 184,7
25	Me-EA-rhm	461	36,749	253; 262 sh; 290 sh; 352 sh; 365	461,4	<u>314,9</u> , 300,3	(315,0): 299,8
26	Q-cf-hex	625	38,268	254; 264 sh; 296 sh; 328; 352 sh	625,2	<u>463,0</u> , 300,8	(301,0): 272,7, <u>256,8</u> , 210,7, <u>178,7</u> , <u>150,7</u> ; (463,0): 343,7, <u>300,8</u> , 299,8, 270,9, 178,7, 150,7
27	EA-ac-rhm-3	489	38,508	254; 257 sh; 295 sh; 335 sh; 351; 360	489,3	<u>299,8</u> , 300,8	(300,8): 301,0, <u>299,8</u> , 256,8, 228,7, 184,7
28	EA-galloyl-pent	585	39,349	255; 288 sh; 348 sh; 360	585,3	458,9, 433,0, 414,9, <u>300,8</u>	(433,0): 299,8
29	EA-ac-rhm-4	489	39,428	251; 262 sh; 296 sh; 345 sh; 356 sh; 372	489,3	<u>299,8</u> , 300,8	(300,8): 301,0, <u>299,8</u> , 256,8, 228,7, 184,7

Continuação da Tabela 2.3

Peak	Composto	m/z	Rt (min)	UV-vis (nm)	Ms	Ms ²	Ms ³
30	free Q	301	40,628	255; 265 sh; 300 sh; 371	301	299,8, 270,8, 254,7, 228,8, 178,7, 150,7	No Acquired
31	Q-galloyl-pent-4	585	41,145	351	585,2	(433,4), <u>300,9</u>	(433,0): <u>300,9, 299,8</u> ; (301,0): 272,7, <u>178,9, 150,7</u>
32	EA-ac-rhm-5	489	43,102	254; 262 sh; 300 sh; 340 sh; 355 sh; 372	489,3	299,8, <u>300,8</u>	(300,8): 301,0, <u>299,8</u> , 256,8, 228,7, 184,7
33	Q-cm-hex-1	609	44,637	255 sh; 265; 295 sh; 314; 352 sh	609,3	<u>463,0</u> , 301,0	(301,0): 300,0, 272,7, 256,9, 228,7, <u>178,9, 150,7</u> ; (463,0): 342,8, <u>300,8</u> , 300,0, 270,9, 178,7, 150,7
34	Me-EA-ac-rhm-1	503	44,742	253; 260 sh; 290 sh; 351 sh; 365	503,2	460,7, 442,9, 428,2, <u>314,8</u> , 299,9	(315,0): 299,8; (443,0): <u>427,9</u> , 314,8, 300,8
35	Q-cm-hex-2	609	45,670	265 sh; 295 sh; 314; 352 sh	609,3	<u>462,9</u> , 300,9	(301,0): 299,8, 272,8, 256,9, 228,7, <u>178,9, 150,7</u> ; (463,0): 342,8, <u>300,8</u> , 299,9, 270,7, 178,7, 150,7
36	Q-fer-hex-1	639	46,237	255; 265 sh; 300 sh; 325; 352 sh	639,2	476,9, <u>462,9</u> , 314,9, 300,8	(301,0): 299,6, <u>178,7, 150,4</u> ; (463,0): <u>300,8</u> , 299,8; (477,0): 449,1, 339,9, <u>314,8</u> , 313,9, 299,8
37	Q-fer-hex-2	639	47,217	255; 265 sh; 295 sh; 328; 352 sh	639,2	477,0, <u>462,9</u> , 315,1, 300,9	301,0): 299,2, <u>178,7, 150,6</u> ; (463,0): <u>300,8</u> , 299,8; (477,0): 338,9, <u>315,0, 313,8</u> , 298,9
38	EA-ac-rhm-6	489	47,575	254; 262 sh; 300 sh; 333 sh; 345 sh; 352	489,3	300,8, <u>299,8</u>	(300,8): 301,0, <u>299,8</u> , 256,8, 228,7, 184,7
39	Me-EA-ac-rhm-2	503	48,515	253; 260 sh; 290 sh; 351 sh; 365	503,2	460,8, <u>443,0</u> , 427,9, 314,8, 299,9	(443,0): 428,8, <u>427,8</u> ; (315,0): 299,8
40	EA-valeryl-rhm-1	531	50,289	254; 260 sh; 300 sh; 348 sh; 361	531,4	488,9, 470,8, 300,8, <u>299,8</u>	(471,0): 470,8, 410,9, 324,7, <u>298,8, 270,7</u>
41	EA-valeryl-rhm-2	531	51,996	254; 260 sh; 305 sh; 355 sh; 373	531,3	470,9, 300,8, <u>299,7</u>	(471,0): 470,8, 410,9, <u>298,8, 270,7</u>
42	EA-valeryl-rhm-3	531	53,207	254; 260 sh; 300 sh; 348 sh; 361	531,3	488,9, 471,0, 300,8, <u>299,8</u>	(471,0): 470,9, 410,9, 324,7, <u>298,8, 270,7</u>
43	Me-EA-ac-rhm-3	503	54,793	253; 260 sh; 290 sh; 351 sh; 365	503,3	460,8, 443,0, <u>314,8</u> , 300,0	(315,0): 299,8
44	EA-valeryl-rhm-4	531	55,728	254; 260 sh; 300 sh; 348 sh; 361	531,2	488,9, 470,8, 300,8, <u>299,8</u>	(471,0): 470,9, 410,9, <u>298,7, 270,7</u>
45	Me-EA-valeryl-rhm-1	545	57,913	253; 265 sh; 290 sh; 348 sh; 365	545,5	503,3, <u>485,0</u> , 470,0, 442,3, 314,9, 299,9	(315): 313,8, <u>299,8</u> , 298,8
46	Me-EA-valeryl-rhm-2	545	59,099	253; 265 sh; 290 sh; 348 sh; 365	545,7	502,8, <u>485,0</u> , 470,2, 314,9, 299,9	(485,0): 469,9; (315): 313,8, <u>299,8</u> , 298,8
47	Me-EA-valeryl-rhm-3	545	59,499	253; 265 sh; 290 sh; 348 sh; 365	545,6	502,6, 485,0, 469,9, <u>314,9</u> , 300,0	(315): 299,8; (485,0): 470,0
48	EA-caprilyl-rhm	573	59,635	256; 265 sh; 297 sh; 345 sh; 360	573,3	531,5, 513,0, 300,7, <u>299,8</u>	(513,0): 452,8, 393,0, 328,7, <u>299,8, 298,8, 270,8</u>
49	Me-EA-caprilyl-rhm	587	60,939	255; 265 sh; 297 sh; 344 sh; 357	587,6	544,9, <u>527,0</u> , 467,1, 315,2, 314,0, 300,1	(315,0): 299,8

Abreviações: M-Type- derivados de miricetina, Q-type- derivados de quercetina, EA- ácido elágico, Me-EA- ácido metil elágico, hex- hexose, pent- pentose, rhm- rhaminose, gal- galactose, glu- glicose, ac- ácido acético, cf – ácido cafeico, cm- ácido p-coumarico, fer- ácido ferulico.

Os picos 3 e 8 apresentaram íon pseudo molecular com m/z de 433 e fragmentos MS/MS de 301, 300 e 257. Uma dissociação semelhante foi observada por Bubba et al., (2012) em morangos e atribuído a compostos ácido elágico-pentosídeo. Os picos 10 e 13 apresentaram a relação m/z de 447 e fragmentos MS/MS de 301, 300, 257 e 229, semelhante ao apresentado pelos mesmos autores e atribuído a isômeros de ácido elágico-rahmnosídeo.

O pico 21 apresentou m/z de 477 e produziu fragmentos MS/MS de 315 (caracterizando a perda de uma hexose-162 uma) 301 (característico de ácido elágico) e 300 (caracterizando a perda de um metil), sugerindo se tratar de um ácido metilelágico-pentosídeo.

Quantitativamente, todas as jabuticabas apresentaram maiores teores de compostos derivados de ácido elágico do que de compostos metilelágicos, sendo que a branca-vinho não apresentou este último. Não houve diferenças significativas estatisticamente entre as jabuticabas para as duas classes de compostos.

As diferenças da composição de flavonóis e derivados de ácido elágico entre as espécies de jabuticaba são mais facilmente observadas na análise das componentes principais, que permite destacar as suas particularidades.

Para os flavonóis, a componente principal 1 (PC1) com 41,57% da variância, destacou a variedade canaã-açu das demais (Figura 2.1). Esta variedade apresentou maior diversidade de derivados de quercetina, sendo a única a apresentar todos os isômeros de q-galloyl-pentoside. A PC2, com 19,61% da variância, destacou a espécie branca-vinho das demais, que não apresentou nenhum dos compostos acilados derivados de quercetina.

Em relação aos derivados de ácido elágico (Figura 2.2), a PC1 X PC2 corresponderam a 42,488% da variância total e destacaram a variedade canaã-açu por apresentar maior concentração de derivados de ácido metilelágico em relação às demais jabuticabas. A PC3 correspondeu a 15,90% da variância total e destacou a variedade paulista por apresentar maiores concentrações dos isômeros de ácido elágico-rahmnosídeo e por ser a única a apresentar os isômeros 1 e 4 do ácido elágico-acetil-rahmnosídeo. A PC5 correspondeu a 14,10 % da variância e destacou a espécie sabará, que apresentou maiores concentrações dos compostos ácido metilelágico-valeryl-rahmnosídeo 1, ácido metilelágico-capryl-rahmnosídeo e ácido metilelágico-acetil-rahmnosídeo 3.

Tabela 2.4.Concentrações de flavonóis e derivados de ácido elágico e ácido metilelágico em diferentes espécies de jabuticaba

Peak	[M-H] ⁻	Composto	Branca-vinho	Jabuticaba-de-cabrinho	Canaã-açu	Paulista	Sabará
2	479	% M-hex-1	12,699 ± 1,328 a	8,040 ± 0,923 a	45,733 ± 4,297 b	12,742 ± 2,500 a	9,303 ± 0,457 a
4	479	% M-hex-2	0,000 ± 0,000 a	10,056 ± 5,199 a	54,267 ± 4,297 b	7,028 ± 2,763 a	5,121 ± 4,081 a
5	463	% M-rhm	87,301 ± 1,328 b	81,904 ± 5,488 b	0,000 ± 0,000 a	80,231 ± 5,264 b	85,575 ± 3,625 b
Total M-type flavonols (mg/100g, eq. M-glc)			1,571 ± 0,039 b	3,920 ± 0,168 c	0,497 ± 0,156 a	1,932 ± 0,523 b	4,784 ± 0,317 d
7	463	% Q-hex-1	6,831 ± 2,748 a	23,831 ± 2,545 a	21,767 ± 4,085 a	13,011 ± 2,526 a	32,435 ± 27,425 a
12	463	% Q-hex-2	12,307 ± 0,915 c	14,141 ± 0,588 cd	17,063 ± 2,271 d	2,134 ± 0,623 a	7,235 ± 2,535 b
9	477	% Q-glcu	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	24,469 ± 6,199 b	0,000 ± 0,000 a
14	433	% Q-pent-1	12,046 ± 7,318 a	2,534 ± 0,252 a	8,525 ± 0,356 a	5,162 ± 0,213 a	3,427 ± 1,593 a
15	433	% Q-pent-2	8,031 ± 0,739 b	3,539 ± 0,480 a	12,873 ± 1,055 c	6,592 ± 0,481 ab	6,019 ± 2,746 ab
16	433	% Q-pent-3	6,872 ± 0,320 a	8,151 ± 2,093 a	12,461 ± 2,015 a	11,606 ± 0,825 a	12,671 ± 4,970 a
17	447	% Q-rhm	49,985 ± 3,480 c	35,913 ± 2,874 b	0,000 ± 0,000 a	26,570 ± 2,790 b	26,914 ± 11,692 b
18	585	% Q-galloyl-pent-1	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	1,661 ± 0,579 b	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a
19	585	% Q-galloyl-pent-2	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	1,297 ± 0,901 b	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a
23	585	% Q-galloyl-pent-3	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	1,463 ± 0,626 b	0,332 ± 0,149 a	1,129 ± 0,466 b
31	585	% Q-galloyl-pent-4	3,930 ± 0,726 d	0,000 ± 0,000 a	2,764 ± 0,322 c	1,161 ± 0,002 b	0,000 ± 0,000 a
26	625	% Q-cf-hex	0,000 ± 0,000 a	1,392 ± 0,086 b	1,180 ± 0,757 b	0,695 ± 0,293 ab	1,034 ± 0,270 b
33	609	% Q-cm-hex-1	0,000 ± 0,000 a	1,430 ± 0,171 b	3,277 ± 0,421 c	0,877 ± 0,129 b	1,477 ± 0,356 b
35	609	% Q-cm-hex-2	0,000 ± 0,000 a	1,561 ± 0,171 b	3,542 ± 0,627 c	2,011 ± 0,832 b	1,749 ± 0,724 b
36	609	% Q-fer-hex-1	0,000 ± 0,000 a	2,154 ± 0,824 b	2,511 ± 0,944 b	0,774 ± 0,054 ab	1,955 ± 0,973 b
37	609	% Q-fer-hex-2	0,000 ± 0,000 a	1,453 ± 0,119 b	1,441 ± 0,617 b	1,317 ± 0,439 b	0,859 ± 0,192 b
30	301	% free Q	0,000 ± 0,000 a	3,901 ± 0,888 ab	8,134 ± 3,048 b	3,288 ± 0,105 ab	3,127 ± 3,049 ab
Total Q-type flavonols (mg/100g, eq. Q-glc)			2,704 ± 0,161 a	5,257 ± 0,539 a	7,337 ± 3,632 a	8,100 ± 1,871 a	11,179 ± 4,946 a
1	463	% EA-hex	7,096 ± 7,225 a	6,410 ± 1,528 a	6,670 ± 2,631 a	4,007 ± 0,912 a	6,891 ± 1,058 a
3	433	% EA-pent-1	3,213 ± 2,488 a	1,369 ± 0,532 a	0,000 ± 0,000 a	0,138 ± 0,033 a	2,456 ± 0,340 a
8	433	% EA-pent-2	21,242 ± 13,155 b	23,578 ± 4,542 b	0,000 ± 0,000 a	7,454 ± 6,017 ab	6,267 ± 3,859 ab
10	447	% EA-rhm-1	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	2,458 ± 0,537 c	0,832 ± 0,077 b
13	447	% EA-rhm-2	4,766 ± 4,322 a	1,997 ± 0,514 a	0,000 ± 0,000 a	15,855 ± 4,970 b	3,462 ± 0,840 a
20	489	% EA-ac-rhm-1	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	0,595 ± 0,174 b	0,000 ± 0,000 a
24	489	% EA-ac-rhm-2	2,274 ± 1,715 a	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	0,536 ± 0,184 a	0,630 ± 0,498 a
27	489	% EA-ac-rhm-3	2,776 ± 1,843 b	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	0,485 ± 0,081 a	0,691 ± 0,490 a
29	489	% EA-ac-rhm-4	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	1,360 ± 0,468 b	0,000 ± 0,000 a
32	489	% EA-ac-rhm-5	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	1,783 ± 1,372 a	0,361 ± 0,007 a	0,644 ± 0,285 a
38	489	% EA-ac-rhm-6	0,000 ± 0,000 a	1,590 ± 0,908 ab	2,646 ± 1,160 b	0,563 ± 0,222 a	1,357 ± 0,442 ab
40	531	% EA-valeryl-rhm-1	2,088 ± 1,017 a	0,582 ± 0,267 a	1,783 ± 1,372 a	0,394 ± 0,054 a	0,390 ± 0,175 a
41	531	% EA-valeryl-rhm-2	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	0,369 ± 0,222 b

Continuação da Tabela 2.4

Peak	[M-H] ⁺	Composto	Branca-vinho	Jabuticaba-de-cabinho	Canaã-açu	Paulista	Sabará
42	531	% EA-valeryl-rhm-3	0,000 ± 0,000 a	0,693 ± 0,110 a	1,783 ± 1,372 a	0,361 ± 0,007 a	0,515 ± 0,139 a
44	531	% EA-valeryl-rhm-4	0,000 ± 0,000 a	0,748 ± 0,174 a	1,783 ± 1,372 a	0,361 ± 0,007 a	0,485 ± 0,060 a
48	573	% EA-caprilyl-rhm	0,000 ± 0,000 a	1,438 ± 0,155 a	1,783 ± 1,372 a	0,361 ± 0,007 a	1,047 ± 0,102 a
28	585	% EA-galloyl-pent	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	2,090 ± 1,335 a	0,000 ± 0,000 a	1,483 ± 1,248 a
6	301	% free EA	56,545 ± 31,681 a	61,595 ± 3,535 a	79,678 ± 11,941 a	64,710 ± 1,645 a	72,482 ± 8,530
Total EA derivatives (mg/100g. eq, EA)			3,853 ± 1,643 a	14,029 ± 7,992 a	4,924 ± 2,710 a	15,270 ± 1,404 a	29,431 ± 29,196 a
11	477	% Me-EA-hex	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	9,739 ± 3,294 b	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a
21	447	% Me-EA-pent	0,000 ± 0,000 a	28,411 ± 4,858 c	13,269 ± 1,191 b	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a
25	461	% Me-EA-rhm	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	20,195 ± 1,518 b	19,412 ± 0,305 b	0,000 ± 0,000 a
34	503	% Me-EA-ac-rhm-1	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	2,638 ± 0,422 b	2,942 ± 1,526 b	0,000 ± 0,000 a
39	503	% Me-EA-ac-rhm-2	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	2,798 ± 0,719 b	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a
43	503	% Me-EA-ac-rhm-3	0,000 ± 0,000 a	17,555 ± 1,374 b	31,187 ± 1,247 c	19,412 ± 0,305 b	35,796 ± 2,399 d
45	545	% Me-EA-valeryl-rhm-1	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	1,776 ± 0,692 b	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a
46	545	% Me-EA-valeryl-rhm-2	0,000 ± 0,000 a	19,032 ± 2,410	4,321 ± 0,832 b	19,412 ± 0,305 c	0,000 ± 0,000 a
47	545	% Me-EA-valeryl-rhm-3	0,000 ± 0,000 a	17,600 ± 1,346 c	3,414 ± 0,153 b	19,412 ± 0,305 c	31,794 ± 1,672 d
49	315	% Me-EA-caprilyl-rhm	0,000 ± 0,000 a	17,402 ± 1,754 bc	1,776 ± 0,692 b	19,412 ± 0,305 c	32,409 ± 0,805 d
22	587	% free Me-EA	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a	8,886 ± 3,032 b	0,000 ± 0,000 a	0,000 ± 0,000 a
Total Me-EA derivatives (mg/100g. eq, EA)			0,000 ± 0,000 a	0,393 ± 0,057 a	3,899 ± 1,260 b	0,285 ± 0,036 a	0,196 ± 0,013 a

Abreviações: M-Type- derivados de miricetina, Q-type- derivados de quercetina, EA- acido elágico, Me-EA- cido metil elágico, hex- hexose, pent- pentose, rhm- rhaminose, gal- galactose, glu- glicose, ac- ácido acético, cf – cido cafeico, cm- ácido p-coumarico, fer- ácido ferulico. Em uma mesma linha, letras diferentes significam diferenças estatísticas pelo test t p>0,05.

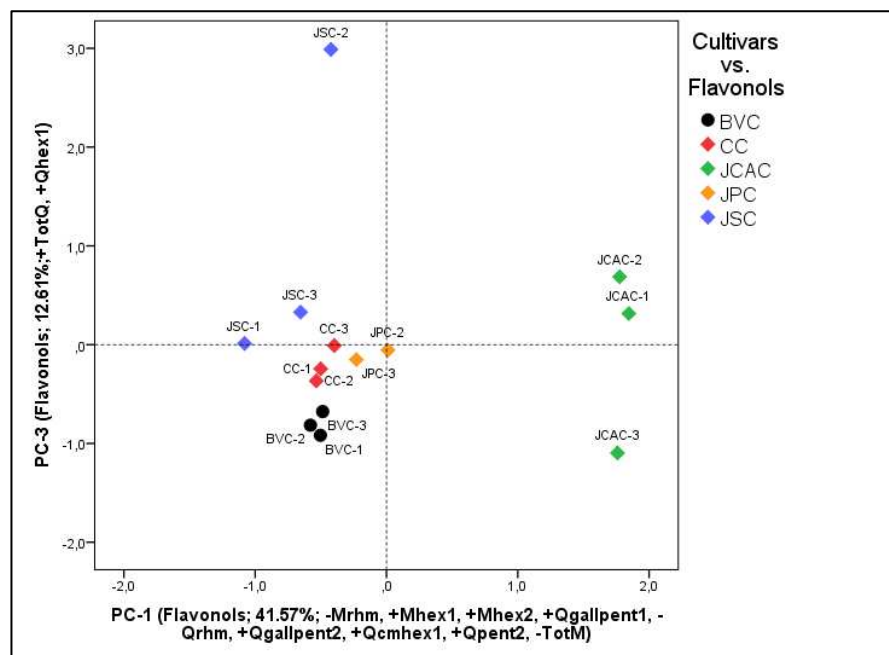


Figura 2.1. Componente principal 1 X componente principal 2 para a composição de flavonóis em cascas de diferentes espécies de jaboticaba. BVC- branca-vinho, CC- cabinho, JCAC- canaã-açu, JPC, paulista, JSC- sabará.

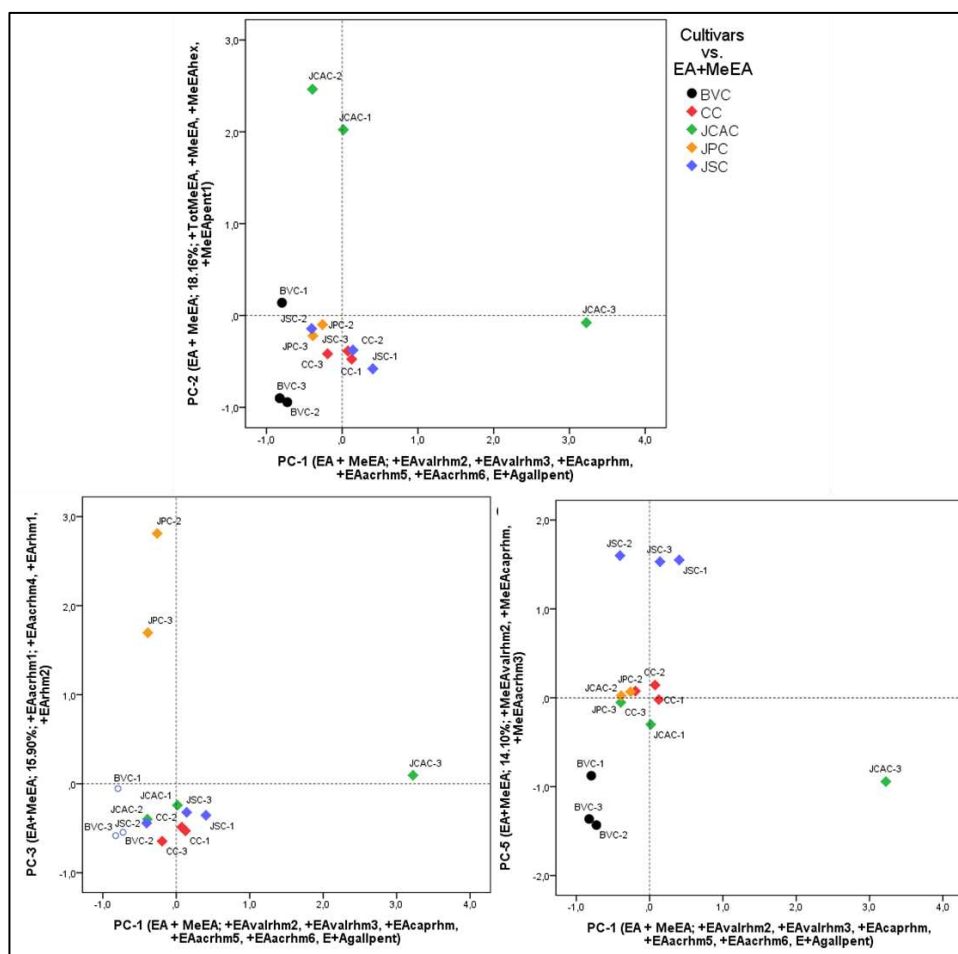


Figura 2.2. Componente principal (PC) 1 X PC 2, PC 1 X PC3 e PC1 X PC5 para a composição de derivados de ácido elágico e metil-elágico em cascas de diferentes espécies de jaboticaba. BVC- branca-vinho, CC- cabinho, JCAC- canaã-açu, JPC, paulista, JSC- sabará.

3.4. Taninos hidrolisáveis

Nas cascas de jabuticaba não foram encontradas quantidades expressivas de taninos hidrolisáveis, no entanto nas polpas e sementes, foram identificados principalmente a vescalagina e a castalagina. Os ácidos gálico e elágico também foram detectados nas polpas e sementes pela metodologia utilizada.

Os isômeros vescalagina e castalagina, compostos majoritários nas polpas e sementes, foram identificados pela massa molecular (m/z 933) e confirmados pelas características espectrais e comparação com padrões autênticos. Os dois compostos, que são isômeros e, portanto, apresentam características de massa e espectro semelhantes, foram diferenciados entre si através do tempo de retenção (figura 2.3), fato confirmado pela utilização de padrões. Além disso, estudos experimentais demonstraram que a vescalagina apresentou maior efeito sobre a polaridade, oxidabilidade em solução e termodegradabilidade que a castalagina (Vivas, Laguerre, Boissel, Gaulejac & Nonier, 2004), além de ter sido mais hidrofílica e mais reativa a eletrofílicos. Tais fatos permitem concluir que a vescalagina apresenta comportamento mais polar que a castalagina, o que justificaria seu menor tempo de retenção em uma coluna de fase reversa, como a utilizada nessa análise.

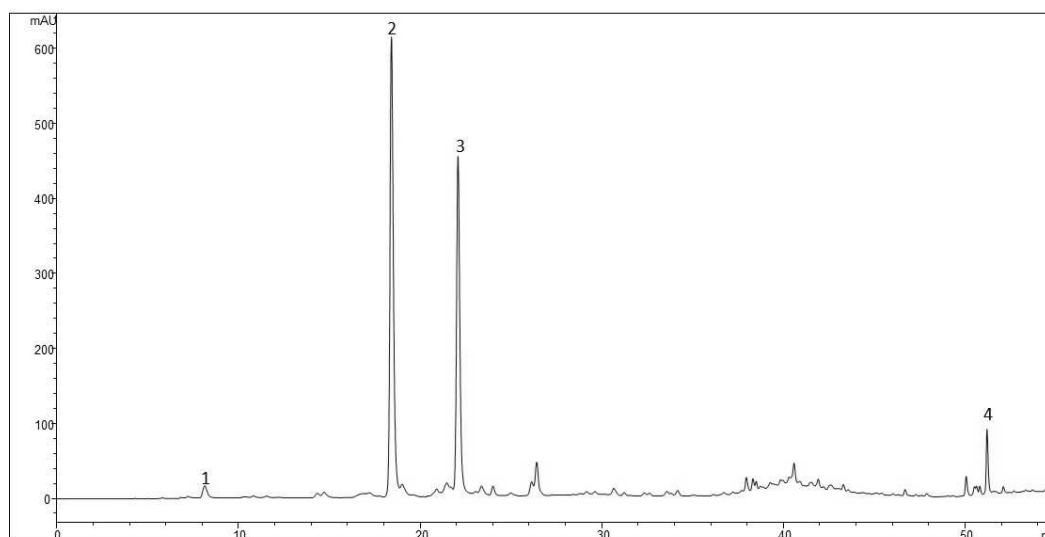


Figura 2.3. Taninos hidrolisáveis em jabuticaba. Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 280,8 nm). 1. Ácido gálico, 2. Vescalagina, 3. Castalagina, 4. Ácido elágico.

A castalagina e vescalagina são predominantes em madeiras de carvalho, representando de 40 a 60% dos taninos hidrolisáveis, sendo também abundantes nos vinhos envelhecidos, onde migram da madeira para as bebidas (García-Estévez, Escribano-Bailón, Rivas-Gonzalo & Alcalde-Eon, 2010; Grottaglie et al., 2015). São encontradas também em espécies vegetais tais como castanhas (Comandini, Lerma-

garcía & Simó-Alfonso, 2014), camu-camu (*Myrciaria dubia*) (Fracassetti et al., 2013) e alguns chás (Landete, 2011). Em jabuticabas, a presença desses isômeros foi descrita em trabalhos anteriores (Hacke et al., 2016).

Os ácidos gálico e elágico apresentaram-se como compostos minoritários nas polpas e sementes de jabuticaba. Esses dois ácidos estão relacionados com os taninos hidrolisáveis, galotaninos e elagitaninos. O nome galotanino é uma referência à formação de ácido gálico após a hidrólise ácida desses compostos. Os elagitaninos, por sua vez, dão origem ao ácido elágico após a hidrólise. A presença dos ácidos gálico e elágico já havia sido previamente relatada em frutos de jabuticaba, que apresentou também derivados de ácido elágico distintos dos elagitaninos (Wu et al., 2013).

As sementes apresentaram concentrações maiores de taninos hidrolisáveis do que as polpas das jabuticabas (Tabela 2.5). Este fato é esperado para a composição das diferentes frações dos frutos, uma vez que as sementes podem conter grandes quantidades de substâncias adstringentes que acabam por protegê-las contra o herbivorismo. As espécies que apresentaram maiores teores de castalagina e vescalagina foram a branca-vinho e a paulista, que não apresentaram diferença estatística entre si. A menor concentração de vescalagina foi observada para a jabuticaba sabará, que para a concentração de castalagina não apresentou diferença significativa em relação a jabuticaba-de-cabinho e canaã-açu. Tais resultados são coerentes aos encontrados nas análises espectroscópicas, onde as maiores concentrações de taninos foram encontradas nas espécies com menores teores de antocianinas. Esse fato chama a atenção para as espécies com baixos teores de antocianinas, que muitas vezes não despertam interesse como fonte dessa classe de compostos, conforme proposta de inúmeros trabalhos envolvendo cascas de jabuticabas (Leite-Legatti et al., 2012; Veggi, Santos & Meirelos, 2011), mas que podem servir como potenciais fontes de castalagina e vescalagina. Observa-se ainda que esses dois compostos são majoritários e quase exclusivos dentre os elagitaninos desses frutos, o que favorece o processo de purificação do material. Nesse contexto, as sementes das jabuticabas merecem destaque ainda maior, por apresentarem maiores concentrações desses dois compostos e por não haver outra forma de aproveitamento dessa biomassa.

O camu-camu, espécie vegetal também pertencente à família Myrtaceae, ao contrário do apresentado nas jabuticabas, possui na composição dos seus frutos a castalagina como elagitanino mais abundante, seguido da vescalagina. Nesse fruto foram encontrados 84,89 mg/100 g de fruto para a vescalagina e 116,12 mg/100 g de fruto para a castalagina, valores dentro da faixa encontrada para a jabuticaba, para os dois

compostos (Fracassetti et al., 2013). Abe, Lajolo & Genovese (2012) encontraram 0,6 mg/100 g de ácido elágico livre em jabuticabas da espécie Sabará, valor comparável ao encontrado nesse trabalho para a mesma espécie (0,886 mg/100 g).

Tabela 2.5. Concentração de taninos hidrolisáveis, ácido gálico e ácido elágico em cascas, polpa e sementes de jabuticabas por HPLC-DAD. Valores em mg/100 g de fruto.

		Ácido gálico	Vescalagina	Castalagina	Ácido Elágico
Branca-vinho	Polpa	0,934 ± 0,159 a	16,590 ± 7,088 a	11,721 ± 3,581 a	0,317 ± 0,024 a
	semente	13,366 ± 3,457 a	149,351 ± 7,861 a	73,134 ± 2,962 a	0,488 ± 0,077 c
	soma	14,299 ± 3,524 a	165,94 ± 3,739 a	84,855 ± 0,792 a	0,805 ± 0,100 bc
Jabuticaba de cabinho	Polpa	0,332 ± 0,121 b	2,677 ± 0,021 c	3,844 ± 0,161 c	0,109 ± 0,004 c
	semente	6,142 ± 1,666 b	95,166 ± 9,016 b	53,706 ± 5,675 b	0,585 ± 0,065 bc
	soma	6,474 ± 1,579 b	97,843 ± 9,012 b	57,550 ± 5,816 b	0,694 ± 0,065 bc
Canaã-açu	Polpa	0,634 ± 0,029 ab	8,748 ± 2,941 bc	6,714 ± 1,396 bc	0,197 ± 0,034 b
	semente	6,629 ± 2,874 b	77,302 ± 14,678 bc	51,210 ± 6,014 b	0,354 ± 0,010 c
	soma	7,263 ± 2,035 b	86,050 ± 7,649 bc	57,924 ± 3,006 b	0,551 ± 0,027 c
Paulista	Polpa	0,898 ± 0,500 a	13,373 ± 1,198 ab	9,129 ± 0,568 ab	0,374 ± 0,060 a
	semente	22,749 ± 3,248 a	157,391 ± 25,346 a	81,632 ± 10,684 a	1,159 ± 0,198 a
	soma	20,247 ± 6,407 a	170,764 ± 17,413 a	90,761 ± 7,095 a	1,355 ± 0,329 a
Sabará	Polpa	0,491 ± 0,266 ab	2,760 ± 0,705 c	3,954 ± 0,519 c	0,101 ± 0,040 c
	semente	16,488 ± 1,225 a	74,227 ± 6,215 c	57,675 ± 4,593 b	0,785 ± 0,029 bc
	soma	16,979 ± 0,636 a	76,987 ± 3,934 c	61,630 ± 4,077b	0,886 ± 0,066 b

Em uma mesma coluna, letras diferentes correspondem a diferenças estatisticamente significantes pelo test a $p > 0,05$.

3.5. Taninos condensados

Foi encontrada uma pequena variedade de taninos condensados (flavan-3-ols) nas cascas, sementes e polpa de jabuticabas (Tabela 2.6). A catequina e a galocatequina foram os principais flavan-3-ols monoméricos encontrados.

A jabuticaba branca-vinho apresentou o maior teor de taninos condensados na polpa e semente, já a jabuticaba sabará apresentou o maior teor nas cascas. A polpa da jabuticaba branca-vinho merece destaque por apresentar uma concentração total de taninos condensados muito superior às demais polpas. Levando em consideração que a polpa é a maior fração das frutas, essa característica torna essa espécie uma interessante fonte de taninos condensados.

A reação com o pyrogallol induz a despolimerização de moléculas de taninos condensados. Após esta reação, os teores de catequina e galocatequina aumentaram, indicando que esses compostos podem ser encontrados polimerizados em moléculas maiores. O grau de polimerização, representado por MPD, foi maior nas sementes, onde houve também a maior concentração de taninos condensados, exceto para a jabuticaba branca-vinho. De forma geral, os maiores graus de polimerização foram encontrados para as jabuticabas canaã-açu e sabará, para as três frações dos frutos estudadas. A polimerização está relacionada com a perda da adstringência (Fulcrand, Doco, Es-Safi,

Cheyrier & Moutounet, 1996), o que favorece o sabor da fruta, essa característica é interessante principalmente para a jabuticaba sabará, que é a mais utilizada em processos tecnológicos para a obtenção de produtos alimentícios.

Tabela 2.6. Concentração de taninos condensados em casca, polpa e semente de jabuticabas por HPLC-MS/MS/MRM. Valores em mg/100 g de fruto.

Flavan-3-ol	Catequina	Galocatequina	Flavan-3-ols totais	MDP
Branca-Vinho				
Casca	0,069 ± 0,005 c	0,070 ± 0,032 bc	2,171 ± 0,170 c	4,328 ± 0,847 a
Polpa	1,750 ± 0,282 a	0,768 ± 0,284 a	60,120 ± 0,263 a	4,135 ± 0,120 b
Semente	0,947 ± 0,083 a	0,562 ± 0,074 c	12,567 ± 3,823 a	2,972 ± 0,622 b
Cabinho				
Casca	0,000 ± 0,000 d	0,045 ± 0,009 c	0,486 ± 0,266 d	1,580 ± 0,471 b
Polpa	0,141 ± 0,026 b	0,445 ± 0,041 b	1,642 ± 0,223 c	2,118 ± 0,339 c
Semente	0,958 ± 0,039 a	3,103 ± 0,241 a	8,034 ± 0,643 b	2,800 ± 0,603 b
Canaã-açu				
Casca	0,177 ± 0,034 b	0,095 ± 0,007 b	3,871 ± 0,415 b	4,259 ± 0,606 a
Polpa	0,217 ± 0,019 b	0,689 ± 0,119 ab	5,798 ± 1,849 b	5,525 ± 0,950 a
Semente	0,521 ± 0,132 bc	1,529 ± 0,521 b	4,026 ± 0,415 c	5,744 ± 0,278 a
Paulista				
Casca	0,000 ± 0,000 d	0,000 ± 0,000 d	0,680 ± 0,073 d	1,867 ± 0,339 b
Polpa	0,000 ± 0,000 b	0,119 ± 0,038 c	2,403 ± 0,416c	3,745 ± 0,318 b
Semente	0,671 ± 0,147 b	1,002 ± 0,039 c	6,308 ± 1,077 bc	5,918 ± 0,576 a
Sabará				
Casca	0,820 ± 0,010 a	0,774 ± 0,029 a	4,945 ± 0,318 a	3,668 ± 0,918 a
Polpa	0,000 ± 0,000 b	0,104 ± 0,097 c	1,069 ± 0,186 c	4,414 ± 0,962 ab
Semente	0,420 ± 0,068 c	0,837 ± 0,165 c	8,371 ± 1,235 b	3,444 ± 0,690 b

MPD- Grau médio de polimerização. Em uma mesma coluna, para a mesma fração do fruto, letras diferentes correspondem a diferenças estatisticamente significantes pelo test a $p > 0,005$

4. Conclusões

A partir das análises das diferentes jabuticabas pode-se concluir que a composição antocianina não diferiu qualitativamente entre as espécies. Já em relação à composição de flavonóis, houve diferenças qualitativas entre as espécies de jabuticaba estudadas. As espécies apresentaram grande diversidade de flavonóis e derivados de ácido elágico e metilelágico, principalmente as duas variedades da espécie *P. cauliflora*, paulista e canã-açu. Entre esses compostos, estão incluídos derivados poucos comuns, com acilações com os ácidos acético, gálico, ferúlico e *p*-coumárico. Tais compostos foram descritos em jabuticabas pela primeira vez. A vescalagina e castalagina merecem destaque por ser quase exclusivamente os elagitaninos presentes nas polpas e sementes de jabuticaba, com destaque ainda maior para as sementes. A jabuticaba sabará apresentou a maior concentração de antocianinas e a branca-vinho apresentou a maior concentração de compostos fenólicos, embora apresente cascas verdes, com ausência de antocianinas.

5. Referências bibliográficas

- Abe, L. T., Lajolo, F. M., Genovese, M. I. (2012). Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(8), 1679–1687.
- Alezandro, M. R., Dubé, P., Desjardins, Y., Lajolo, F. M., Genovese, M. I. (2013). Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba : *Myrciaria jaboticaba* (Vell .) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. *Food Research International*, 54, 468–477.
- Ascheri, D. P. R., Ascheri, J. L. R., Carvalho, C. W. P. (2006). Caracterização da farinha de bagaço de jaboticaba e propriedades funcionais dos extrusados. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 26(4), 897–905. <http://doi.org/10.1590/S0101-20612006000400029>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [http://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](http://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cao, G., Sofic, E., Priora, R. L. (1997). Antioxidant and Prooxidant Behavior of Flavonoids: Structure-Activity Relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(5), 749–760.
- Castillo-Munõz, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Hermosín-Gutiérrez, I. (2007). Flavonol Profiles of *Vitis vinifera* Red Grapes and Their Single-Cultivar Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 992–1002.
- Citadin, I., Danner, M. A., Sasso, S. A. Z. (2010). Jaboticaba trees (*Plinia* sp.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32(2), 656.
- Comandini, P., Lerma-García, M. J., Simó-Alfonso, E. F., Toschi, T. G (2014). Tannin analysis of chestnut bark samples (*Castanea sativa* Mill .) by HPLC-DAD – MS, *Food Chemistry*, 15, 157, 290–295, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.02.003.
- Danner, M. A., Citadin, I., Fernandes Júnior, A. A., Assmann, A. P., Mazaro, S. M., Sasso, S. A. Z. (2007). Formação de Mudas de Jaboticabeira (*Plinia* sp.) em diferentes substratos e tamanhos de recipientes. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29(1), 179–182.
- Fournier-Level, A., Huguene, P., Verriès, C., This, P., Ageorges, A. (2011). Genetic mechanisms underlying the methylation level of anthocyanins in grape (*Vitis vinifera* L.). *BMC Plant Biology*, 11(1), 179. <http://doi.org/10.1186/1471-2229-11-179>

- Fracassetti, D., Costa, C., Moulay, L., Tomás-Barberán, F. A. (2013). Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*). *Food Chemistry*, 139, 578–588, doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.121
- Fulcrand, H., Doco, T., Es-Safi, N. E., Cheynier, V., Moutounet, M. (1996). Study of the acetaldehyde induced polymerisation of flavan-3-ols by liquid chromatography-ion spray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 752(1-2), 85–91.
- García-Estévez, I., Escribano-Bailón, M. T., Rivas-Gonzalo, J. C., Alcalde-Eon, C. (2010). *Analytica Chimica Acta* Development of a fractionation method for the detection and identification of oak ellagitannins in red wines, 660, 171–176. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.020>
- Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. 2ème partie mesure, origine et interpretation. *Connaissance de La Vigne et Du Vin*, 18, 253–271.
- Grottaglie, L. L., García-Estévez, I., Romano, R., Manzo, N., Rivas-Gonzalo, J. C., Alcalde-Eon, C., Escribano-Bailón, M. T. (2015). Effect of size and toasting degree of oak chips used for winemaking on the ellagitannin content and on the acutissimin formation. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2), 934–940.
- Hacke, A. C. M., Granato, D., Maciel, L. G., Weinert, P. L., Prado-Silva, L., Alvarenga, V. O., Rosso, N. D. (2016). Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seeds : Chemical Characterization and Extraction of Antioxidant and Antimicrobial Compounds. *Journal of Food Science*, 00(0), 1–12. <http://doi.org/10.1111/1750-3841.13405>
- He, F., Mu, L., Yan, G. L., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang, J., Duan, C. Q. (2010). Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*, 15(12), 9057–9091. <http://doi.org/10.3390/molecules15129057>
- Inada, K. O. P., Oliveira, A. A., Revorêdo, T. B., Martins, A. B. N., Lacerda, E. C. Q., Freire, A. S., Braz, B. F., Santelli, R. E., Torres, A. G., Perrone, D., Monteiro, M. C. (2015). Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. *Journal of Functional Foods*, 17, 422–433. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.002>
- Lago-Vanzela, E. S., Silva, R., Gomes, E., García-Romero, E., Hermosín-Gutierrez, I. (2011). Phenolic Composition of the Edible Parts (Flesh and Skin) of Bordô Grape (*Vitis labrusca*) Using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 13136–13146.
- Landete, J. M. (2011). Ellagitannins , ellagic acid and their derived metabolites : A

- review about source , metabolism , functions and health. *Food Research International*, 44, 1150–1160. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.027>
- Leite-Legatti, A. V., Batista, A. G., Dragano, N. R. V., Marques, A. C., Malta, L. G., Riccio, M. F., Eberlin, M. N., Machado, A. R. T., Carvalho-Silva, L. B., Ruiz, A. L. T. G., Carvalho, J. E., Pastore, G. M., Morástica-Júnior, M. R. (2012). Jaboticaba peel : Antioxidant compounds , antiproliferative and antimutagenic activities. *Food Research International*, 49, 596–603.
- Lorenzi, H., Bacher, L. B., Lacerda, M., Sartori, S. *Frutas Brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura)*. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, (2006).
- Navarro, M., Kontoudakis, N., Giordanengo, T., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Fort, F., Zamora, F. (2016). Oxygen consumption by oak chips in a model wine solution ; Influence of the botanical origin , toast level and ellagitannin content. *Food Chemistry*, 199, 822–827. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.08>.
- Ough, C. S., Amerine, A. (1988). *Methods Analysis of Musts and Wines*. Wiley. Retrieved from <https://books.google.co.uk/books?id=QcNIQgAACAAJ>
- Plaza, M., Batista, Â. G., Cazarin, C. B. B., Sandahl, M., Turner, C., Östman, E., Maróstica Júnior, M. R. (2016). Characterization of antioxidant polyphenols from *Myrciaria jaboticaba* peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: a pilot clinical study. *Food Chemistry*. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.142>
- Ribéreau-Gayon, P., Stonestreet, E. (1965). Le dosage des anthocyanes dans les vins rouges. *Bulletin de La Société de Chimie*, 9, 2649–2652.
- Romani, A., Campo, M., Pinelli, P. (2012). HPLC/DAD/ESI-MS analyses and anti-radical activity of hydrolyzable tannins from different vegetal species. *Food Chemistry*, 130(1), 214–221. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.009>
- Santos, D. T., Veggi, P. C., Meireles, M. A. A. (2012). Optimization and economic evaluation of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from jaboticaba skins. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 444–452. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.08.022>
- Scotti, L., Scotti, M. T., Cardoso, C., Pauletti, P., Castro-Gamboa, I., Bolzani, V. da S., Ferreira, E. I. (2007). Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 43(2), 153–166.
- Silva, J. K., Batista, Â. G., Cazarin, C. B. B., Dionísio, E. S. B., Marques, A. T. B.,

- Maróstica Junior, M. R. (2016). Functional tea from a Brazilian berry: Overview of bioactives in the aqueous extract of jaboticaba peel. *LWT - Food Science and Technology*, DOI: 10.1016/j.lwt.2016.06.016.
- Sobeh, M., Elhawary, E., Peixoto, H., Labib, R. M., Handoussa, H., Swilam, N., El-khatib, A. A. (2016). Identification of phenolic secondary metabolites from *Schotia brachypetala* Sond . (Fabaceae) and demonstration of their antioxidant activities in *Caenorhabditis elegans*. *PeerJ Preprints*, 4.
<http://doi.org/10.7287/PEERJ.PREPRINTS.1768V1>
- Trevisan, L. M., Bobbio, F. O., Bobbio, P. A. (1972). Carbohydrates, Organic Acids and Anthocynins of *Myrciaria jaboticaba* , Berg. *Journal of Food Science*, 37(6), 818–819.
- Veggi, P. C., Santos, D. T., Meireles, M. A. A. (2011). Anthocyanin extraction from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins by different techniques: economic evaluation. *Procedia Food Science*, 1(Icef 11), 1725–1731.
<http://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.254>
- Vivas, N., Laguerre, M., Boissel, I. P., Gaulejac, N. V., Nonier, M. F. (2004). Conformational Interpretation of Vescalagin and Castalagin Physicochemical Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 2073–2078.
- Wu, S., Long, C., Kennelly, E. J. (2013). Phytochemistry and health benefits of jaboticaba , an emerging fruit crop from Brazil. *Food Research International*, 54, 148–159.

CAPÍTULO III. PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FERMENTADOS ALCOÓLICOS E LICORES ARTESANAIS DE JABUTICABA (PLINIA JABOTICABA).

Resumo

A jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (DC) Berg.) é considerada uma das principais fontes brasileiras de antocianinas. Muito apreciada, seu consumo ocorre nas formas in natura e a partir da elaboração de produtos processados, tais como geleias, doces, licores e fermentados alcoólicos. Embora populares, os fermentados alcoólicos e licores de jaboticaba são produzidos de maneira artesanal, com pouco controle de qualidade e falta de padronização. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do tempo de maceração (24, 48 e 72 horas) para a produção de fermentados alcoólicos e da fonte de etanol (cachaça e álcool de cereais) na produção de licores de jaboticaba. As bebidas foram avaliadas quanto à composição fenólica e aceitação dos produtos pelos consumidores. Os processos de infusão para a obtenção de licores foram capazes de extrair os compostos fenólicos dos frutos de maneira mais eficiente do que o processo fermentativo, uma vez que este tipo de bebida apresentou maiores concentrações de compostos fenólicos totais e taninos do que os fermentados alcoólicos. Os teores de antocianinas foram superiores nos fermentados alcoólicos exceto para aquele submetido a 24 h de maceração, o qual apresentou também menores teores de compostos fenólicos totais e taninos. A atividade antioxidante de fermentados e licores foi semelhante. Os licores foram mais bem aceitos pelos consumidores do que os fermentados alcoólicos, fato que os tornam mais interessantes para a produção e comercialização.

1. Introdução

A jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (DC) Berg.) é tida como uma das principais fontes tipicamente brasileiras de antocianinas, além de possuir grande quantidade de taninos e outros compostos fenólicos. No entanto, seu consumo é restrito, sendo este preferencialmente in natura e somente na época da safra, que ocorre uma vez ao ano e tem curta duração (Leite-Legatti et al., 2012). Além disso, no consumo in natura, somente a polpa é aproveitada. As cascas, onde estão concentradas as antocianinas e outros compostos fenólicos, são descartadas por não apresentarem sabor agradável. Uma forma de melhor aproveitar o fruto e estender seu consumo para além da safra é a obtenção de produtos processados. Nesse contexto, as bebidas alcoólicas, dentre elas a bebida fermentada e o licor, são as mais popularmente produzidas e comercializadas.

Segundo o decreto nº 6871 de 04 de junho de 2009, “Fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida pela fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura de uma única espécie, do respectivo suco integral ou concentrado, ou polpa, que poderá nestes casos, ser adicionado de água” (Brasil 2009). Ainda de acordo com o mesmo decreto, “Licor é a bebida com graduação alcoólica de quinze a cinquenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, com percentual de açúcar superior a trinta gramas por litro”.

Embora populares, os fermentados alcoólicos e licores de jabuticaba são produzidos de maneira artesanal, estando restritos ao mercado consumidor regional, onde possuem grande aceitação. A forma artesanal de produção também resulta em baixo controle de qualidade e na falta de padronização do produto. Na maioria das vezes os produtores desconhecem as técnicas de obtenção das bebidas, negligenciando etapas e não aproveitando o potencial da composição fenólica e sabor dos frutos na obtenção de bebidas de qualidade. Por se tratar de um mercado informal e pelo emprego de tecnologias muito simples, os fermentados e licores de jabuticaba são muito pouco estudados, sobretudo os licores, para os quais praticamente não existem trabalhos de pesquisa. O conhecimento acerca dos modos de produção das bebidas sob o perfil fenólico e capacidade antioxidante podem contribuir para o aumento da popularidade das bebidas e, até mesmo, para o estabelecimento de um produto tipicamente brasileiro, de baixo custo e boa aceitação.

Na obtenção de vinhos tradicionais, a etapa de maceração, na qual os compostos das cascas e sementes das uvas são extraídos para o mosto de fermentação, é decisiva para a qualidade das bebidas produzidas (Gordillo et al., 2016). Esta etapa tem duração variável, de acordo com a safra, o tipo de uva e o vinho que se deseja produzir, sendo uma importante decisão a ser tomada pelo profissional da vinícola responsável pela fermentação. Na obtenção de fermentados de jabuticaba, o tempo de maceração é muitas vezes negligenciado pelos produtores, os quais deixam as cascas e sementes em contato com o mosto durante todo o tempo de fermentação, sem qualquer controle sob o sabor adstringente que possa ocasionar o excesso de taninos nas bebidas.

Na elaboração dos licores, por se tratar de uma bebida por infusão, a escolha da fonte de etanol é uma das variáveis mais importantes no processo. A maioria dos licores tradicionais utilizam o álcool de cereais e a vodca como matéria-prima (Teixeira, Simões, Rocha, Saraiva & Junqueira, 2011), na produção artesanal é comum o emprego da cachaça, pelo menor custo e maior disponibilidade. No entanto, nem sempre é

utilizada uma cachaça de qualidade, o que pode prejudicar a qualidade da bebida. Além disso, este tipo de matéria-prima pode conter outros compostos, tais como metais, os quais podem comprometer a estabilidade dos pigmentos presentes no fruto.

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo a produção de fermentados alcoólicos e licores de jabuticaba, de maneira artesanal, utilizando diferentes tempos de maceração para os fermentados e duas diferentes fontes de etanol para os licores. A caracterização das bebidas obtidas foi realizada pelos aspectos quantitativos da composição fenólica e a avaliação da aceitação dos produtos pelos consumidores.

2. Material e métodos

2.1. Aquisição e tratamento da matéria-prima

Os frutos de jabuticaba, da espécie *sabará*, foram colhidos em novembro de 2013 no pomar do Setor de Fruticultura do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa- Minas, Gerais. Os frutos foram selecionados quanto ao grau de maturação e injúrias, submetidos à higienização por água corrente e embalados em sacos plásticos em porções de 1 kg. Estes foram mantidos congelados em ultra freezer (-80 °C) até o momento do processamento. A caracterização da sua porção fenólica dos s foi realizada conforme descrita no capítulo 2.

2.2. Elaboração dos fermentados alcoólicos

A elaboração dos fermentados alcoólicos de jabuticaba ocorreu por meio do processo de fermentação em recipientes de vidro com capacidade nominal de 5 L. Foram selecionados 1 kg de jabuticaba esmagadas manualmente, 1,5 L de água mineral, 1,0 L de xarope contendo 700 g de sacarose e 0,5 L de uma suspensão contendo 10 g de leveduras liofilizadas (*Saccharomyces cerevisiae*) da marca comercial Fleischmann. Foram produzidos 3 fermentados que se diferenciaram entre si pelo tempo de maceração, ou seja, o tempo de permanência das cascas, sementes e polpa de jabuticaba com o mosto de fermentação. Os tempos de maceração empregados foram de 24, 48 e 72 h, após os quais foi realizado o processo de descuba seguido da continuação do processo fermentativo. Após o fim da fermentação, quando era observado o depósito de leveduras no fundo do recipiente, o fim da formação de bolhas de CO₂ e a estabilização do teor de sólidos solúveis totais (°Brix), foi realizado o processo de trasfega, obtendo-se assim bebidas límpidas. Os fermentados foram mantidos sob refrigeração (4 °C ±1) por 7 dias, seguidos de uma segunda trasfega e envasamento em garrafas de vidro, de cor âmbar, com capacidade para 3,5 L. No momento do envase, foram adicionados 0,05

g/L de metabissulfito de potássio com finalidade conservante. Todos os fermentados foram elaborados em triplicata.

2.3. Elaboração dos licores

Os licores de jabuticaba foram preparados a partir do sistema de infusão simples, utilizando-se dois tipos de fonte de etanol. O primeiro deles, a cachaça, produzida artesanalmente no estado de Minas Gerais, e o segundo, o álcool de cereais, adquirido no comércio local.

Foram utilizados 2,5 L da base (cachaça ou álcool de cereais), 1 kg de jabuticaba e 0,5 L de calda contendo 600 g de sacarose. O álcool de cereais foi previamente diluído em água com o objetivo de aproximar o teor alcoólico ao da cachaça. As jabuticabas foram esmagadas manualmente e colocadas em contato com a fonte de etanol, em recipientes de vidro com capacidade nominal de 5 L. Após o processo de infusão (94 h), os frutos foram retirados e foi adicionada a calda. A calda foi preparada por meio da adição da sacarose em água previamente aquecida até a fervura, para facilitar a dissolução da sacarose, seguida de resfriamento total antes da adição ao licor, com o objetivo de evitar a degradação excessiva de antocianinas por meio da temperatura elevada. Os licores foram mantidos em repouso e na ausência de luz durante dois meses. Após esse tempo, foram filtrados e envasados em garrafas de vidro, de coloração âmbar, com capacidade para 3,5 L. Cada tipo de licor foi preparado em triplicata.

2.4. Análise da Cachaça e Álcool de Cereais

Amostras da cachaça e do álcool de cereais utilizados na elaboração dos licores foram analisadas em laboratório credenciado para análise de cachaças, Laboratório Amazile Biagioni Maia (LABM), localizado em Belo Horizonte, MG. Os testes realizados foram: teor alcoólico aparente e real por densitometria, acidez total e acidez volátil, por titulação, ésteres totais, aldeídos, álcool superiores totais, metanol, furfural, 1-butanol e 2-butanol por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama, cobre por espectrofotometria, chumbo e arsênio por absorção atômica e carbamato de etila por cromatografia gasosa com detecção de massa.

2.5. Caracterização dos produtos

2.5.1. pH

O potencial hidrogeniônico das bebidas obtidas foi determinado por leitura direta em potenciômetro digital, previamente calibrado com padrões de pH 4,0 e 7,0

conforme as especificações da Organização Mundial da Uva e do Vinho (International Organisation of vine and wine, 2015).

2.5.2. Compostos fenólicos totais

Os teores de compostos fenólicos totais foram estimados por meio do método de Folin-Ciocalteu (Ough & Amerine, 1988). A quantificação foi feita por curva de calibração utilizando-se o ácido gálico como padrão.

2.5.3. Antocianinas totais e polimerizadas

As concentrações de antocianinas totais e polimerizadas foram determinadas pelo método de descoloração por dióxido de enxofre (Ribéreau-Gayon & Stonestreet, 1965). A quantificação foi realizada por curva de calibração utilizando a cianidina-3-glicosídeo como padrão.

2.5.4. Açúcares

Os açúcares (glicose, frutose e sacarose) foram analisados conforme a metodologia oficial para vinhos e mosto da Organização Internacional da Uva e do Vinho (International Organisation of vine and wine, 2015). Os açúcares foram diretamente determinados por HPLC e detectados por refratometria.

Esse teste foi realizado também na polpa do fruto utilizado como matéria-prima.

2.5.5. Teor alcoólico

O teor alcoólico das bebidas foi determinado por densitometria, conforme proposto pela OIV e descrito pela Embrapa (2010), sendo utilizados densímetros do tipo Anton Paar.

2.5.6. Taninos

Os teores de taninos totais foram determinados pelo método de reação com ácido clorídrico, conforme descrito por Bate-Smith (Glories, 1984).

2.5.7. Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante foi determinada pelo método da capacidade de captura de radicais DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil) (Brad-Williams, Cuvelier & Berset, 1995). Os resultados foram expressos em equivalentes de μmol de Trolox.

2.5.8. Intensidade de cor, tonalidade e composição da cor

A intensidade da cor, tonalidade e a composição da cor das bebidas foram determinadas por leitura das absorbâncias nos comprimentos de onda de 420, 520 e

620 nm, utilizando-se cubetas de 1 mm de caminho óptico (Ribéreau-Gayon, Glories, Maujean & Duboudieu, 2002).

Os parâmetros analisados foram calculados segundo as equações a seguir:

$$IC = Abs_{420} + Abs_{520} + Abs_{620} \quad (\text{eq. 1})$$

$$Ton = \frac{Abs_{420}}{Abs_{520}} \quad (\text{eq. 2})$$

$$420(\%) = \frac{Abs_{420}}{IC} \times 100 \quad (\text{eq. 3})$$

$$520(\%) = \frac{Abs_{520}}{IC} \times 100 \quad (\text{eq. 4})$$

$$620(\%) = \frac{Abs_{620}}{IC} \times 100 \quad (\text{eq. 5})$$

Onde,

IC= intensidade de cor

Ton= tonalidade

Abs₄₂₀= Absorbância da amostra a 420 nm

Abs₅₂₀= Absorbância da amostra a 520 nm

Abs₆₂₀= Absorbância da amostra a 620 nm

420(%)=porcentagem da absorbância a 420 nm sob a composição da intensidade da cor.

520(%)= porcentagem da absorbância a 520 nm sob a composição da intensidade da cor

620(%)= porcentagem da absorbância a 620 nm sob a composição da intensidade da cor

2.5.9. Análise das antocianinas monoméricas e ácido elágico por HPLC-DAD-ESI-MSⁿ

A separação, identificação e quantificação do teor de antocianinas e ácido elágico por HPLC foram executados pelo sistema Agilent 1100 Series (Agilent-Alemanha) equipado com um sistema de detecção UV-Vis tipo arranjo de diodo (DAD, G1315B) e um detector de espectroscopia de massa tipo armadilha de íons (LC/MSD Trap VL, G2445C VL) com sistema de ionização por eletrospray (sistema HPLC-DAD-ES-MSⁿ). O sistema HPLC e o DAD estavam acoplados ao processador de dados Agilent ChemStation (versão B.01.03). Os dados de espectroscopia de massas foram processados pelo software Agilent LC/MS versão 5.3.

Para a análise de antocianinas, foram utilizados 20 µL das bebidas diluídas em HCl 0,1 N (1:1), injetadas em uma coluna de fase reversa (Zorbax Eclipse XDB-C18 – 2,1 X

150 mm; 3,5 μ m, Agilent) termostaticada a 40 °C, com um fluxo da fase móvel de 0,19 mL/min. O solvente A foi composto de acetonitrila/água/ácido fórmico (3/88,5/8,5, v/v/v) e o solvente B de acetonitrila/água/ácido fórmico (50/41,5/8,5, v/v/v). O seguinte gradiente de eluição foi utilizado: zero min (97% A e 3% B), 20 min (72% A e 28% B), 34 min (57% A e 43% B), 36 min (100% B), 42 min (100% B), 45 min (97% A e 3% B). Para a identificação o sistema ESI/MS-MS foi operado no modo positivo ionização. Os parâmetros utilizados foram: gás de secagem (N_2) com fluxo de 8 L/min e temperatura de secagem de 325 °C e nebulização N_2 a 50 psi. Os parâmetros de ionização e fragmentação foram otimizados pela injeção direta de soluções-padrão de malvidina 3-glicosídeo, utilizando um intervalo de escaneamento de 50-1200 m/z. A identificação foi baseada nos dados espectroscópicos (UV-Vis e MS/MS) obtidos por padrões autênticos previamente descritos e reportados (Inada et al., 2015; Rebello et al., 2013). Para a quantificação foram utilizadas as áreas dos gráficos dos cromatogramas (DAD) obtidos a 520 nm.

Para a análise do ácido elágico, foram evaporados 3 mL dos fermentados e licores de jaboticaba e redissolvidos em 2 mL de ácido acético 2,5% (v/v). As amostras obtidas foram então passadas por cartucho de Sephadex LH-20 (capacidade de 6 mL) (Sigma Aldrich, San Luis, MO, USA), que foram preenchidos até 3 cm de altura com uma suspensão da resina em metanol, preparada várias horas antes. As colunas foram condicionadas com 4 mL de metanol seguidos por 4 mL de água. Após a passagem das amostras, as colunas foram lavadas com 2 mL de água, 2 mL de etanol 96% (v/v) e 1 mL de metanol. Foram passados então 10 mL de metanol seguidos de 10 mL de acetato de etila, que foram recolhidos em balão e levados à evaporação em rota-vapor. Após a evaporação, a fração foi redissolvida em 1,5 mL da solução de ácido fórmico 0,4% (v/v) em água e diretamente injetados no sistema de HPLC. Foram injetados 20 μ L das amostras em uma coluna de fase reversa Ascentis Express C18 (fused core, 4,6 \times 150 mm, partículas de 2,7 μ m, Supelco Analytical), termoestaticada a 40 °C. Foram utilizadas as fases móveis: Fase A: Água-Ácido Fórmico (0,4%), Fase B: Metanol-Ácido Fórmico (0,4%). O fluxo foi de 0,28 mL/min. O gradiente de eluição para o solvente B foi: 0 min, 0%; 3 min, 0%; 25 min, 12,5%; 40 min, 50%; 45 min, 100%; 50 min, 100%; 55 min, 0,0%. A identificação dos compostos foi baseada no espectro de massas e padrões comerciais (ácido elágico- Sigma-Aldrich). A quantificação foi realizada a partir de curvas de calibração com detecção a 280,8 nm.

2.6. Análise sensorial

A avaliação sensorial foi realizada mediante ao teste de aceitação dos fermentados e licores de jabuticaba. Os testes foram realizados após as bebidas atingirem 1,5 anos de armazenamento. As análises foram conduzidas no Laboratório de Análise Sensorial (DTA/UFV). Os testes foram aplicados segundo metodologia descrita por Minin (2013), sendo avaliados os atributos de cor, aroma e sabor. Os fermentados e os licores foram analisados em dias diferentes, sendo que para cada tipo de bebida foi utilizado um dia de análise. Os provadores receberam as amostras codificadas com números de três dígitos e foram solicitados a avaliar cada atributo da amostra. A avaliação foi feita utilizando uma ficha estruturada em escala hedônica de 5 pontos, variando de “gostei muito” a “desgostei muito”. Os julgadores, somente maiores de 18 anos, foram selecionados ao acaso. Os testes foram realizados com 50 consumidores para cada dia de análise, em condições laboratoriais e cabines individuais sob luz branca. As bebidas foram servidas em copos descartáveis de 50 mL.

2.7. Análise estatística

Os resultados quantitativos foram expressos por meio de média e desvio-padrão. Os dados foram comparados pelo teste de ANOVA e as médias pelo teste t a 0,05 de significância. Os testes estatísticos foram executados pelo software SAS versão 9.0.

3. Resultados e discussão

3.1. Caracterização da cachaça e do álcool de cereais utilizados na elaboração dos licores

A cachaça utilizada na elaboração dos licores está em conformidade com a legislação vigente que regulamenta a fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para a cachaça, Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA 2005).

A diferença química entre os dois produtos (Tabela 3.1) é intrínseca a cada produto e refletirá nas características dos licores obtidos. Dentre os parâmetros analisados, a acidez, o teor de compostos voláteis, principalmente os álcoois superiores e o teor de cobre da cachaça são os mais importantes do ponto de vista da qualidade final dos licores. A cachaça possui acidez mais elevada do que o álcool de cereais, além de possuir certa quantidade de cobre. Esses aspectos podem influenciar na estabilidade das antocianinas e outros compostos presentes nos licores (Malacrida & Motta, 2005). A

composição volátil poderá influenciar diretamente nas características organolépticas da bebida, influenciando a aceitação dos consumidores (Molina et al., 2009).

Tabela 3.1. Análise físico-química da cachaça e álcool de cereais utilizados na elaboração de licores artesanais de jabuticaba.

Parâmetro	Unidade de medida	Cachaça	Álcool de cereais
Teor alcoólico aparente	°GL a 20 °C	45,4	95,66
Teor alcoólico real		45,4	n.a.
Acidez total	mg de ácido acético/100	62,3	0,6
Acidez volátil	mL de etanol	60,4	n.a.
Acetato de etila		33,9	n.d
Lactato de etila		24,6	n.d.
Aldeído acético		10,5	n.a.
Álcoois superiores totais		197,3	n.a.
Álcool n-propílico	mg/100 mL de etanol	69,2	n.d.
Álcool isobutílico		21,6	n.a.
Álcool isoamílico		106,5	0,23
Álcool n-butílico		1,9	n.a.
Álcool sec-butílico		3,8	n.a.
Álcool metílico		7,5	n.d.
Furfural		0,6	n.d.
Cobre		mg/L	4,1
Arsênio		0,2	0,2
Chumbo	µg/L	n.d	n.d
Carbamato de etila		<50	<50

n.a. não avaliado. n.d. não detectado

3.2. Caracterização química dos licores e fermentados alcoólicos

A sacarose adicionada ao mosto de fermentação foi completamente hidrolisada pelas leveduras, originando frutose e glicose (Tabela 3.2). Esses açúcares redutores e fermentescíveis, somados aos naturalmente presentes na jabuticaba (0,261 g/100 g de glicose e 0,388 g/100 g de frutose e 5,356 g/100g de sacarose) foram fermentados pelas leveduras, originando o etanol. A glicose é prontamente fermentada por leveduras da espécie *S. cerevisiae*, bem como outros açúcares, desde que haja mecanismo de transporte da molécula pela membrana plasmática e enzimas capazes de realizar a fermentação. A frutose, isômero da glicose, é rapidamente convertida e metabolizada, já a sacarose que é hidrolisada pela enzima invertase, originando uma molécula de frutose e uma de glicose (Maris et al., 2006).

Tabela 3.2. Caracterização de fermentados alcoólicos e licores de jabuticaba produzidos de maneira artesanal.

Parâmetro analisado	Amostra da bebida de jabuticaba				
	FA 24	FA 48	FA 72	L Ac	L Ca
Glicose + Frutose (g/L)	4,400 ± 2,116	4,300 ± 1,905	4,700 ± 2,207	88,833 ± 13,605	82,000 ± 23,754
Sacarose (g/L)	n.d	n.d.	n.d.	114,333 ± 8,129	94,333 ± 20,508
Açúcares totais (g/L)	4,400 ± 2,116 b	4,300 ± 1,905 b	4,700 ± 2,207 b	203,167 ± 7,006 a	176,333 ± 44,185 a
Etanol °GL	9,663 ± 0,557 b	10,017 ± 0,243 b	8,797 ± 0,525 b	22,280 ± 0,374 a	23,217 ± 0,610 a
pH	3,096 ± 0,029 b	3,157 ± 0,068 b	3,128 ± 0,023 b	3,547 ± 0,016 a	3,536 ± 0,006 a
Compostos fenólicos totais (mg/L)	684,444 ± 36,332 c	855,370 ± 40,621 b	861,574 ± 84,262 b	1056,759 ± 139,855 a	1087,407 ± 52,412 a
Capacidade antioxidante (µmol Tolox/L)	5,691 ± 0,312 b	6,633 ± 0,143 a	6,854 ± 0,512 a	6,860 ± 0,228 a	7,071 ± 0,073 a
Antocianinas Totais (mg/L)	19,394 ± 1,892 d	33,030 ± 5,249 ab	35,758 ± 2,922 a	27,273 ± 3,963 bc	22,424 ± 0,525 cd
Antocianinas Polimerizadas (mg/L)	5,758 ± 0,525 c	9,091 ± 0,909 b	9,394 ± 0,525 b	12,424 ± 1,389 a	13,939 ± 0,525 a
Taninos (mg/L)	11,082 ± 5,224 b	14,520 ± 2,303b	15,864 ± 3,602 b	81,142 ± 7,686 a	90,449 ± 11,243 a

FA24, FA48 e FA72- fermentados alcoólicos submetidos a 24, 48 e 72 h de maceração, respectivamente. L Ac- licor produzido com álcool de cereais, L Ca- licor produzido com cachaça. n.d. não detectado. Valores em uma mesma linha, com letras iguais não diferem estatisticamente entre si ($p > 0,05$).

Embora a fermentação tenha ocorrido de forma completa, quando se observou o cessar da atividade microbiana, o açúcar não foi totalmente consumido pela fermentação, restando em média 4,500 g/L de açúcares. O fim da atividade microbiana pode ocorrer devido ao aumento do teor de etanol no meio e redução do pH. Embora a espécie *S. cerevisiae* resista a altas concentrações de etanol (até 18% v/v), o crescimento do microrganismo pode cessar em concentrações próximas a 10% (Lin & Tanaka, 2006).

Os valores de açúcares totais estão coerentes com o conteúdo de sacarose adicionada (600 g para 3 L), contando que as pequenas variações nos valores podem ser atribuídas ao conteúdo de açúcares iniciais da jabuticaba, grau de pureza do açúcar utilizado, à pesagem do produto e possíveis perdas durante o processo de preparo da calda. Nos licores, a sacarose também foi parcialmente hidrolisada, originando frutose e glicose. Esse processo ocorre em meio ácido, é comum em licores e desejável uma vez que a inversão da sacarose impede a sua cristalização (Tritton, 1975).

O teor de etanol obtido para as duas bebidas também está coerente com o método de obtenção de cada uma delas, além de estar de acordo com a legislação brasileira que preconiza que fermentados alcoólicos de frutas devem conter de 4 a 14% (v/v) de etanol e licores de 15 a 54% em volume a 20 graus Celsius (Brasil, 2009). O tempo de maceração empregado na elaboração dos fermentados não influenciou no rendimento da fermentação.

Tanto os licores quanto os fermentados são bebidas com baixos valores de pH. Este fato está relacionado à jabuticaba, que apresenta acidez elevada. O pH da cachaça (6,88) e do álcool de cereais (4,13) não afetou o pH final dos licores, sendo que para esta característica, as bebidas não obtiveram diferença estatisticamente significativas. Os fermentados apresentaram valores ainda menores que os licores, o que pode ser uma consequência da fermentação alcoólica. Durante este processo, as leveduras produzem alguns tipos de ácidos orgânicos, tais como pirúvico, butanedióico e succínico, como resultado do metabolismo celular (Ribéreau-Gayon et al., 2002). Em trabalhos anteriores, foram encontrados valores de pH entre 3,19 e 3,41 (Chiarelli, Nogueira & Venturini-Filho, 2005) e 3,16 e 3,80 (Silva et al., 2008) para fermentados alcoólicos de jabuticaba, valores comparáveis ao encontrados neste trabalho.

Os licores, devido ao maior teor alcoólico, foram capazes de extrair melhor os compostos fenólicos totais presentes nos frutos de jabuticaba em relação aos fermentados. O fermentado submetido a 24 h de maceração apresentou menor teor de compostos fenólicos totais, fato esperado pelo menor tempo de contato entre as cascas

do fruto e o meio de fermentação. Para os demais fermentados, não houve diferença significativa para este parâmetro. Tal comportamento também é observado para a análise do teor de antocianinas e atividade antioxidante. Já a concentração de taninos não diferiu estatisticamente entre as três bebidas deste tipo.

Os fermentados submetidos a 48 e 72 h de maceração apresentaram a maior concentração de antocianinas, seguido dos licores e por último o fermentado submetido a 24 h de maceração. Embora as antocianinas sejam solúveis em água, estudos envolvendo a otimização de sua extração em cascas de jabuticabas utilizam preferencialmente o etanol a 99,5% (v/v) (Santos, Veggi & Meireles, 2010; Veggi, Santos & Meireles, 2011). Esse fato sugere que os licores deveriam apresentar maiores concentração de antocianinas do que os fermentados, por apresentar maiores teores alcoólicos. No entanto, outros estudos revelam a baixa estabilidade desses pigmentos em ambientes com alto teor alcoólico, sobretudo com elevada acidez, o que justificaria a menor concentração desses compostos nos licores (Moldovan, David, Chişbora & Cimpoi, 2012; Tseng, Chang & Wu, 2006; Tsukui, Murakami, Shiina & Hayashi, 2002). Além disso, a presença de açúcares pode exercer efeito degradativo nas antocianinas. Dentre esses açúcares, a frutose mostra-se mais deletéria do que a sacarose e a glicose, outro fator que justifica a queda dos compostos nos licores, que contêm concentrações de açúcares superiores às dos fermentados (Malacrida & Motta, 2005).

Além da menor concentração de antocianinas totais, os licores apresentaram maiores teores de antocianinas polimerizadas. Entre os fermentados, a polimerização das antocianinas foi proporcional ao conteúdo de antocianinas totais. A polimerização das antocianinas é um fenômeno comum em produtos processados, nos quais estes pigmentos encontram-se mais livres no meio, aptas a se condensarem com outras antocianinas e /ou flava-3-ols. A polimerização resulta em mudanças na cor e sabor das bebidas, além de levar à estabilidade do pigmento (He et al., 2012). As concentrações mais elevadas de etanol e açúcares podem ter contribuído para a polimerização das antocianinas dos licores em proporções maiores que nos fermentados. Fato semelhante é observado em vinhos do porto que, por conterem maiores teores de etanol que os vinhos tintos, adquirem uma coloração roxa devido à copigmentação e efeitos do etanol. Ao que tudo indica, esse efeito é observado em níveis mais elevados de etanol devido à maior solubilidade das flavonas nesses meios, facilitando a interação e a complexação desses compostos com as antocianinas (Boulton, 2001).

Os valores referentes à capacidade antioxidante das bebidas obtidas não diferiram entre si, exceto a do fermentado obtido com maceração de 24 h, que apresentou valores

mais baixos que os demais. A capacidade antioxidante está diretamente relacionada ao conteúdo de compostos fenólicos de um produto. Dessa forma, espera-se que esta característica seja diretamente proporcional à concentração de compostos fenólicos. Mas isso nem sempre é observado na prática, pois além da concentração, o tipo de composto fenólico é decisivo para definir a capacidade antioxidante de um produto (Zhang & Tsao, 2016). Sabe-se que as antocianinas estão entre os compostos mais reativos, o que poderia justificar a igualdade na capacidade antioxidante dos fermentados e licores, porque embora os licores possuam maior concentração de compostos fenólicos, os fermentados possuem proporcionalmente mais antocianinas.

A tonalidade, medida que representa o desenvolvimento da coloração marrom-alaranjada em vinhos, é um indicativo da maturação de uma bebida. Ao longo desse processo há a tendência à polimerização das antocianinas, que sofrem efeito batocrômico e passam a adquirir uma coloração mais laranja em detrimento ao vermelho intenso. Dessa forma, vinhos jovens possuem tonalidade entre 0,5 e 0,7 enquanto que em vinhos amadurecidos são encontrados de 1,2 a 1,3 (Ribéreau-Gayon et al., 2002). Os licores de cachaça apresentaram tonalidade superior às demais bebidas, assim como maior valor de absorvância a 420 nm (Tabela 3.3), que corresponde à coloração amarela. Sabe-se que os metais possuem alta capacidade de complexação com as antocianinas, resultando também no efeito batocrômico e em cores profundas em vinhos tintos (Czibulya, Horváth, Kollár, Nikfardjam & Kunsági-Máté, 2015). A presença de cobre na cachaça utilizada na elaboração do licor pode ter ocasionado essa característica da bebida.

A intensidade da cor representa a soma das absorvâncias nos comprimentos de onda de 420, 520 e 620 nm e é uma caracterização qualitativa em vinhos, que está relacionada ao tipo de uva utilizada. Para as bebidas de jabuticaba obtidas, nota-se que os licores, sobretudo o elaborado a partir da cachaça, possuem maiores valores de intensidade de cor que os fermentados. Pode-se afirmar que os licores apresentam cores mais intensas que os fermentados, mesmo apresentando menores teores de antocianinas totais. A polimerização é a principal responsável pelo fato. O comprimento de onda a 420 nm, que representa a coloração amarela-alaranjada, gerou absorvâncias muito maiores nos licores, indicando que a maior parte da coloração dessas bebidas é composta por pigmentos amarelados, resultantes da polimerização das antocianinas. Proporcionalmente, a maior parte da intensidade da cor em licores (mais de 60%) foi composta pela absorvância no comprimento de onda de 420 nm, enquanto que nos

fermentados, o comprimento de onda de 520 nm compôs mais a coloração (cerca de 50%) responsável pelo tom avermelhado, característico das antocianinas.

Tabela 3.3. Intensidade de cor, tonalidade e composição da cor de fermentados alcoólicos e licores de jabuticaba obtidos de maneira artesanal.

	Intensidade de cor	Tonalidade	Composição da cor		
			420 nm	520 nm	620 nm
FA 24	0,127 ± 0,019 d	0,903 ± 0,084 c	41,978 ± 1,478 c	46,645 ± 2,610 b	11,377 ± 1,271 a
FA 48	0,187 ± 0,031 c	0,744 ± 0,047 d	38,500 ± 1,775 d	51,750 ± 0,969 a	9,750 ± 1,148 b
FA 72	0,218 ± 0,010 c	0,729 ± 0,034 d	38,341 ± 1,027 d	52,643 ± 1,076 a	9,015 ± 0,305 bc
L Ac	0,352 ± 0,043 b	2,253 ± 0,114 b	63,385 ± 0,967 b	28,173 ± 0,989 c	8,442 ± 0,189 bc
L Ca	0,429 ± 0,017 a	2,969 ± 0,096 a	68,752 ± 0,469 a	23,170 ± 0,585 d	8,007 ± 0,212 c

FA24, FA48 e FA72- fermentados alcoólicos submetidos a 24, 48 e 72 h de maceração, respectivamente. L Ac e L Ca- licores obtidos a partir de álcool de cereais e cachaça, respectivamente. Valores em uma mesma linha com letras iguais não diferem estatisticamente entre si (p>0,05).

3.3. Teor de antocianinas monoméricas e ácido elágico

Nos fermentados de jabuticaba foram identificadas somente quatro das cinco estruturas de antocianinas presentes nas cascas da jabuticaba sabará in natura. (cap. 2), sendo que a cianidina-3-coumarilglicosídeo não foi detectada. O teor de cy-3-cmglic nas cascas da jabuticaba sabará é pequeno em relação às demais antocianinas, não sendo suficiente para a manutenção desta, em quantidades detectáveis, após o processo de obtenção dos fermentados. Dentre as antocianinas presentes destacam-se a cy-3-glicosídeo e a dp-3-glicosídeo, presentes majoritariamente nas bebidas. Esse fato é justificável pela maior concentração dessas duas antocianinas nas cascas dos frutos. Nota-se ainda a presença de pg-3-glicoídeo e pn-3-glicosídeo, presentes em concentrações muito inferiores, a exemplo do ocorrido nas cascas das jabuticabas. Quantitativamente, observou-se que os fermentados produzidos com 24 h de maceração apresentaram menores teores de cy-3-glicosídeos e conseqüentemente, menores teores de antocianinas monoméricas totais em relação aos dois outros fermentados, que não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si.

No licor obtido a partir do álcool de cereais somente estavam contidas as antocianinas cy-3-glicosídeo e pn-3-glicosídeo e no licor produzido com cachaça, somente a cy-3-glicosídeo. Quantitativamente, os licores apresentaram menores concentrações de antocianinas monoméricas totais, sendo que a concentração presente no licor de cachaça foi ainda mais baixa. Como discutido anteriormente, nos licores houve uma maior degradação desses compostos além de um maior grau de polimerização. Sendo assim, as concentrações de dp-3-glicosídeo e pg-3-glicosídeo existentes nas cascas da jabuticaba foram insuficientes para a manutenção destas nos licores, ao final do processo. No entanto a pn-3-glicosídeo foi capaz de resistir nos

licores obtidos de álcool de cereais. Esse fato pode ser justificado por se tratar de uma antocianina metilada, uma vez que a metoxilação mantém a integridade da molécula, conferindo mais estabilidade quando comparada às moléculas não metiladas, conforme discutido no capítulo 2. Sendo assim, essa antocianina sofreu menos com os processos degradativos do que as demais.

Tabela 3.4. Concentração de antocianinas monoméricas em fermentados e licores de jabuticaba (em equivalentes de cianidina-3-glicosídeo).

Amostras	Antocianina	Concentração média (mg equivalentes de cy-3-glc/L)	Concentração média total (mg equivalentes de cy-3-glc/L)
FA 24	dp-3-glc	1,552 ± 0,345 a	10,895 ± 1,647 b
	cy-3-glc	8,978 ± 1,258 b	
	pn-3-glc	0,050 ± 0,044 a	
	pg-3-glc	0,131 ± 0,002 a	
FA 48	dp-3-glc	3,100 ± 1,677 a	19,548 ± 5,506 a
	cy-3-glc	16,226 ± 3,819 a	
	pn-3-glc	0,075 ± 0,030 a	
	pg-3-glc	0,148 ± 0,019 a	
FA 72	dp-3-glc	2,649 ± 0,428 a	21,194 ± 3,243 a
	cy-3-glc	18,277 ± 2,785a	
	pn-3-glc	0,080 ± 0,027 a	
	pg-3-glc	0,137 ± 0,005 a	
L Ac	dp-3-glc	n.d.	8,749 ± 1,317 b
	cy-3-glc	8,800 ± 1,612 b	
	pn-3-glc	0,092 ± 0,019 a	
	pg-3-glc	n.d.	
L Ca	dp-3-glc	n.d.	1,953 ± 0,342 c
	cy-3-glc	1,953 ± 0,342 c	
	pn-3-glc	n.d.	
	pg-3-glc	n.d.	

FA24, FA48 e FA72- fermentados alcoólicos submetidos a 24, 48 e 72 h de maceração, respectivamente. L Ac e L Ca- licores obtidos a partir de álcool de cereais e cachaça, respectivamente. dp-3-glc= delfinidina-3-glicosídeo; cy-3-glc= cianidina-3-glicosídeo; pn-3-glc= peonidina-3-glicosídeo; pg-3-glc= pelagornidina-3-glicosídeo. Para o mesmo atributo analisado, valores com letras iguais não diferem estatisticamente entre si (p>0,05).

Os valores dos teores de ácido elágico nos licores e fermentados de jabuticaba estão descritos na tabela 3.5.

Tabela 3.5. Concentração de ácido elágico em fermentados alcoólicos e licores de jabuticaba

Amostra	Teor de ácido elágico (mg/L)
FA 24	20,556 ± 5,409 c
FA 48	37,487 ± 18,814 abc
FA 72	26,894 ± 5,594 bc
LAc	43,544 ± 6,398 ab
LC	45,588 ± 3,071 a

FA 24, FA 48 e FA 72- fermentados alcoólicos submetidos a 24, 48 e 72 h de maceração, respectivamente. L Ac e L Ca- licores produzidos com álcool de cereais e cachaça, respectivamente. Valores em uma mesma linha com letras iguais não diferem estatisticamente entre si (p>0,05).

O ácido elágico, a exemplo do ocorrido com o teor de compostos fenólicos totais e taninos, foi mais elevado nos licores do que nos fermentados, embora não tenha havido

diferença estatisticamente significativa entre os fermentados obtidos com 48 e 72 h de maceração e o licor de álcool de cereais. Em estudo sobre a extratibilidade de ácido elágico de madeiras de carvalho (Jordão, Silva & Laureano, 2005), concluiu-se que o aumento do teor de etanol afeta positivamente a extração dos compostos da madeira para os vinhos e, uma vez em solução, o ácido elágico é significativamente degradado. Esse fato justifica a maior extração dos compostos pelos licores, que possuem maior teor alcoólico. O alto grau de degradação justifica a variação das concentrações encontradas nas diferentes bebidas, levando-se em consideração a falta de controle dos processos, incluindo as repetições, por se tratar de bebidas produzidas artesanalmente. No entanto, para os fermentados obtidos a partir de 24 h de maceração, o menor teor de ácido elágico pode ser atribuído ao menor tempo de contato entre o fruto e o mosto de fermentação.

3.4. Aceitação das bebidas

O fermentado de jabuticaba preparado a partir de 24 h de maceração, como discutido anteriormente, apresentou menores quantidades de compostos fenólicos, o que prejudicou seu aroma e sabor no momento da análise sensorial. Devido a esse fato, essa bebida não foi submetida à análise sensorial. As mudanças de coloração e sabor durante a estabilização de vinhos tradicionais são atribuídas às diversas reações que envolvem os polifenóis, proteínas e ácidos orgânicos. Dessa forma, as bebidas que contêm quantidades inferiores de compostos fenólicos acabam por diminuir ainda mais a sua concentração, resultando em bebidas pouco expressivas e mais susceptíveis à degradação microbiana (Ribéreau-Gayon et al., 2002). As demais bebidas, licores e fermentados produzidos com tempo de maceração de 48 e 72 h, mantiveram suas características organolépticas ao decorrer do tempo de armazenamento e foram levados à análise sensorial. As notas obtidas para os licores e fermentados de jabuticaba estão representadas na Tabela 3.6.

Tabela 3.6. Notas médias recebidas na avaliação sensorial, teste de aceitação, para os atributos de cor, aroma e sabor de fermentados alcoólicos e licores de jabuticaba produzidos de maneira artesanal.

Amostra	Cor	Aroma	Sabor
L Ac	3,880 ± 0,799 ab	3,760 ± 0,847 a	3,900 ± 1,035 a
L Ca	4,120 ± 0,773 a	3,700 ± 1,074 a	3,860 ± 0,904 a
FA 48	3,700 ± 0,886 b	3,780 ± 0,864 a	3,080 ± 1,085 b
FA 72	3,800 ± 0,824 ab	3,760 ± 0,894 a	3,300 ± 1,055 b

Valores em uma mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente entre si ($p > 0,05$). Valores referentes a notas que variaram de 5 (gostei muito), 4 (gostei), 3 (não gostei nem desgostei), 2 (desgostei) a 1 (desgostei muito). FA 48 e FA 72- fermentados alcoólicos submetidos a 48 e 72 horas de maceração, respectivamente. L Ac e L CA- licores produzido com álcool de cereais e cachaça, respectivamente.

A média geral das notas ficou entre as impressões de “não gostei nem desgostei” e “gostei”. No entanto para uma amostra ser considerada bem aceita, precisa apresentar índice de aceitabilidade maior ou igual a 70% (Minin, 2010). Dessa forma, esse índice foi calculado por meio da porcentagem da nota média em relação à nota máxima, 5 pontos. Sendo assim, as avaliações que alcançaram notas médias acima de 3,5 podem ser consideradas bem aceitas. Partindo desse pressuposto observa-se que os licores foram bem aceitos em todos os atributos avaliados, não havendo diferença estatística entre as notas atribuídas a eles ($p > 0,05$). Dentre os fermentados analisados sensorialmente, obteve-se boa aceitação para a cor e aroma, no entanto o sabor de ambos não foi bem aceito. Estudos envolvendo a avaliação sensorial de licores demonstraram que o teor alcoólico e de açúcares influenciam na aceitação, sendo que os mais bem aceitos foram aqueles que apresentaram menores teores alcoólicos e maiores concentrações de açúcares (Teixeira, Simões, Rocha, Saraiva & Junqueira, 2011). Sendo assim, o maior teor de açúcar presente nos licores pode ter influenciado na sua boa aceitação em relação aos fermentados, que apresentam menores concentrações.

Dessa forma, pode-se concluir que ambos os licores foram mais bem aceitos pelos consumidores do que os fermentados analisados.

4. Conclusões

A caracterização das bebidas quanto ao teor alcoólico, pH e teores de açúcares está coerente com o tipo de bebida bem como com as técnicas utilizadas para a elaboração das mesmas.

Nos licores houve uma maior extração dos compostos fenólicos presentes nos frutos de jabuticaba. No entanto estas bebidas apresentaram menores concentrações de antocianinas, provavelmente como resultado da degradação e polimerização dessas. Não houve diferença na capacidade antioxidante em fermentados e licores. Dessa forma, quimicamente, quanto aos teores dos compostos fenólicos e as propriedades atribuídas a eles nas bebidas alcoólicas, os licores e fermentados de jabuticaba são semelhantes entre si. No entanto, os licores foram mais bem aceitos nas avaliações sensoriais, tornando-os mais interessantes de serem produzidos comercialmente.

Os licores elaborados tanto cachaça quanto com álcool de cereais resultaram em composição e aceitação semelhantes. Embora os dados obtidos na análise da composição da cor levem a crer que os licores produzidos com cachaça têm maior tendência à complexação das antocianinas.

A partir de 48 h, a maceração não alterou a composição fenólica e aceitação dos fermentados alcoólicos de jabuticaba, sendo que as bebidas obtidas apresentaram-se semelhantes estatisticamente. No entanto, a maceração de 24 h mostrou-se imprópria por resultar em bebidas com baixa capacidade antioxidante, baixos teores de compostos fenólicos e com baixa capacidade de armazenamento, com perda de suas características organolépticas no momento da análise sensorial.

5. Referências Bibliográficas

- Boulton, R. (2001). The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. *Am. J. Enol. Vitic*, 52(2), 67–87.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [http://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](http://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brasil (2014). Decreto nº 8.198, de 20 de fevereiro de 2014 que regulamenta a 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. Disponível em <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2014/Decreto/D8198.htm>. Acesso em 25/10/2016.
- Brasil. (2009). Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de junho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Disponível em <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm>. Acesso em 25/10/2016.
- Chiarelli, R. H. C., Nogueira, A. M. P., Venturini-Filho, W. G. (2005). Fermentados de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg): processos de produção, características físico-químicas e rendimento. *Brazilian Journal of Food Technology*, 8(4), 277–282.
- Czibulya, Z., Horváth, I., Kollár, L., Nikfardjam, M. P., Kunsági-Máté, S. (2015). The effect of temperature, pH, and ionic strength on color stability of red wine. *Tetrahedron*, 71, 3027–3031.
- Embrapa. (2010). Metodologia para análise de vinho. (L. A. Rizzon, Ed.). Brasília, D. F. Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 120p. ISBN 978-85-7383-505-2
- Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. 2ème partie mesure, origine et interpretation. *Connaissance de La Vigne et Du Vin*, 18, 253–271.
- Gordillo, B., Baca-Bocanegra, B., Rodriguez-Pulido, F. J., González-Miret, M. L., García, I., Quijada-Morín, N., Escribano-Mailón, M. T. (2016). Optimisation of an oak chips-grape mix maceration process . Influence of chip dose and maceration time. *Food Chemistry*, 206, 249–259.
- He, F., Liang, N. N., Mu, L., Pan, Q. H., Wang, J., Reeves, M. J., Duan, C. Q. (2012). Anthocyanins and their variation in red wines II. Anthocyanin derived pigments and their color evolution. *Molecules*, 17(2), 1483–1519. <http://doi.org/10.3390/molecules17021483>

- Inada, K. O. P., Oliveira, A. A., Revorêdo, T. B., Martins, A. B. N., Lacerda, E. C. Q., Freire, A. S., Braz, B. F., Santelli, R. E., Torres, A. G., Perrone, D., Monteiro, M. C. (2015). Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. *Journal of Functional Foods*, 17, 422–433. <http://doi.org/10.1016/j.jff2015.06.002>
- International Organisation of vine and wine. (2015). *Compendium of international Methods of Wine and must Analysis. Volume 1. International Organisation of vine and wine, 2011 (2015th ed.)*. Paris.
- Jordão, A. M., Silva, Ricardo-da-Silva, J. M., & O. Laureano. (2005). Extraction of Some Ellagic Tannins and Ellagic Acid from Oak Wood Chips (*Quercus pyrenaica* L .) in Model Wine Solutions : Effect of Time , pH , Temperature and Alcoholic Content. *S. Afr. J. Enol. Vitic*, 26(2), 83–89.
- Leite-Legatti, A. V., Batista, A. G., Dragano, N. R. V., Marques, A. C., Malta, L. G., Riccio, M. F., Eberlin, M. N., Machado, A. R. T., Carvalho-Silva, L. B., Ruiz, A. L. T. G., CARvalho, J. E., Pastore, G. M., Morástica-Júnior, M . R. (2012). Jaboticaba peel : Antioxidant compounds , antiproliferative and antimutagenic activities. *Food Research International*, 49, 596–603.
- Lin, Y., Tanaka, S. (2006). Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol*, 69, 627–642.
- Malacrida, C. R., Motta, S. da. (2005). Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. *Ciênc. Tecnol. Aliment*, 25(4), 659–664.
- Maris A. J. van, Abbott, D. A., Bellissimi, E., van den Brink J., Kuyper, M., Luttik, M. A., Wisselink, H. W., Scheffers, W. A., van Dijken, J. P., Pronk , J. T. (2006). Alcoholic fermentation of carbon sources in biomass hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*: current status. *Antonie van Leeuwenhoek*, 90, 391–418.
- Minin, V. P. R. (2013). *Análise Sensorial: Estudos com consumidores*. (Editora Viçosa, Ed.) (3° ed.). Viçosa.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (2005). *Instituição Normativa n° 13, de 29 de junho de 2005, que aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça*. Disponível em <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=12386>>. Acesso em 25/10/2016.
- Moldovan, B., David, L., Chişbora, C., Cimpoiu, C. (2012). Degradation Kinetics of Anthocyanins from European Cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) Fruit Extracts. Effects of Temperature, pH and Storage Solvent. *Molecules*, 17, 11655–11666. <http://doi.org/10.3390/molecules171011655>
- Molina, A. M., Guadalupe, V., Varela, C., Swiegers, J. H., Pretorius, I. S., Agosin, E. (2009). Differential synthesis of fermentative aroma compounds of two related

- commercial wine yeast strains. *Food Chemistry*, 117(2), 189–195.
<http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.116>.
- Ough, C. S., & Amerine, A. (1988). *Methods Analysis of Musts and Wines*. Wiley.
 Retrieved from <https://books.google.co.uk/books?id=QcNIQgAACAAJ>
- Rebello, L. P. G., Lago-Vanzela, E. S., Barcia, M. T., Ramos, A. M., Stringheta, P. C., Da-Silva, R., Castillo-Munoz, N., Gómez-Alonso, S., Hermosín-Gutiérrez, I. (2013). Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea×IAC 1398-21) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *Food Research International*, 54(1), 354–366.
<http://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.024>
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Duboudieu, D. (2002). *Handbook of enology. Volume 2. The Chemistry of wine, stabilization and treatments* Chichester, John Wiley & Sons Ltda., 451p.
- Ribéreau-Gayon, P., Stonestreet, E. (1965). Le dosage des anthocyanes dans les vins rouges. *Bulletin de La Société de Chimie*, 9, 2649–2652.
- Santos, D. T., Veggi, P. C., Meireles, M. A. a. (2010). Extraction of antioxidant compounds from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. *Journal of Food Engineering*, 101(1), 23–31.
<http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.06.005>
- Silva, P. H. A., Faria, F. C., Tonon, B., Pinto, S. J. D. M., Tensol, V. (2008). Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). *Quimica Nova*, 31(3), 595–600.
- Teixeira, L. J. Q., Simões, L. S., Rocha, C. T., Saraiva, S. H., & Junqueira, M. S. (2011). Tecnologia, Composição e Processamento de Licores. *Enciclopédia Biosfera*, 7, 1–17.
- Tritton, S. M. (1975) *Spirits, aperitifs and liqueurs: their production*. London: Faber and Faber Ltda, 82 p.
- Tseng, K.-G., Chang, H.-M., Wu, J. S.-B. (2006). Degradation kinetics of anthocyanin in ethanolic solutions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30, 503–514.
- Tsukui, A., Murakami, T., Shiina, R., Hayashi, K. (2002). Effect of Alcoholic Fermentation on the Stability of Purple Sweet Potato Anthocyanins. *Food Science and Technology Research*, 8(1), 4–7.
- Veggi, P. C., Santos, D. T., Meireles, M. A. A. (2011). Anthocyanin extraction from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins by different techniques: economic evaluation. *Procedia Food Science*, 1(Icef 11), 1725–1731.
<http://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.254>
- Zhang, H., Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33–42. Retrieved from <http://sci-hub.cc/http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799316300133>.

CAPÍTULO IV. IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS MINORITÁRIOS EM FERMENTADO ALCOÓLICO E LICORES DE JABUTICABA (PLINIA JABOTICABA) POR CG/MS.

Resumo

A composição de compostos voláteis é de extrema importância na qualidade de bebidas alcoólicas, por influenciar diretamente no seu aroma. São escassos os estudos da composição volátil de bebidas alcoólicas pouco tradicionais, incluindo bebidas elaboradas a partir de jabuticaba. Este trabalho teve por objetivo a identificação dos compostos voláteis minoritários, por CG/MS, em fermentado alcoólico e licores artesanais de jabuticaba, sendo estes elaborados a partir de cachaça e álcool de cereais. Foi identificado um total de 106 compostos, dentre álcoois, ésteres, furanos, ácidos orgânicos, aldeídos e cetonas, acetatos, terpenos, compostos fenólicos voláteis e lactonas. Dentre estes, 89 foram quantificados. O licor elaborado a partir da cachaça apresentou a maior complexidade de aroma dado ao maior número de compostos voláteis na sua composição, especialmente as maiores concentrações de terpenos e compostos fenólicos voláteis. O fermentado alcoólico apresentou o maior conteúdo de acetatos, decorrentes do processo fermentativo, no entanto os teores obtidos não caracterizam contaminação por bactérias acéticas, fato importante em se tratando de produtos artesanais. A caracterização da fração volátil de fermentados alcoólicos e licores de jabuticaba resultou em grande número de dados que, devido à sua extensão e ineditismo pode contribuir em trabalhos futuros que objetivem a melhoria da qualidade dessas bebidas.

1. Introdução

Dentre as diversas variáveis que determinam a qualidade de uma bebida alcoólica, os aspectos sensoriais são os mais importantes do ponto de vista da aceitação do consumidor. Entre as variáveis descritas, o aroma é o mais complexo e, conseqüentemente, o mais difícil de ser analisado. São mais de 800 compostos voláteis já descritos em diversos tipos de bebidas alcoólicas, entre álcoois, aldeídos, ésteres, cetonas, terpenos, etc. Tais compostos possuem diferentes polaridades e volatilidades, além de estarem presentes em concentrações da ordem de ng a mg/L (Jiang & Zhang, 2010; Pino & Queris, 2011).

A importância no estudo dos aromas está, sobretudo, na diferenciação entre as bebidas, classificação da qualidade e detecção de pontos falhos do processo de

produção, que incluem desde as etapas de fermentação até o armazenamento e que têm como consequência a formação de compostos indesejáveis às bebidas. Graças ao advento dos métodos cromatográficos, sobretudo os combinados com espectrometria de massa, a identificação e quantificação desses compostos tornou-se viável, mesmo para aqueles que estão contidos em pequenas frações (Nykänen, Suomalainen & Suomalainen, 1983).

O entendimento dos aspectos envolvidos na formação dos compostos voláteis é de extrema importância na produção das bebidas, evitando a formação de compostos indesejáveis através do controle das etapas de produção. As leveduras são o principal agente de formação do aroma, que além do etanol e CO₂, produzem inúmeras substâncias voláteis como co-produtos da fermentação, a partir de substratos como ácidos-graxos, compostos orgânicos nitrogenados, dentre outros. Dentre esses, os terpenos proporcionam aromas frutados e florais às bebidas. No entanto, os microrganismos também são responsáveis por diversos defeitos no aroma das bebidas, tais como acetatos, produzidos sobretudo por bactérias, metoxipirazinas, resultantes do metabolismo de aminoácidos, compostos sulfurados e elevadas concentrações de álcoois superiores (Carrau et al., 2008).

Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo a identificação dos compostos voláteis minoritários presentes em licores e fermentados alcoólicos de jabuticaba obtidos artesanalmente.

2. Material e métodos

2.1. Amostras

O fermentado alcoólico e os licores de jabuticaba foram obtidos artesanalmente conforme descrito no capítulo 3. Devido à perda das características sensoriais do fermentado obtido a partir de 24 h de maceração no momento da análise e às semelhanças físico-químicas entre os fermentados elaborados a partir de 48 e 72 h de maceração, para essa análise foi considerado somente o fermentado obtido a partir de 72 h de maceração. Os licores analisados foram obtidos a partir da cachaça e álcool de cereais.

2.2. Preparo das amostras - extração em fase sólida

A extração foi realizada tomando-se 25 mL das amostras de fermentado e licores e adicionando 25 mL de água e 500 µL da solução de 4-nonanol (0,1 g/L) utilizada como padrão interno à amostra. Foram utilizados cartuchos para extração em fase sólida

LiChrolut EN (40-120 μm) de 5 mL com 0,2 g de adsorbente. Primeiramente, os cartuchos foram acondicionados com 2 mL de pentano:diclorometano 2:1, seguidos de 2 mL de metanol P.A. e 5 mL de etanol 6% (v/v). Após o acondicionamento foi introduzida a amostra, gota a gota pelo cartucho. Os compostos polares foram extraídos com 25 mL de água e em seguida foi realizada a extração dos compostos voláteis minoritários por meio da passagem pelo cartucho de 15 mL de pentano:diclorometano. A porção recuperada foi mantida em congelador por 24 h, após as quais foi descartada a porção que se manteve congelada e se recuperou a porção líquida. O material recuperado foi ainda adicionado de 500 μL de etanol absoluto e em seguida foi submetido à concentração por jato de nitrogênio. As amostras obtidas ao final do processo foram levadas à análise cromatográfica.

2.3. Análise dos compostos voláteis por CG/MS

Os compostos voláteis foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massa (GC/MS) ThermoQuest GC2000 e detector de massa DSQII quadruplo. A metodologia descrita por Izquierdo-Cañas et al., (2012) foi utilizada como referência com algumas modificações (Izquierdo-Cañas et al., 2012). Foi utilizada coluna BP21 de fase estacionária tipo FFAP com 60 m de longitude e 0,32 mm de diâmetro. O gás utilizado com fase móvel foi o Hélio (1,4 mL/min Split 1/15) à temperatura de injeção de 210 °C e condições de temperatura do forno: 45 °C (15 min) - 2 °C/min, 100 °C -1 °C/min, 150 °C - 4 °C/min, 210 °C (45 min). O volume de injeção foi de 2 μL das amostras previamente extraídas em fase sólida.

O detector foi operado a uma voltagem 1250 V com temperatura da fonte de 250 °C, temperatura da interface GC de 250 °C, corrente de emissão de 150 μV e energia de impacto de 70 eV. Os compostos separados foram identificados com base na espectroscopia de massa e tempo de retenção, utilizando-se padrões comerciais como referência. A quantificação de alguns compostos foi realizada por meio da análise das características de fragmentação de cada composto tendo como referência o padrão interno, sendo que cada composto teve a sua linearidade verificada conforme referência (Izquierdo- Cañas, García-Romero, Gómez-Alonso, & Palop Herreros, 2008).

3. Resultados e discussão

Foi identificado um total de 106 compostos voláteis minoritários entre as três amostras estudadas, dentre os quais 89 foram quantificados. Os compostos identificados foram classificados em grupos, conforme ilustrado na Figura 4.1.

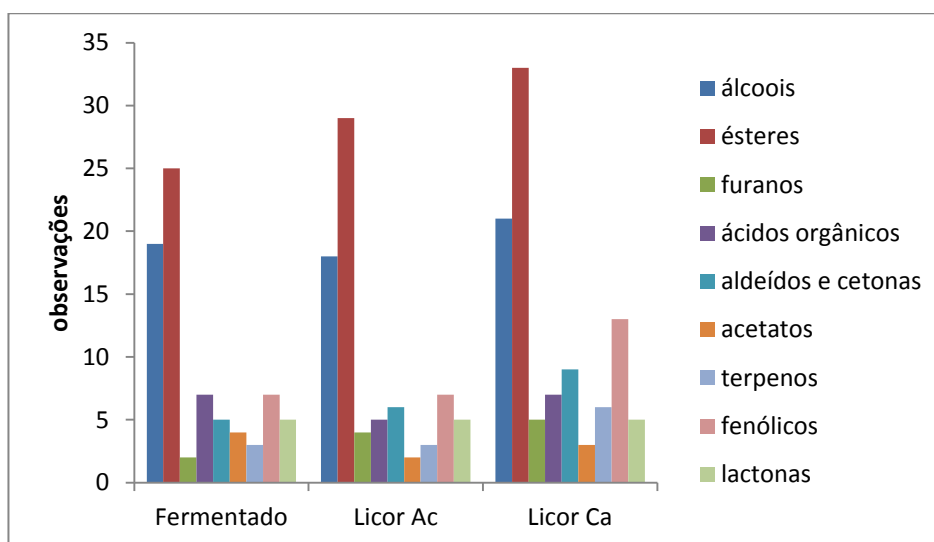


Figura 4.1. Compostos voláteis minoritários encontrados em fermentado alcoólico e licores de jabuticaba produzidos artesanalmente. Licor Ac= Licor elaborado com álcool de cereais e Licor Ca= Licor elaborado com cachaça.

Foram identificados compostos pertencentes às classes de álcoois, ésteres, furanos, ácidos orgânicos, aldeídos e cetonas, acetatos, terpenos, compostos fenólicos voláteis e lactonas (Tabelas 4.1, 4.2 e 4.3). Entre as classes de voláteis, os ésteres e álcoois apresentaram o maior número de compostos. Dentre as amostras estudadas, o licor elaborado a partir da cachaça apresentou o maior número de compostos, sendo, portanto a amostra com o aroma mais complexo.

Os terpenos e compostos fenólicos voláteis, desejáveis a bebidas alcoólicas devido aos benefícios ao aroma e capacidade antioxidante, respectivamente, foram mais encontrados qualitativa e quantitativamente no licor de cachaça. O mesmo é verdadeiro para os furanos que, no entanto, contribuem negativamente para o aroma final, embora se tenha observado que a concentração de furanos não excedeu ao limite mínimo de detecção pelo olfato humano ($20.000 \mu\text{g/L}$ de 5-metil furural) (Azêvedo et al., 2007). O fermentado apresentou o maior conteúdo de acetatos entre as bebidas, provenientes do metabolismo de microrganismos e que influenciam negativamente o aroma.

Álcoois

Os conteúdos de álcoois voláteis presentes no fermentado alcoólico e licores estão apresentados na tabela 4.1

Os álcoois estão presentes nas bebidas alcoólicas como resultado do metabolismo de leveduras a partir da degradação de carboidratos, aminoácidos e lipídeos (Jiang & Zhang, 2010). Os álcoois superiores, provenientes principalmente da transformação de aminoácidos, são formados nos primeiros dois estágios da fermentação alcoólica. Em

pequenas concentrações, contribuem para o aroma frutado das bebidas. Concentrações elevadas (mais de 100 mg/100 mL) exercem efeitos contrários, além de causar toxidez com sintomas como náuseas e dores de cabeça (Chung, Yoon, Han & Kim, 2015).

Tabela 4.1. Álcoois identificados em licores e fermentados de jabuticaba produzidos artesanalmente. Concentração em µg/L.

	Fermentado	Licor Ac. Cereais	Licor Cachaça
1-pentanol	n.d.	7,386 ± 1,638	122,615 ± 29,653
2-pentanol	1459,376 ± 396,751	277,218 ± 11,925	371,662 ± 15,156
4-metil-1-pentanol	14,483 ± 6,063	n.d.	9,748 ± 0,307
3-metil-1-pentanol	66,083 ± 26,487	n.d.	18,535 ± 2,053
3-metil-3-buten-1-ol	14,789 ± 8,090	3,912 ± 0,740	37,223 ± 1,838
3-etoxi-1-propanol	17,923 ± 4,581	n.d.	28,052 ± 0,069
3-octanol	0,610 ± 0,067	0,579 ± 0,020	0,775 ± 0,080
1-octen-3-ol	n.d.	1,351 ± 0,109	9,453 ± 0,034
1-heptanol	7,758 ± 0,670	6,255 ± 0,304	22,838 ± 4,318
2-etil-1-hexanol	34,819 ± 5,813	154,536 ± 19,262	194,018 ± 56,235
1-octanol	3,651 ± 1,549	9,648 ± 1,789	35,558 ± 5,641
1-hexanol	7,011 ± 2,146	19,824 ± 8,512	0,679 ± 0,313
c-3-hexen-1-ol	23,266 ± 2,104	18,988 ± 1,150	1,154 ± 0,433
t-2-hexenol	126,385 ± 4,973	30,067 ± 2,038	1,191 ± 0,729
Álcool benzílico	8,220 ± 1,755	26,930 ± 2,600	172,994 ± 46,655
2- feniletanol	96201,803 ± 8729,340	40,844 ± 10,753	8501,344 ± 436,412
3-metil-tio-propanol	510,782 ± 15,328	n.d.	n.d
3,3-dietoxi-1-propanol	n.q.	n.q.	n.q
1-butanol	n.q.	n.q.	n.q
4-nonanol	n.q.	n.q.	n.q
t-nerolidol	n.q.	n.q.	n.q
t-cadinol	n.d	n.q	n.q

n.q. = valores não quantificados. n.d. = composto não detectado

No fermentado alcoólico de jabuticaba, os álcoois presentes em concentrações mais elevadas foram o 2-pentanol e o 2-feniletanol, além de t-2-hexenol e 3-metil-tio-propanol. O 2-feniletanol é um álcool superior de ampla ocorrência na natureza, sendo associado ao aroma de rosas e muito comum em vinhos de uvas, estando presentes nessas bebidas em concentrações relativamente altas. O licor produzido a partir da cachaça também apresentou alta concentração desse composto. Esse fato pode ser atribuído à própria cachaça, que, segundo dados da literatura, apresenta esse álcool na sua fração volátil (Cardeal, Souza, Silva & Marriott, 2008).

O 2-pentanol, ou álcool sec-amílico, embora tenha sido encontrado em concentrações elevadas no fermentado, não é muito comum em vinhos de uva, estando presentes apenas em traços nessas bebidas. Em trabalho sobre a elaboração de bebidas destiladas a partir da jabuticaba (Asquieri, Silva & Cândido, 2009) foi detectada a presença de álcool amílico em concentrações na ordem 156 mg/100 mL. Ainda segundo os mesmos autores, o álcool amílico tem ação solvente sobre outras substâncias aromáticas interferindo nos graus de volatilidade destas.

Em trabalho anterior com fermentado alcoólico de jabuticaba, foi reportada a presença dos álcoois 2-pentanol ($3,1 \pm 0,4 \mu\text{g/L}$), 1-butanol ($15,6 \pm 1,5 \mu\text{g/L}$), 4-metil-1-pentanol ($6,3 \pm 0,5 \mu\text{g/L}$), 3-metil-1-pentanol ($13,7 \pm 0,4 \mu\text{g/L}$), 3-etoxi-1-propanol ($30,6 \pm 0,0 \mu\text{g/L}$), 1-heptanol ($2,3 \pm 0,7 \mu\text{g/L}$), 2-etil-1-hexanol ($12,6 \pm 0,8 \mu\text{g/L}$), e álcool benzílico ($17,2 \pm 0,7 \mu\text{g/L}$) em comum com esse trabalho (Duarte et al., 2010). De todos os álcoois encontrados, somente o álcool benzílico estava presente em maiores concentrações no trabalho desses autores. O álcool 1-butanol não foi quantificado nesse trabalho, não havendo meios para a comparação. Esta diferença encontrada entre os dois trabalhos é esperada, uma vez que os demais álcoois produzidos pelas leveduras, em especial os álcoois superiores, são formados a partir de mecanismos complexos, que envolvem vias catabólicas e anabólicas, sendo resultantes do processo metabólico de leveduras a partir de aminoácidos. A quantidade de álcoois superiores produzidos depende da cepa e espécie da levedura, quantidade de inóculo utilizado, temperatura na qual ocorreu a fermentação e composição do meio (Pietruszka, Pielech-Przybylska & Szopa, 2010).

Nos licores, o 1-pentanol, 2-pentanol, 2-etil-1-hexanol, álcool benzílico e 2-feniletanol foram os principais álcoois encontrados, em termos quantitativos. Esses álcoois são provenientes, sobretudo, do processo fermentativo e foram originados das matérias-primas empregadas na elaboração das bebidas, cachaça e álcool de cereais. Esse álcoois estão presentes em concentrações muito superiores nos licores de cachaça. Essa característica é devida ao processo de obtenção da cachaça, que passa por um processo de destilação simples, na qual esses compostos não são eliminados, enquanto que o álcool de cereais, além passar por processo de destilações sucessivas, é desodorizado e neutralizado, em decorrência do seu processamento industrial (Lima, 2009). O processo de obtenção do álcool de cereais, dessa forma, acaba eliminando muitos compostos aromáticos e demais compostos voláteis, justificando a sua ausência nos licores obtidos. Segundo as recomendações técnicas, na elaboração de licores artesanais, é preferível a utilização de fontes de álcool neutras, como o álcool de cereais, por ser refinado e sem odor, o que permite realçar o aroma e sabor da fruta (Lima, 2009). No entanto, na avaliação sensorial (capítulo 3) não foi observada diferença na aceitação dos dois licores pelos consumidores.

Ésteres

Os ésteres identificados nos licores e fermentados alcoólicos de jabuticaba estão representados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Ésteres identificados em licores e fermentado alcoólico de jabuticaba produzidos artesanalmente. Concentração em µg/L

	Fermentado	Licor Ac. Cereais	Licor Cachaça
Hexanoato de etila	148,148 ± 26,294	4,388 ± 1,074	37,159 ± 2,553
Etil-2-butenato	45,071 ± 5,679	46,249 ± 10,595	33,715 ± 4,668
Salicilato de etila	n.d.	n.d.	8,188 ± 0,505
Etoxiacetato de etila	n.d.	10,090 ± 2,430	13,670 ± 2,317
Heptanoato de etila	n.d.	n.d.	7,581 ± 0,560
Etil-2-OH-3-metil-butirato	49,875 ± 16,322	5,643 ± 1,720	49,421 ± 5,874
Octanoato de etila	20,516 ± 6,027	1,732 ± 0,385	19,801 ± 3,276
Dietoxiacetato de etila	n.d.	7,663 ± 1,577	13,592 ± 4,305
3-OH-butirato de etila	167,986 ± 74,912	n.d.	13,531 ± 0,755
Etil-2-OH-hexanoato	273,352 ± 52,433	11,772 ± 5,009	1485,993 ± 142,300
4-oxo-butanoato de etila	13,974 ± 1,130	429,070 ± 33,598	555,534 ± 38,518
Levulinato de etila	n.d.	29,737 ± 2,046	115,293 ± 14,146
2-furoato de etila	8,871 ± 2,164	15,837 ± 1,416	29,576 ± 2,659
Decanato de etila	2,523 ± 0,472	1,032 ± 0,350	4,673 ± 0,906
Succinato de dietila	377,195 ± 32,844	28,317 ± 5,126	698,784 ± 93,026
2,7-dimetil-4,5-octanodiol	129,807 ± 57,206	n.d.	233,188 ± 11,426
Benzoacetato de etila	4,458 ± 0,582	1,686 ± 0,363	7,018 ± 1,151
4-OH-butanoato-de-etila	5512,058 ± 3044,538	10,240 ± 2,656	87,691 ± 7,882
Dodecanoato de etila	6,550 ± 1,866	n.d.	n.d.
Malonato de dietila	158,464 ± 63,471	2434,983 ± 125,455	3250,535 ± 501,705
Hexadecanoato de etila	37,236 ± 6,796	70,111 ± 16,179	106,226 ± 12,408
Monosuccinato de etila	43,947 ± 13,748	3,271 ± 1,415	5,760 ± 3,179
Fenil-lactato	375,427 ± 48,281	5,480 ± 1,232	116,812 ± 22,854
Malonato de dimetila	8,678 ± 2,753	488,406 ± 19,479	1297,535 ± 219,205
1,1,dietoxi-3-metil-butano	n.d.	13,967 ± 6,290	15,209 ± 2,525
4-metil-2-penteno	74,511 ± 4,441	451,139 ± 82,101	651,543 ± 247,679
1,1,3-trietoxi-propano	n.d.	55,354 ± 3,875	1952,322 ± 129,123
4-OH-etil-ácido-benzoacético	147,620 ± 16,407	20,421 ± 4,736	27,241 ± 4,695
Diethyl-2-metilenesuccinato	n.q.	n.q.	n.q.
3-metil-butirato de etila	n.q.	n.q.	n.q.
butanoato de isoamilo	n.q.	n.q.	n.q.
lactato de isoamilo	n.q.	n.q.	n.q.
succinato de etila e propila	n.d.	n.d.	n.q.
propionato de etila	n.d.	n.d.	n.q.

n.q. = valores não quantificados. n.d. = composto não detectado

O principal éster identificado no fermentado foi o 4-OH-butanoato de etila, característico do aroma de abacaxi e que foi detectado em concentrações de 14,6 a 2780 vezes superior aos demais ésteres.

Os licores possuem como ésteres quantitativamente majoritários o malonato de dietila e malonato de dimetila. O malonato de dietila ocorre naturalmente em uvas e morangos e o malonato de dimetila é relacionado ao aroma de maçã. A jabuticaba provavelmente apresenta naturalmente altas concentrações desses ésteres e o meio alcoólico dos licores foi capaz de extraí-los em quantidades superiores aos do fermentado. O licor produzido a partir da cachaça apresentou também altos teores de etil-2-OH-hexanoato. Esse éster de aroma frutado ocorre normalmente em decorrência da fermentação alcoólica e é comum em bebidas destiladas e fermentadas, sendo

encontrado com frequência em cachaças, rum e vinhos (Souza, Cardeal, Augusti, Morrison & Marriott, 2009).

Os ésteres em geral são desejáveis às bebidas alcoólicas por contribuírem com o buquê das bebidas, proporcionando notas para o aroma frutado (Izquierdo-Cañas et al., 2012). Eles ocorrem naturalmente nas frutas, além de serem formados pelas leveduras durante a fermentação alcoólica. Em especial, os etil-ésteres, são formados pela quebra do etanol durante a síntese ou degradação de lipídeos (Juan, Jianquan, Junni, Zijian, & Ji, 2012).

Furanos

Nos fermentados de jabuticaba foi encontrado somente o furfural (Tabela 4.3) enquanto que nos licores estavam presentes, além desde, o furfural-formato, 2-acetil-furano e 5-metil-2-furfural. O licor elaborado a partir da cachaça apresentou concentrações mais elevadas desses compostos, sobretudo de furfural. Estes compostos são originados da própria cachaça utilizada na elaboração do licor. Em cachaças, esses compostos são principalmente formados durante a destilação a partir de pentoses, surgindo predominantemente como produto da cauda no alambique (Miranda, Horri & Alcarde, 2006), sendo que a sua presença diminui a qualidade do produto, pois além de tóxico, provoca um sabor desagradável.

Nos licores, a alta concentração de açúcares pode ter contribuído para a formação de furfural. Os compostos pertencentes à classe dos furanos são formados a partir da dermodegradação de carboidratos por caramelização e decomposição de polissacarídeos (Pino & Queris, 2011). Tal hipótese é reforçada pela inexistência de furfural no álcool de cereais utilizado na elaboração dos licores e a presença destes no produto final.

Tabela 4.3. Compostos voláteis minoritários identificados em licores e fermentados alcoólicos de jabuticaba produzidos artesanalmente. Concentrações em µg/L.

	Fermentado	Licor Ac. Cereais	Licor Cachaça
Furanos			
Furfural	3,195 ± 1,141	24,020 ± 8,050	217,956 ± 20,414
Furfuril-fortato	n.d.	n.d.	2,022 ± 0,356
2-acetil-furano	n.d.	1,436 ± 0,249	24,024 ± 7,715
5-metil-2-furfural	n.d.	14,321 ± 3,908	52,595 ± 4,313
5-hidroximetil-furfural (HMF)	4,507 ± 1,885	14,859 ± 4,037	16,788 ± 0,013
Ácidos			
Ácido isobutírico	865,678 ± 44,976	75,816 ± 40,540	121,678 ± 68,616
ácido butírico	116,803 ± 56,846	n.d.	24,713 ± 19,579
Ácido isovalérico	4048,791 ± 350,501	n.d.	357,584 ± 39,904
Ácido octanoico	3307,597 ± 188,024	90,718 ± 39,158	440,408 ± 159,974
Ácido decanóico	210,763 ± 73,425	18,497 ± 6,205	76,807 ± 22,581
Ácido fenilacético	10,000 ± 3,108	1,030 ± 0,449	1,454 ± 0,148
Ácido hexanóico	1959,275 ± 809,322	232,852 ± 99,395	515,872 ± 217,875
Ácido homovanílico	n.d.	n.q	n.q
Aldéídos e cetonas			
Hexanal	n.d.	n.d.	16,366 ± 0,424
Benzaldeído	6,373 ± 0,488	20,050 ± 1,632	49,519 ± 0,871
Acetophenona	24,101 ± 0,307	47,675 ± 2,176	76,709 ± 20,111
2,4-dihidroxi-benzaldeído	n.d.	5,162 ± 0,680	3,552 ± 0,206
Siringaldeído	4,384 ± 0,714	15,860 ± 4,654	15,240 ± 2,493
Vanilina	1,488 ± 0,891	37,318 ± 3,599	133,538 ± 27,273
Acetovanilona	1,314 ± 0,552	1,464 ± 0,209	4,184 ± 0,637
Damascenona	n.d.	n.d.	35,746 ± 2,329
4-metoxi-benzaldeído	n.d.	n.d.	n.q
Acetatos			
Acetato de isobutilo	1,190 ± 0,783	0,547 ± 0,230	1,169 ± 0,215
Acetato isoamílico	442,464 ± 67,701	n.d.	41,612 ± 7,842
Acetato de 1,3,-propanodiol	18,316 ± 3,513	n.d.	n.d.
2-feniletil-acetato	304,755 ± 49,631	2,974 ± 0,219	30,401 ± 2,991
Terpenos			
Linalol	21,619 ± 1,711	16,193 ± 0,938	27,252 ± 2,538
Citronelol	n.d.	n.d.	20,167 ± 2,716
Mentol	n.d.	n.d.	43,873 ± 5,478
α-terpineol	19,409 ± 1,092	35,597 ± 3,743	63,440 ± 10,700
Eucaliptol	n.q	n.q	n.q
d-selinene	n.d.	n.d.	n.q
Fenólicos voláteis			
Fenol	5,147 ± 1,958	20,910 ± 7,442	31,271 ± 16,499
4-propil-guaiacol	n.d.	n.d.	853,901 ± 103,245
4-etil-guaiacol	0,194 ± 0,113	9,753 ± 0,699	108,895 ± 12,813
4-etil-fenol	n.d.	1,079 ± 0,091	93,936 ± 11,649
4-vinil-guaiacol	9,468 ± 0,909	n.d.	53,370 ± 20,641
Guaiacol	7,259 ± 0,456	2,257 ± 0,873	28,799 ± 4,664
4-metil-guaiacol	n.d.	32,187 ± 5,399	51,178 ± 7,162
Siringol	8,461 ± 1,098	1,786 ± 0,688	2,610 ± 0,057
Eugenol	n.d.	n.d.	40,535 ± 5,703
Tirosol	3360,722 ± 385,790	6,743 ± 1,256	6,606 ± 5,496
Cresol-1	n.d.	n.d.	24,946 ± 4,167
Cresol-2	n.d.	n.d.	44,424 ± 4,594
3,4-dimetoxi-fenol	n.q	n.d.	n.q

n.q. = valores não quantificados. n.d. = composto não detectado

continuação da Tabela 4.3.

	Vinho	Licor Ac. Cereais	Licor Cachaça
Lactonas			
γ -butirolactona	72,704 \pm 21,547	6,745 \pm 1,496	5,395 \pm 0,103
γ -nanolactona	1,577 \pm 0,571	1,385 \pm 0,053	31,475 \pm 5,650
Pantolactona	4,660 \pm 1,437	5,258 \pm 1,092	6,391 \pm 0,075
γ -etoxicarbonil- γ -butirolactona	538,046 \pm 45,430	4,130 \pm 0,499	4,300 \pm 0,602
4-etoxi-butiro lactona	n.q	n.q	n.q

n.q. = valores não quantificados. n.d. = composto não detectado

Ácidos orgânicos

Nos fermentados de jabuticaba foram encontrados sete diferentes ácidos orgânicos voláteis, sendo que os ácidos isovalérico, octanoico e hexanóico estavam presentes em concentrações superiores a 1000 μ g/L. Esses ácidos são comumente encontrados em vinhos, produzidos pelas leveduras durante a fermentação alcoólica (Izquierdo-Cañas et al., 2008). Os licores apresentaram majoritariamente os ácidos octanóico e hexanóico e mais uma vez o licor de cachaça apresentou concentração mais elevadas em relação ao elaborado com álcool de cereais. Esses ácidos foram originados provavelmente como consequência do processo fermentativo de obtenção destas duas matérias-primas e, como discutido anteriormente, o processo de destilação da cachaça foi capaz de mantê-los em concentrações mais elevadas. Segundo trabalho envolvendo a concentração de ácidos orgânicos em cachaças produzidas por destilador em coluna e por alambique (Serafim, Buchviser, Galinaro, Franco & Novaes, 2011), o tipo de destilador influencia na concentração final desses compostos, sendo que a destilação em alambique resultou em concentrações maiores. Tal fato reforça a ideia apresentada.

Aldeídos e cetonas

O acetaldeído, muito comum em bebidas alcoólicas, podendo ser encontrado em concentrações ente 400 e 600 μ M em vinhos, não foi detectado nas bebidas elaboradas a partir da jabuticaba. Este composto está associado à oxidação dos vinhos além de promover a rápida polimerização das antocianinas, catequinas e taninos (Osborne, Orduña, Polone & Liu, 2000). Mais uma vez os licores elaborados a partir da cachaça apresentaram maiores concentrações de aldeídos, em especial a vanilina e a acetophenona. A vanilina está associada a vinhos produzidos sob condições de envelhecimento oxidativo, sendo formado a partir da degradação da lignina (Azevêdo, 2007).

Em baixas concentrações, os aldeídos e cetonas podem ocasionar em aromas frutais ou florais, porém altas concentrações podem ser indicadores de deterioração causada

por aquecimento ou contaminação e podem levar a sabores amargos ou rançosos. Em concentrações ainda mais elevadas, podem causar toxidez e irritações (Stockton et al., 2010).

Acetatos

Durante a fermentação alcoólica um grande número de ésteres é formado em decorrência do metabolismo microbiano. Dentre eles, os acetatos estão presentes em maiores concentrações e contribuem de maneira importante para o aroma de vinhos tradicionais (Plata, Millan, Mauricio & Ortega, 2003). A produção de ésteres de acetato depende do balanço entre a síntese de ésteres por álcool acetiltransferase e a hidrólise por ester-hidrolases. Está diretamente relacionado às cepas das leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) utilizadas, sendo que alguns autores sugerem que a utilização de outras espécies de leveduras pode incrementar o aroma de vinhos (Rojas, Gil, Piñaga & Manzanares, 2003).

Os fermentados apresentaram valores muito superiores de acetatos em relação aos licores, sobretudo do acetato isoamílico e 2-feniletil, em decorrência ao processo fermentativo pelos quais passaram. O acetato isoamílico é um dos ésteres que mais contribuem para o perfil do aroma de vinhos brancos (Plata et al., 2003), proporcionando um aroma característico de banana. Por sua vez, o acetato 2-feniletil proporciona aromas frutados e florais, com notas de mel (Rojas et al., 2003). O licor produzido a partir da cachaça apresentou concentrações de acetato isoamílico e 2-feniletil acetato cerca de 10 vezes inferiores ao fermentado alcoólico. Tais compostos provavelmente são oriundos do processo fermentativo que deu origem à cachaça. O acetato mais abundante no licor obtido a partir do álcool de cereais foi o 2-feniletil acetato, em concentração cerca de 100 vezes inferior à encontrada no fermentado alcoólico.

Terpenos

Os terpenos são uma extensa classe de compostos de baixo peso molecular e de larga distribuição na natureza. Em bebidas alcoólicas, contribuem positivamente para o aroma. Estão presentes nos vinhos, sendo que podem ser originários da própria uva ou produzidos por enzimas durante o processo de fermentação ou de maturação das bebidas. Já foram identificados também em cachaças e outras bebidas destiladas, sendo que a sua presença está relacionada à boa aceitação da cachaça, graças às notas florais mais intensas que essa classe de compostos proporciona (Cardeal & Marriott, 2010).

Os terpenos podem ser encontrados nas formas livre ou combinada com glicosídeos, sendo que a forma combinada não apresenta o aroma desejado. A concentração na forma livre é resultante da atividade da enzima β -glicosidase das leveduras, que hidrolisa aqueles presentes na forma glicosilada e aumenta o teor de terpenos aromáticos nas bebidas (Izquierdo-Cañas et al., 2012). As leveduras *S. cerevisiae*, segundo alguns autores, não apresentam atividade de β -glicosidase, justificando a baixa concentração de terpenos livres em vinhos (Maicas & Mateo, 2005). No entanto, a cachaça é normalmente elaborada a partir de leveduras selvagens, o que poderia resultar em maiores concentrações desta classe de compostos. A cachaça utilizada na elaboração dos licores foi obtida artesanalmente sendo que no seu processo de obtenção foram empregadas leveduras selvagens. Nos licores obtidos a partir da cachaça, é notória a presença de concentrações mais elevadas de terpenos, provavelmente devido a esse fato.

Dos quatro terpenos encontrados nas bebidas elaboradas, dois deles, citronelol e mentol, estavam presentes somente nos licores obtidos a partir de cachaça, sendo provavelmente originários da própria. Os demais, linalol e α -terpineol, estavam presentes nos três tipos de bebidas analisadas, no entanto, estavam presentes em maiores concentrações nos licores elaborados com cachaça. Nesse caso, uma parte dessa concentração pode ser originária da cachaça e outra parte do próprio fruto. O linalol possui perfume floral que remete a condimentos e limão e é encontrado em uvas e vinhos. Possui limite de detecção olfativa baixo, sendo facilmente detectado. O α -terpineol também é encontrado em uvas e possui aroma que remete ao melão. No entanto, seu limite de detecção olfativa é cerca de 4 a 10 vezes menor do que o linalol, havendo maiores dificuldades de detecção pelo olfato humano (Lengyel, 2012).

Fenólicos voláteis

Os fenólicos voláteis presentes em bebidas alcoólicas são normalmente produzidos a partir do metabolismo das leveduras e podem, muitas vezes, transmitir odores e sabores desagradáveis (Cabrita, Palma, Patão & Freitas, 2012). Em vinhos, esta classe de compostos causa sensações de amargor e adstringência além de influenciar na percepção de doçura e acidez e exercer impacto na percepção do corpo (Jackson, 2009). No entanto, alguns desses fenólicos possuem atividades antioxidante e antiinflamatória.

Dentre as bebidas de jabuticaba obtidas, o licor produzido a partir da cachaça possui concentrações de fenólicos superiores aos demais, sobretudo de 4-propil-guaiacol, 4-etil-guaiacol, 4-etil-fenol e eugenol, característicos da cachaça. O tirosol,

composto encontrado nos fermentados em maior concentração, é um fenólico abundante em vinhos, cervejas e em azeite de oliva, com reconhecida atividade antioxidante (Souza, Vásquez, Mastro, Acree & Lavin, 2006). Em vinhos, concentrações acima de 25 mg/L causam amargor nas bebidas.

Lactonas

As lactonas são amplamente distribuídas na natureza, sobretudo em frutos como damasco, pêsego e morango. Em vinhos, são produzidas a partir da fermentação, esterificação intra-molecular dos ácidos hidroxicinâmicos correspondentes ou são liberados pela madeira dos barris que armazenam a bebida (Liberatore, Pati, Nobile & Notte, 2010), contribuindo para o aroma frutado (Pino & Queris, 2011). Dentre as bebidas obtidas, os fermentados de jabuticaba apresentaram maiores concentrações de lactonas, sobretudo γ -butirolactona e γ -etoxycarbonil- γ -butirolactona, como estas bebidas não foram envelhecidos em madeira e tendo em vista a ausência de ácidos hidroxicinâmicos na jabuticaba (capítulo 2), pode-se concluir que esses compostos estão presentes como co-produtos da fermentação.

4. Conclusões

Foram identificados voláteis originários da transformação de compostos naturalmente presentes na jabuticaba, além de compostos originados em decorrência do processo de fermentação alcoólica., no caso do fermentado. Nos licores foram observados compostos originários da matéria-prima de origem, cachaça e álcool de cereais.

Os licores, que são bebidas simples de serem produzidas, apresentaram grande complexidade no aroma. O licor elaborado a partir da cachaça apresentou a maior complexidade de aroma, sendo a amostra que apresentou o maior número de compostos na sua composição volátil, incluindo terpenos e fenólicos. O licor obtido a partir do álcool de cereais, por sua vez, apresentou menor complexidade do aroma, devido à sua matéria-prima de origem.

Embora o licor elaborado com a cachaça tenha apresentado características químicas interessantes, não se pode dizer que esse fato contribuiu para a qualidade final do aroma do ponto de vista organoléptico. Sabe-se que os compostos voláteis contribuem para o aroma de maneiras muito distintas, sendo que para alguns compostos não necessárias concentrações altas para percepção humana, enquanto que para outros, pequenas concentrações podem ser percebidas. As diferenças entre o aroma das bebidas não influenciaram na aceitação do aroma pelos consumidores, conforme descrito no capítulo

3, sendo que as três bebidas aqui discutidas obtiveram a mesma média de aceitação no teste sensorial.

5. Referências bibliográficas

- Asquiere, E. R., Silva, A. G. M., Cândido, M. A. (2009). Aguardente de jabuticaba obtida da casca e borra da fabricação de fermentado de jabuticaba. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 29(4), 896–904.
- Azevêdo, L. C. (2007). Efeito da Presença e Concentração de Compostos Carbonílicos na Qualidade de Vinhos. *Química Nova*, 30(8), 1968–1975.
- Cabrita, M. J., Palma, V., Patão, R., Freitas, A. M. C. (2012). Conversion of hydroxycinnamic acids into volatile phenols in a synthetic medium and in red wine by *Dekkera bruxellensis*. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 32(1), 106–112. <http://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000024>
- Cardeal, Z. L., Marriott, P. J. (2010). Caracterização das Etapas de Produção de Cachaça por meio de Perfis Cromatográficos Obtidos por Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente. *Scientia Chromatographica*, 2(3), 69–80.
- Cardeal, Z. L., Souza, P. P., Silva, M. D. R. G., Marriott, P. J. (2008). Comprehensive two-dimensional gas chromatography for fingerprint pattern recognition in cachaça production. *Talanta*, 74(4), 793–799. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.07.021>
- Carrau, F. M., Medina, K., Farina, L., Boido, E., Henschke, P. A., Dellacassa, E. (2008). Production of fermentation aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts: Effects of yeast assimilable nitrogen on two model strains. *FEMS Yeast Research*, 8(7), 1196–1207. <http://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00412.x>
- Chung, H., Yoon, M. K., Han, J., Kim, Y. S. (2015). Evaluation of volatile organic compounds in alcoholic beverages consumed in Korea. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 58(3), 423–432. <http://doi.org/10.1007/s13765-015-0059-1>
- Duarte, W. F., Dias, D. R., Oliveira, J. M., Teixeira, J. A., Almeida e Silva, J. B., Schwan, R. F. (2010). Characterization of different fruit wines made from cacao, cupuassu, gabirola, jaboticaba and umbu. *LWT - Food Science and Technology*, 43(10), 1564–1572. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.03.010>
- Izquierdo Cañas, P. M., García-Romero, E., Gómez-Alonso, S., & Palop Herreros, M. L. L. (2008). Changes in the aromatic composition of Tempranillo wines during spontaneous malolactic fermentation. *Journal of Food Composition and Analysis*,

21(8), 724–730. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.12.005>

- Izquierdo-Cañas, P. M., Pérez-Martín, F., Romero, E. G., Prieto, S. S., Herreros, M. L. P. (2012). Influence of inoculation time of an autochthonous selected malolactic bacterium on volatile and sensory profile of Tempranillo and Merlot wines. *International Journal of Food Microbiology*, 156(3), 245–254. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.033>
- Jackson R. S.. *Wine Tasting: A Professional Book*. second edition, Elsevier Science Publishing Co Inc, 512 p., 2009. ISBN: 978-0-12-374181-3.
- Jiang, B., Zhang, Z. (2010). Volatile compounds of young wines from cabernet sauvignon, cabernet gernischt and chardonnay varieties grown in the loess plateau region of China. *Molecules*, 15(12), 9184–9196. <http://doi.org/10.3390/molecules15129184>
- Juan, C., Jianquan, K., Junni, T., Zijian, C., Ji, L. (2012). The Profile in Polyphenols and Volatile Compounds in Alcoholic Beverages from Different Cultivars of Mulberry. *Journal of Food Science*, 77(4), 430–436. <http://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02593.x>
- Lengyel, E. (2012). Primary aromatic character of wines. *Acta Universitatis Cibiniensis, Series E: Food Technology*, XVI(1), 3–18.
- Liberatore, M. T., Pati, S., Nobile, M. A., Notte, E. L. (2010). Aroma quality improvement of Chardonnay white wine by fermentation and ageing in barrique on lees. *Food Research International*, 43(4), 996–1002. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.01.007>
- Lima, U. A. (2009). Licores. In W. G. Venturine-Filho (Ed.), *Bebidas Alcoólicas, Ciência e Tecnologia Bebidas* (1° ed.). São Paul: Blucher.
- Maicas, S., Mateo, J. J. (2005). Hydrolysis of terpenyl glycosides in grape juice and other fruit juices: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67, 322–335.
- Miranda, M. B., Horri, J., Alcarde, A. R. (2006). Estudo do efeito da irradiação gamma (60 CO) na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 26(4), 772–778.
- Molina, A. M., Guadalupe, V., Varela, C., Swiegers, J. H., Pretorius, I. S., Agosin, E. (2009). Differential synthesis of fermentative aroma compounds of two related commercial wine yeast strains. *Food Chemistry*, 117(2), 189–195. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.116>
- Nykänen, L., Suomalainen, H., Suomalainen, H. (1983). *Aroma of Beer, Wine and Distilled Alcoholic Beverages (Handbook of Aroma Research)*. Springer.

- Osborne, J. P., Orduña, R. M., Pilone, G. J., Liu, S-Q. (2000). Acetaldehyde metabolism by wine lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 191, 51-55.
- Pietruszka, M., Pielech-Przybylska, K., Szopa, J. S. (2010). Synthesis of higher alcohols during alcoholic fermentation of rye mashes. *Scientific Bulletin of the Technical University of Lodz*, 74(1081), 51–64.
- Pino, J. A., Queris, O. (2011). Analysis of volatile compounds of mango wine. *Food Chemistry*, 125, 1141–1146.
- Plata, C., Millan, C., Mauricio, J. C., Ortega, J. M. (2003). Formation of ethyl acetate and isoamyl acetate by various species of wine yeasts. *Food Microbiology*, 20, 217–224.
- Rojas, V., Gil, J. V., Piñaga, F., Manzanares, P. (2003). Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 86, 181–188.
- Serafim, F. A. T., Buchviser, S. F., Galinaro, C. A., Franco, D. W., Novaes, F. V. (2011). Ácidos orgânicos em aguardentes produzidas em alambique e em coluna. *Química Nova*, 34(8), 1443–1449.
- Souza, M. D. C. A. , Vásquez, P., Mastro, N. L. , Acree, T. E., Lavin, E. H. (2006). Characterization of Cachaça and Rum Aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(2), 485–488. <http://doi.org/10.1021/jf0511190>
- Souza, P. P., Cardeal, Z. L., Augusti, R., Morrison, P., Marriott, P. J. (2009). Determination of volatile compounds in Brazilian distilled cachaça by using comprehensive two-dimensional gas chromatography and effects of production pathways. *Journal of Chromatography A*, 1216, 2881–2890.
- Stockton, A. M., Tjin, C. C., Huang, G. L., Benhabib, M., Chiesl, T. N., Mathies, R. A. (2010). Analysis of carbonaceous biomarkers with the Mars Organic Analyzer microchip capillary electrophoresis system: Aldehydes and ketones. *Electrophoresis*, 31(22), 3642–3649. <http://doi.org/10.1002/elps.201000424>

CAPÍTULO V. IDENTIFICAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS E ÁCIDOS ORGÂNICOS EM FERMENTADOS ALCOÓLICOS E LICORES DE JABUTICABA (PLINIA JABOTICABA) PRODUZIDOS ARTESANALMENTE.

Resumo

O conteúdo de ácidos orgânicos, aminoácidos e aminas biogênicas é pouco discutido na caracterização de bebidas alcoólicas pouco convencionais. Dessa forma, o presente trabalho objetivou a caracterização do conteúdo de glicerol, 2,3-butanodiol, ácidos orgânicos, aminoácidos, aminas biogênicas e íon amônia em licores e fermentados alcoólicos de jabuticaba produzidos artesanalmente. Dentre os ácidos orgânicos analisados, os licores apresentaram somente os naturais da jabuticaba, sendo eles os ácidos málico, cítrico e succínico. Os fermentados apresentaram, além desses ácidos, aqueles decorrentes do processo fermentativo, láctico e acético. Os fermentados apresentaram ainda glicerol e 2,3-butanodiol, ausentes nos licores. Os licores possuem qualitativa e quantitativamente mais aminoácidos do que os fermentados, dada a utilização desses compostos como fonte de nitrogênio para a atividade das leveduras durante a fermentação. O conteúdo de aminas biogênicas nas bebidas analisadas foi considerado seguro para o consumo e a concentração de ácido acético dos fermentados esteve abaixo do valor considerado prejudicial ao sabor e aroma de vinhos, indicando ausência de contaminação. Os dados obtidos, inéditos para fermentados e licores de jabuticaba, podem auxiliar nos estudos de compostos dessa natureza em bebidas alcoólicas pouco tradicionais.

1. Introdução

Muito se fala atualmente da composição fenólica das bebidas alcoólicas, sendo que seus demais constituintes são muitas vezes negligenciados. Esse fato pode não ser verdadeiro para vinhos, que são largamente pesquisados em seus mais distintos aspectos, mas se torna pertinente quando se refere a bebidas menos usuais, que são escassamente estudadas. Compostos como o glicerol, ácidos orgânicos, aminoácidos e aminas biogênicas, que são abundantes em vinhos e contribuem para a estabilidade física e microbiológica e qualidades organolépticas das bebidas, estão presentes também em outras bebidas alcoólicas, nas quais seus aspectos qualitativos e quantitativos são muitas vezes ignorados.

O glicerol é o composto mais abundante em vinhos depois da água e do etanol. É produzido por leveduras como um co-produto da fermentação alcoólica, contribui para o

controle osmótico do meio de fermentação e afeta o flavor dos vinhos, conferindo corpo e maciez à bebida (Ribéreau-Gayon, Glories, Maujean & Duboudieu, 2002).

O 2,3-butanodiol é um poliol formado na fermentação alcoólica e provavelmente na malolática. É produzido a partir do piruvato, em um processo de fermentação ácida incluindo vários intermediários (Celińska & Grajek, 2009). Possui sabor ligeiramente doce e amargo, mas não influencia no flavor dos vinhos (Ribéreau-Gayon et al., 2002). No entanto a sua concentração em vinhos é uma das principais características varietais (Dourtoglou, Antonopoulos, Dourtoglou & Lalas, 2014).

Os ácidos orgânicos estão presentes em vinhos e são originados da uva ou produzidos durante o processo fermentativo. Compõem a fração de sólidos solúveis totais das bebidas, juntamente com os carboidratos e são os grandes responsáveis pela acidez e efeito tamponante. Dentre aqueles originários da uva, podem-se citar os ácidos tartárico, málico e cítrico, sendo que os dois primeiros são também os mais abundantes em vinhos. Dentre os obtidos em decorrência do processo de fermentação destacam-se os ácidos succínico, láctico e acético (Mato, Suárez-Luque & Huidobro, 2007).

Os aminoácidos livres estão presentes nos vinhos e possuem diversas origens, tais como degradação das proteínas da uva e o metabolismo de leveduras e bactérias. A sua composição em vinhos tradicionais varia de acordo com a variedade e grau de maturação da uva, clima, técnicas de vinificação, incluindo o tempo de maceração e de envelhecimento e cepas microbianas utilizadas no processo fermentativo (Tuberoso, Congiu, Serreli & Mameli, 2015). São elementos fundamentais na dieta humana, por isso possuem grande importância nutricional. Desempenham importante função durante os processos fermentativos, sendo eles, somados ao íon amônia, um dos fatores de crescimento de leveduras e bactérias lácteas (Gómez-Alonso, Hermosín-Gutierrez & García-Romero, 2007), atuando como fonte de nitrogênio para as fermentações alcoólica e malolática (Arrieta & Prats-moya, 2012; Barrado, Rodriguez & Castrillejo, 2009). Os aminoácidos livres também são precursores de substâncias aromáticas nas bebidas fermentadas, tais como álcoois, aldeídos e ácidos cetônicos, além de influenciar no sabor de alimentos fermentados (Cerrillo et al., 2015).

Por outro lado, os aminoácidos são os precursores das aminas biogênicas, originadas a partir do processo de descarboxilação desses compostos por enzimas de agentes microbianos ou de ocorrência natural em plantas. Em vinhos já foram identificados mais de 20 tipos de aminas e sua presença está relacionada à baixa qualidade das bebidas (Gomes, Pires, Fracalanza & Marin, 2014). A presença de altas concentrações de aminas é a principal causa de intolerância a vinhos. Além de produzirem efeitos

negativos no aroma do produto (Arrieta & Prats-Moya, 2012), podem ser tóxicas aos consumidores, ocasionando em doenças cardíacas e respiratórias graves (Tuberoso et al., 2015).

Devido à importância dos compostos citados na qualidade de bebidas alcoólicas, o presente capítulo teve por objetivo a identificação e quantificação de glicerol, 2,3-butanodiol, ácidos orgânicos, aminoácidos, aminas biogênicas e íon amônia em licores e fermentados alcoólicos de jabuticaba produzidos artesanalmente.

2. Material e métodos

2.1. Aquisição da matéria-prima

Os fermentados alcoólicos e licores de jabuticabas utilizados nesse trabalho foram elaborados de maneira artesanal e em escala laboratorial conforme descrito no capítulo 3.

2.2. Determinação do conteúdo de glicerina, 2,3-butanodiol e ácidos cítrico, tartárico, succínico, láctico e acético por HPLC

Para essa análise foi utilizado equipamento de HPLC equipado com bomba quaternária (Jasco, PU-2089 Plus, Quaternary Gradient Pump), injetor automático de amostras (Jasco, AS-1555, Intelligent Sampler) e detector de Índice de Refração (Shodex RI-71). A separação cromatográfica foi realizada por coluna Aminex HPX-87 H (300 X 7,8 mm, 9 µm de tamanho de partícula). Como fase móvel foi utilizada uma solução de H₂SO₄ 0,008 N em água ultrapura, de modo isocrático. As seguintes condições cromatográficas foram empregadas: fluxo de 0,6 mL/min, temperatura de trabalho de 85 °C e pressão inicial de 49 atm (5 MPa). Foram utilizados 10 µL de amostras de fermentados e licores injetados diretamente no sistema de HPLC após diluição (1:1) em água.

A identificação dos compostos foi realizada com base na comparação dos tempos de retenção dos picos obtidos àqueles obtidos por seus respectivos padrões. A quantificação foi realizada por meio de curvas de calibração utilizando-se padrões autênticos para cada analito. Além disso, foram utilizados padrões externos de quantificação, injetados ao sistema antes e depois de cada série de amostras. Os tempos de retenção do pico do padrão externo de quantificação e do pico identificado na amostra não poderiam diferir entre si mais que 2,5 % para que a quantificação fosse considerada.

2.3. Determinação dos aminoácidos, aminas biogênicas e íon amônia por HPLC

A determinação dos aminoácidos e aminas biogênicas em licores e fermentados de jabuticaba foi realizada com base em metodologias descritas previamente (Gómez-Alonso et al., 2007; Poveda, Molina & Gómez-Alonso, 2016).

Anteriormente à análise, foram realizadas reações de derivatização por meio da adição, em tubos de ensaio, de 1,75 mL de tampão borato 1 M (pH 9) e 750 µL de metanol a 1 mL das amostras das bebidas sem nenhuma preparação prévia. Foram adicionados ainda 20 µL do padrão interno (L-2- ácido aminoalípico 1 g/L) e 30 µL de DEEMM (dietiletoximetilenemalonato). Os tubos foram levados para o banho de ultrason durante 30 min e logo após para estufa a 70 °C por duas horas, para a completa degradação do excesso de DEEMM.

A análise por HPLC foi realizada por equipamento Agilent 1200 (Agilent Technologies, Madrid, Espanha), equipado com bomba binária e injetor automático de amostras. A separação cromatográfica foi realizada por coluna Zorbax Eclipse XDB C18 com partículas de 5 µm (12,5 mm x 4,6 mm), termoestabilizada a 16 °C. Foram utilizadas duas fases móveis, em gradiente binário de eluição. A fase móvel A (25 mM de tampão acetato pH 5,8 com 0,02% v/v de trinitrogeneto de sódio - NaN₃) e a fase móvel B (acetronitrilo: metanol 80:20 v/v) seguiram o fluxo de vazão de 0,9 mL e o seguinte quociente de eluição: zero min (90% A e 10% B), 20 min (90% A e 10% B), 30,5 min (83% A e 17% B), 33,5 min (83% A e 17% B), 65 min (60% A e 40% B), 73 min (28% A e 72% B), 78 min (18% A e 82% B), 82 min (0% A e 100% B), 85 min (0% A e 100% B).

A detecção dos compostos foi realizada por um detector tipo DAD (Agilent), sendo utilizados os comprimentos de onda de 260 nm para o íon amônia e 280 nm para os demais compostos. A identificação dos compostos foi realizada com base nos tempos de retenção comparados com os tempos de retenção dos padrões autênticos, sob as mesmas condições de análise. Foram utilizados os padrões para os seguintes aminoácidos: isoleucina, leucina, valina, fenilalanina, metionina, treonina, triptofano, lisina, asparagina, glutamina, alanina, arginina, cisteína, glicina, prolina, serina, tirosina, histidina, aspartato, ornitina e ácido gama-aminobutírico (gaba), aminas biogênicas: putrescina, β-feniletilamina, histamina, tiramina, triptamina e cadaverina e o íon amônio. A quantificação foi realizada com base no padrão interno.

2.4. Análises estatísticas

Os resultados quantitativos foram expressos por médias e desvios-padrão. Os dados foram comparados pela ANOVA e as médias pelo teste t a 0,05 de significância. Os testes estatísticos foram executados pelo software SAS versão 9.0.

3. Resultados e discussão

3.1. Ácidos orgânicos, glicerina e 2,3-butanodiol

Dentre os ácidos orgânicos analisados, o ácido cítrico foi o majoritário em ambos os tipos de bebidas. Os licores não passaram por processo fermentativo, dessa forma os ácidos orgânicos presentes (Tabela 5.1) são unicamente aqueles originários do fruto. Além do ácido cítrico, foram identificados nesse tipo de bebida o málico e o succínico. As concentrações dos ácidos orgânicos encontrados nos licores obtidos a partir do álcool de cereais e de cachaça não diferiram estatisticamente entre si, indicando que o tipo de fonte de etanol não influenciou na transferência dos ácidos do fruto para as bebidas.

Tabela 5.1. Concentração de ácidos orgânicos, 2,3-butanodiol e glicerina em licores e fermentados alcoólicos de jabuticaba elaborados artesanalmente.

	FA 24 h (g/L)	FA 48 h (g/L)	FA o 72 h (g/L)	Licor Ac (g/L)	Licor Ca (g/L)
Málico	0,770 ± 0,020 a	0,767 ± 0,045 a	0,670 ± 0,040 b	0,530 ± 0,036 c	0,547 ± 0,023 c
Cítrico	2,833 ± 0,134 a	2,953 ± 0,168 a	2,777 ± 0,317 a	2,363 ± 0,136 b	2,390 ± 0,020 b
Succínico	1,400 ± 0,161 a	1,443 ± 0,025 a	1,363 ± 0,155 a	0,077 ± 0,021 b	0,073 ± 0,025 b
Láctico	0,093 ± 0,006 a	0,087 ± 0,006 a	0,070 ± 0,010 b	n.d.	n.d.
Acético	0,100 ± 0,026 a	0,110 ± 0,026 a	0,080 ± 0,036 a	n.d.	n.d.
Total	5,197 ± 0,182 a	5,360 ± 0,209 a	4,960 ± 0,526 a	2,970 ± 0,177 b	3,010 ± 0,066 b
2,3 butanodiol	0,213 ± 0,046 a	0,183 ± 0,026 a	0,210 ± 0,036 a	n.d.	n.d.
Glicerina	8,343 ± 0,021 a	8,180 ± 0,135 a	7,720 ± 1,117 a	n.d.	n.d.

n.d. não detectado. Em uma mesma linha, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste t ($p > 0,05$). FA 24h, FA 48h e FA 72h são fermentados alcoólicos elaborados a partir de 24, 48 e 72 h de maceração, respectivamente. Licor Ac e Licor Ca= licores elaborados a partir de álcool de cereais e cachaça, respectivamente.

Embora o ácido succínico seja encontrado em vinhos em consequência da fermentação alcoólica, como resultado do metabolismo das leveduras, ele pode ocorrer naturalmente em algumas frutas, como é o caso da jabuticaba, que já teve esse ácido relatado como o segundo mais abundante no fruto, que contém também os ácidos cítrico, málico, oxálico e acético (Lima, Corrêa, Dantas-Barros, Nelson & Amorim, 2011).

Os fermentados de jabuticaba apresentaram, além dos ácidos contidos no fruto, aqueles originários em decorrência do processo fermentativo. Sendo que neste tipo de

bebida estavam contidos todos os ácidos orgânicos analisados, além de 2,3-butanodiol e a glicerina. Além da diferença qualitativa, quantitativamente os fermentados de jabuticaba apresentaram maiores concentrações de ácidos orgânicos que os licores, para aqueles comuns às duas bebidas.

Os ácidos orgânicos possuem caráter hidrofílico (Li et al., 2016), tendo maior afinidade pelo meio aquoso do que pelo meio com altas concentrações de etanol. Essa seria a justificativa, além do processo de fermentação, para o fato dos fermentados conterem concentrações um pouco mais elevadas dos ácidos málico, cítrico e succínico em relação aos licores. Os fermentados, no início do processo fermentativo, não contêm quantidades consideráveis de etanol, o que facilita a transferência dos ácidos orgânicos para o meio logo no início desta etapa. Como os licores possuem altas concentrações de etanol logo no início da elaboração, teve-se como resultado, teores um pouco menor desses ácidos orgânicos.

Os ácidos orgânicos são normalmente fracos ($pK_a \sim 4$), mas contribuem para a acidez total de vinhos (Ribéreau-Gayon et al., 2002). A sua maior concentração nos fermentados de jabuticaba contribuíram para o menor valor de pH dessas bebidas, $3,127 \pm 0,031$ contra o valor de $3,542 \pm 0,008$ encontrado nos licores (capítulo 3). Em relação à concentração total de ácidos orgânicos, os fermentados estão dentro do intervalo de 4,9 a 10,3 g/L para os mesmos ácidos estudados, encontrados em 31 vinhos de diferentes uvas e safras (Zeravik et al., 2016), embora esteja próximo dos valores mais baixos. O teor de ácido málico encontrado está próximo ao valor reportado anteriormente para fermentado alcoólico de jabuticaba ($0,62 \pm 0,03$ g/L) (Duarte et al., 2010), no entanto o valor encontrado para a concentração de ácido succínico no mesmo trabalho ($5,11 \pm 0,19$ g/L) é superior aos valores observados neste. Os licores de jabuticaba possuem concentrações inferiores de ácidos orgânicos que não podem ser comparadas aos fermentados alcoólicos ou vinhos.

O ácido acético é o principal ácido volátil presentes nos vinhos. É produzido principalmente por bactérias acéticas que são consideradas contaminantes em vinhos, pois seus metabólitos resultam em características sensoriais desagradáveis. Valores acima de 0,4-0,5 g/L são indesejáveis em vinhos secos (Longin, Guilloux-Benatier & Alexandre, 2016). A legislação brasileira para fermentados alcoólicos de frutas (Brasil 2009) não estabelece padrões para a concentração de ácido acético nas bebidas. No entanto, tendo-se como referência os limites aceitáveis para vinhos, o conteúdo de ácido acético encontrado nos fermentados de jabuticaba estudados está dentro do valor desejável. Esse fato sugere que, mesmo em se tratando de uma produção artesanal, onde

não há controle das variáveis do processo de fermentação, as medidas adotadas para a elaboração dos fermentados de jabuticaba foram suficientes para evitar a contaminação dessas bebidas por bactérias acéticas, até o momento da análise. Dado anterior reporta a concentração de ácido acético em fermentado de jabuticaba ($0,78 \pm 0,15$ g/L) próximo aos valores encontrados (Duarte et al., 2010).

A concentração de 2,3-butanodiol, presente somente nas bebidas que foram submetidas ao processo de fermentação, está abaixo dos valores de 0,149 a 6,509 g/100g reportados na literatura para 33 vinhos varietais (Dourtoglou, Antonopoulos, Dourtoglo, & Lalas, 2014). Estudos indicam que essa substância é produzida em vinhos com elevados teores de acidez (Celińska & Grajek, 2009b). Dessa forma, a baixa concentração de 2,3-butanodiol nos fermentados de jabuticaba pode ter sido influenciada pela baixa concentração relativa de ácidos orgânicos nessas bebidas. A concentração de glicerina nos fermentados de jabuticaba também está dentro do esperado para bebidas desse tipo, sendo que em vinhos são encontrados valores entre 5 e 20 g/L (Ribéreau-Gayon et al., 2002). Esses valores também estão próximos ao encontrado anteriormente para fermentado alcoólico de jabuticaba ($7,56 \pm 0,38$ g/L) (Duarte et al., 2010).

3.2. Aminoácidos e aminas biogênicas

Durante a fermentação alcoólica para a obtenção de vinhos e demais bebidas, observa-se a relação direta entre os níveis de aminoácidos nos mostos e seu consumo durante a primeira metade da fermentação alcoólica (Carrera, Ruiz-Rodríguez, Palma & Barroso, 2015). No entanto, no decorrer da fermentação espera-se o aumento da concentração de aminoácidos devido à síntese destes pelas leveduras e a liberação após a morte e lise das células (Cerrillo et al., 2015). Dentre os aminoácidos investigados, observou-se que os fermentados alcoólicos de jabuticaba possuem menores concentrações e menor variedade de aminoácidos do que os licores (Tabelas 5.2 e 5.3). Esse fato indica que o meio alcoólico dos licores foi eficiente na extração desses compostos da fruta.

Dentre as aminas biogênicas investigadas, somente foram encontradas nos licores e fermentados de jabuticaba a β -feniletilamina, putrescina e triptamina. A histamina, tiramina e cadaverina, que são comuns em alimentos e bebidas não foram detectadas. Alta concentração de aminas biogênicas pode ser tóxico, causando intolerância e até sintomas mais graves em alguns indivíduos. A presença de diversos tipos de aminas pode potencializar a toxidez. Como o caso da histamina que possui efeito tóxico em

concentrações acima de 500 ppm, no entanto, sozinha pode não causar efeito tóxico em baixas concentrações, mas na presença de outras aminas, tais como putrescina e cadaverina, em concentrações cinco vezes superiores a da histamina, potencializa a sua toxidez (Naila, Flint, Fletcher, Bremer & Meerdink, 2010). Não é recomendável concentrações acima de 50 mg/L de aminas biogênicas em vinhos tintos.

Tabela 5.2. Concentração dos aminoácidos íon amônio e amidas biogênicas identificados em licores artesanais de jabuticaba elaborados a partir de álcool de cereais e cachaça. Valores em mg/L.

Aminoácidos	Licor	Licor
	Álcool de cereais	Cachaça
Alanina	62,176 ± 5,670 a	39,033 ± 8,343 b
Asparagina	118,216 ± 6,671 a	162,886 ± 2,999 b
Aspartato	112,503 ± 7,215 a	102,006 ± 5,246 a
Arginina	19,056 ± 3,082 a	15,603 ± 1,935 a
Fenilalanina	6,492 ± 0,566 a	5,009 ± 0,276 b
Glicina	42,925 ± 11,086 a	41,443 ± 10,136 a
Glutamato	116,972 ± 2,636 a	108,110 ± 1,061 b
Isoleucina	0,876 ± 0,037 a	0,836 ± 0,042 a
Leucina	20,315 ± 1,153 a	16,351 ± 1,334 b
Lisina	38,588 ± 2,877 a	31,829 ± 1,876 b
Metionina	6,641 ± 1,179 a	8,993 ± 2,108 a
Ornitina	13,650 ± 4,731 a	19,923 ± 2,788 a
Serina	66,039 ± 3,704 a	57,353 ± 7,309 a
Tirosina	19,231 ± 1,669 a	6,034 ± 2,580 b
Valina	45,913 ± 3,587 a	37,128 ± 1,666b
NH ₄ ⁺	33,738 ± 1,558 b	38,159 ± 0,858 a
Aminas biogênicas		
β-feniletilamina	2,897 ± 0,888 a	3,558 ± 0,159 a
Putrescina	10,403 ± 0,635 a	11,184 ± 0,904 a
Triptamina	0,944 ± 0,159 a	0,923 ± 0,061 a

Em uma mesma linha, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas pelo test t (p>0.005).

A falta de dados sobre o conteúdo de aminoácidos em bebidas de jabuticaba dificulta a discussão dos resultados, tornando inevitável a comparação dos licores com vinhos tradicionais, mesmo em se tratando de bebidas com características distintas. Utilizando os vinhos como referência, observa-se que os licores de jabuticaba apresentam concentrações de asparagina e aspartato elevadas e baixas concentrações de leucina e isoleucina. Valores comparados a diferentes vinhos da Sardenha (Tuberoso et al., 2015) e Espanha (Arrieta & Prats-Moya, 2012). A asparagina é um aminoácido muito comum na natureza, sendo um dos principais compostos de transporte e armazenamento de nitrogênio, devido à alta proporção nitrogênio/carbono e estabilidade (Gaufichon, Reisdorf-Cren, Rothstein, Chardon, & Suzuki, 2010). Dentre os aminoácidos presentes nos licores, todos, exceto o aspartato, estão dentre daqueles reportados como os principais aminoácidos encontrados em vinhos e uvas (Ribéreau-Gayon et al., 2002).

A putrescina, uma das aminas biogênicas mais comumente encontrada em alimentos e bebidas, foi a amina mais abundante nos licores. No entanto, as concentrações encontradas estão abaixo do valor considerado tóxico ao consumo humano (2000 ppm) (Naila et al., 2010).

Os licores provenientes de álcool de cereais obtiveram maiores concentrações de alguns aminoácidos do que os licores obtidos de cachaça. A cachaça é uma matéria-prima mais complexa que o álcool de cereais, além de conter uma pequena concentração de metais pesados e outros elementos que podem ocasionar a degradação de alguns compostos menos estáveis. A concentração de NH_4^+ nos licores de cachaça é maior que nos licores de álcool de cereais, o indicaria que nessas bebidas houve uma maior degradação dos aminoácidos, no entanto, a proporção entre a degradação e o aumento de NH_4^+ livre no meio é difícil de ser mensurada e não corresponde proporcionalmente à diferença de concentração dos aminoácidos nas diferentes bebidas. Outra causa da diminuição da concentração de aminoácidos é a sua descarboxilação e formação de aminas biogênicas. Por exemplo, a lisina e a fenilalanina são comumente descarboxialdas a tiramina, putrescina, cadaverina e β -feniletilamina (Redruello et al., 2017). Observam-se menores concentrações de lisina e fenilalanina nos licores elaborados com cachaça. No entanto, esses valores inferiores não corresponderam proporcionalmente ao aumento das respectivas aminas biogênicas nesses licores.

Tabela 5.3. Concentração dos aminoácidos, íon amônio e aminas biogênicas identificadas em fermentados alcoólicos de jabuticaba elaborados a partir de diferentes tempos de maceração. Valores em mg/L.

Aminoácidos	FA 24h	FA 48h	FA 72h
Alanina	146,324 ± 13,429 a	145,839 ± 40,010 a	75,907 ± 16,464 a
Lisina	6,143 ± 0,900 a	5,957 ± 1,291 a	n.d.
Metionina	8,153 ± 0,861 a	1,891 ± 0,001 c	4,528 ± 0,614 b
Prolina	3,932 ± 1,473 a	2,398 ± 0,431 a	2,269 ± 0,753 a
Valina	3,814 ± 0,967 b	8,848 ± 1,511 ab	15,947 ± 7,280 a
NH_4^+	2,288 ± 0,515 a	2,296 ± 0,523 a	2,738 ± 0,641 a
Aminas biogênicas			
β -feniletilamina	6,811 ± 0,497 a	3,061 ± 0,525 b	4,466 ± 1,803 b
Putrescina	28,355 ± 4,934 a	26,908 ± 6,582 a	26,401 ± 5,938 a

FA 24h, Fa 48h, FA 72h = fermentado alcoólico elaborado com 24 h, 48 h e 72 h de maceração, respectivamente. N.d.= analito não detectado. Em uma mesma linha, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas pelo test t ($p > 0,05$).

Os aminoácidos identificados nos fermentados (Tabela 5.3), alanina, lisina, metionina, prolina e valina foram encontrados também nos licores, com exceção da prolina. Presente nos fermentados em pequena quantidade, a ausência de prolina nos licores sugere que esse aminoácido possa ter sido sintetizado pelas leveduras durante a

fermentação alcoólica. Isso é possível uma vez que as leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, utilizadas no processo fermentativo dos fermentados de jabuticaba, são capazes de sintetizar prolina a partir do L-glutamato. Para as leveduras, essa conversão é vantajosa uma vez que a prolina atua como um osmoprotetor, protegendo as células do estresse oxidativo e conferindo uma maior tolerância à presença de etanol durante a fermentação alcoólica (Takagi, Takaoka, Kawaguchi & Kubo, 2005). Tal fato é observado também para a alanina, que teve sua concentração muitas vezes aumentada para os fermentados, podendo indicar que esse aminoácido também foi sintetizado pelas leveduras.

A triptamina, presente em baixas concentrações nos licores, não estava presente nos fermentados de jabuticaba. As demais aminas apresentaram-se em concentrações maiores nos fermentados, em relação aos licores. É sabido que o conteúdo de aminas, aumenta durante a fermentação e o armazenamento (Herbert, Cabrita, Ratola, Laureano & Alves, 2005). Este fato foi observado nos fermentados obtidos, em especial para a putrescina, no entanto, os valores encontrados continuam abaixo do limite de toxidez.

4. Conclusões

Os licores e fermentados de jabuticaba apresentaram características próprias à matéria-prima e aos processos empregados para a elaboração de cada bebida. Em aspectos gerais, os ácidos orgânicos estão presentes nos fermentados em maior concentração e os aminoácidos são mais abundantes e diversos nos licores. Os fermentados também apresentaram 2,3-butanodiol e glicerina em sua composição, ausentes nos licores e decorrentes como consequência do processo fermentativo.

Embora se tratem de bebidas artesanais, o conteúdo de aminas biogênicas presentes é considerado seguro para o consumo, não prejudicando a qualidade química das bebidas. O mesmo é verdadeiro para o conteúdo de ácido acético presente nos fermentados de jabuticaba, que está abaixo do valor considerado prejudicial ao sabor e aroma de vinhos tradicionais.

Mesmo em se tratando de matérias-primas distintas, as bebidas de jabuticaba não se distanciaram muito dos vinhos tradicionais em relação aos compostos estudados, nos aspectos qualitativos. Tal ocorrência é justificada pela grande distribuição desses compostos na natureza, que são comuns na maioria das frutas, como também, no caso dos fermentados de jabuticaba, devido às semelhanças dos processos fermentativos para obtenção de diferentes bebidas. Esse fato pode facilitar os estudos de compostos dessa

natureza em bebidas alcoólicas pouco tradicionais, para as quais os estudos são escassos.

5. Referências Bibliográficas

- Arrieta, M. P., Prats-Moya, M. S. (2012). Free amino acids and biogenic amines in Alicante Monastrell wines. *Food Chemistry*, 135, 1511–1519.
- Asquiere, E. R., Candido, M. A., Damiani, C., Assis, E. M. (2004). Fabricación de vino blanco y tinto de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* Berg) utilizando la pulpa y la cáscara respectivamente. *Alimentaria*, 355, 97–109.
- Asquiere, E. R., Damiani, C., Candido, M. A., Assis, E. M. (2004). Vino de jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg): estudio de las características físico-químicas y sensoriales de los vinos tinto seco y dulce, fabricados com la fruta integral. *Alimentaria*, 355, 111–122.
- Barrado, E., Rodriguez, J. A., Castrillejo, Y. (2009). Determination of primary amino acids in wines by high performance liquid. *Talanta*, 78, 672–675. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.12.023>
- (Brasil, 2009). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº6.871 de 4 de junho de 2009. Disponível em <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em 20/09/2016.
- Carrera, C., Ruiz-Rodríguez, A., Palma, M., Barroso, C. G. (2015). Ultrasonics sonochemistry ultrasound-assisted extraction of amino acids from grapes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 22, 499–505. <http://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.05.021>
- Celińska, E., Grajek, W. (2009). Biotechnological production of 2,3-butanediol—Current state and prospects. *Biotechnology Advances*, 27(6), 715–725. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.05.002>
- Cerrillo, I., Fernández-Pachón, M. S., Collado-González, J., Escudero-López, B., Berná, G., Herrero-Martín, G., Martín, F., Ferreres, F., Gil-Izquierdo, A. (2015). Effect of Fermentation and Subsequent Pasteurization Processes on Amino Acids Composition of Orange Juice. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(2), 153–159. <http://doi.org/10.1007/s11130-015-0472-y>
- Dourtoglou, V., Antonopoulos, A., Dourtoglou, T., Lalas, S. (2014). Discrimination of varietal wines according to their volatiles. *Food Chemistry*, 159, 181–187. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.032>
- Duarte, W. F., Dias, D. R., Oliveira, J. M., Teixeira, J. A., Almeida Silva, J. B., Schwan, R. F. (2010). Characterization of different fruit wines made from cacao, cupuassu, gabioba, jaboticaba and umbu. *LWT - Food Science and Technology*, 43(10), 1564–1572. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.03.010>
- Gaufichon, L., Reisdorf-Cren, M., Rothstein, S. J., Chardon, F., Suzuki, A. (2010). Biological functions of asparagine synthetase in plants. *Plant Science*, 179(3), 141–153. <http://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.04.010>
- Gomes, M. B., Pires, B. A. D., Fracalanza, S. A. P., Marin, V. A. (2014). O risco das aminas biogênicas nos alimentos. *Ciência e Saúde Coletiva*, 19(4), 1123–1134.

<http://doi.org/10.1590/1413-81232014194.18672012>

- Gómez-Alonso, S., Hermosín-Gutierrez, I., García-Romero, E. (2007). Simultaneous HPLC Analysis of Biogenic Amines , Amino Acids , and Ammonium Ion as Aminoenone Derivatives in Wine and Beer Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 608–613.
- Herbert, P., Cabrita, M. J., Ratola, N., Laureano, O., & Alves, A. (2005). Free amino acids and biogenic amines in wines and musts from the Alentejo region. Evolution of amines during alcoholic fermentation and relationship with variety, sub-region and vintage. *Journal of Food Engineering*, 66(3), 315–322. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.03.024>
- Li, J., Jia, S., Jun, S., Ji, S., Won, S., Lee, J. (2016). Ion-pair dispersive liquid – liquid microextraction solidification of floating organic droplets method for the rapid and sensitive detection of phenolic acids in wine samples using liquid chromatography combined with a core – shell particle column. *Journal of Food Composition and Analysis*, 45, 73–79.
- Lima, A. J. B., Corrêa, A. D., Dantas-Barros, A. M., Nelson, D. L., Amorim, A. C. L. (2011). Sugars, Organic Acids, Minerals and Lipids in Jabuticaba. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(2), 540–550.
- Longin, C., Guilloux-Benatier, M., Alexandre, H. (2016). Design and Performance Testing of a DNA Extraction Assay for Sensitive and Reliable Quantification of Acetic Acid Bacteria Directly in Red Wine Using Real Time PCR. *Frontiers in Microbiology*, 7, 831. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00831>
- Mato, I., Suárez-Luque, S., Huidobro, J. F. (2007). Simple determination of main organic acids in grape juice and wine by using capillary zone electrophoresis with direct UV detection. *Food Chemistry*, 102, 104–112. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.002>
- Naila, A., Flint, S., Fletcher, G., Bremer, P., & Meerdink, G. (2010). Control of biogenic amines in food - existing and emerging approaches. *Journal of Food Science*, 75(7), 139–150. <http://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01774>.
- Poveda, J. M., Molina, G. M., Gómez-Alonso, S. (2016). Variability of biogenic amine and free amino acid concentrations in regionally produced goat milk cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 51, 85–92. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.06.012>
- Redruello, B., Ladero, V., Rio, B., Fernández, M., Martín, M. C., Alvarez, M. A. (2017). A UHPLC method for the simultaneous analysis of biogenic amines, amino acids and ammonium ions in beer. *Food Chemistry*, 217, 117–124. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.040>.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Duboudieu, D. (2002). *Handbook of enology. Volume 2. The Chemistry of wine, stabilization and treatments* Chichester, John Wiley & Sons Ltda., 451p.
- Sá, L. Z. C. M., Castro, P. F. S., Lino, F. M. A., Bernardes, M. J. C., Viegas, J. C. J., Dinis, T. C. P., Santana, M. J., Romão, W., Vaz, B. G., Lião, L. M., Chedini, P. C., Rocha, M. L., Gil, E. S. (2014). Antioxidant potential and vasodilatory activity of fermented beverages of jabuticaba berry (*Myrciaria jaboticaba*). *Journal of Functional Foods*, 8, 169–179.

- Silva, P. H. A., Faria, F. C., Tonon, B., Mota, S. J. D., Pinto, V. T. (2008). Avaliação da Composição Química de Fermentados Alcoólicos de Jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). *Quimica Nova*, 31(3), 595–600.
- Takagi, H., Takaoka, M., Kawaguchi, A., Kubo, Y. (2005). Effect of L-Proline on sake brewing and ethanol stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12), 8656–8662. <http://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8656-8662.2005>
- Tuberoso, C. I. G., Congiu, F., Serreli, G., Mameli, S. (2015). Determination of dansylated amino acids and biogenic amines in Cannonau and Vermentino wines by HPLC-FLD. *Food Chemistry*, 175, 29–35.
- Zeravik, J., Fohlerova, Z., Milovanovic, M., Kubesa, O., Zeisbergerova, M., Lacina, K., Skladal, P. (2016). Various instrumental approaches for determination of organic acids in wines. *Food Chemistry*, 194, 432–440. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.013>

CONCLUSÃO GERAL

A jabuticaba e seus produtos derivados têm grande importância econômica para o município de Sabará, embora a sua produção tenha caráter artesanal e a comercialização ocorra informalmente. A falta de informações e a informalidade resultam em produtos sem padrão de qualidade, ocasionando a ausência de uma identidade regional, o que poderia atrair mais consumidores.

Os fermentados alcoólicos obtidos não apresentaram diferenças qualitativas nos compostos fenólicos identificados. O tempo de maceração influenciou a composição dos fermentados obtidos até 48 h, sendo que as bebidas obtidas com 48 e 72 h de maceração não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (teste t $P > 0,05$) para a maioria dos compostos analisados, bem como para os atributos avaliados na análise sensorial (cor, aroma e sabor). Os fermentados obtidos com 24 h de maceração apresentaram reduzida concentração de compostos fenólicos e perda das características organolépticas após pouco tempo de armazenamento.

Os fermentados alcoólicos e licores foram semelhantes entre si quanto à capacidade antioxidante. Nos fermentados, as antocianinas se mantiveram mais estáveis, enquanto que os licores apresentaram maiores concentrações de compostos fenólicos totais. Os licores obtiveram, no geral, maiores teores de aminoácidos e os fermentados apresentaram maiores teores de ácidos orgânicos.

As bebidas obtiveram grande complexidade de aroma, dado o grande número de compostos voláteis identificados. O licor obtido a partir da cachaça obteve o maior número de compostos voláteis identificados e ambos os licores foram as bebidas mais bem aceitas pelos consumidores. O caráter artesanal das bebidas obtidas não comprometeu a qualidade e a segurança dos produtos para o consumo.

A caracterização das bebidas resultou na obtenção de grande volume de dados para produtos até então muito pouco estudados. Esses dados contribuirão para a melhoria da qualidade dessas bebidas, auxiliando na tecnificação da produção. A caracterização de diferentes espécies de jabuticaba quanto à composição fenólica revelou grande quantidade de compostos, sobretudo flavonóides, até então não relatados, além de antocianinas que não haviam sido identificadas em frutos de jabuticaba até então. Esses dados servirão de base para futuros estudos, além de caracterizar frutos que praticamente não são cultivados, como as espécies menos conhecidas de jabuticaba.