

## INFLUÊNCIA DO pH E TEMPERATURA NA QUANTIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM FERMENTADO ALCOÓLICO MISTO DE MAÇÃ (*Pyrus malus* L.) E AMORA PRETA (*Rubus sp.*)

### INFLUENCE OF pH AND TEMPERATURE ON THE AMOUNT OF BIOACTIVE COMPOUNDS IN MIXED ALCOHOLIC FERMENTED APPLE (*Pyrus malus* L.) AND BLACKBERRY (*Rubus sp.*)

Deise Machado<sup>1</sup>  
Diego Matos Favero<sup>2</sup>  
Kely Priscila de Lima<sup>3</sup>

**Resumo:** Geralmente as frutas apresentam características adequadas para produção de bebidas fermentadas, desta forma, esses produtos devem ser bastante pesquisados e incentivados. A maçã (*Pyrus malus* L.) variedade Fuji e a amora preta (*Rubus sp.*), cultivar Tupy são frutas cultivadas em Palmas (PR) pelo seu ótimo desenvolvimento no frio. Assim, o objetivo deste trabalho consistiu em elaborar formulações de fermentado de frutas misto de maçã (*Pyrus malus* L.) e amora-preta (*Rubus sp.*) com diferentes pHs e temperaturas a fim de verificar a influência de duas variáveis no processo fermentativo frente aos compostos bioativos. Foram realizadas quatro fermentações para verificar a interação entre dois fatores o pH (3,5 e 3,9) e a temperatura (25 °C e 30 °C), utilizando um delineamento fatorial inteiramente casualizado, 2<sup>2</sup>. Posteriormente foi quantificado seus compostos bioativos como as antocianinas, atividade antioxidante total e fenólicos totais e realizadas algumas análises físico-químicas como o teor alcoólico, calorías, densidade e teor de sólidos solúveis utilizando o equipamento *Alcolyzer Beer*. E empregando o software "Statistica 10" foram obtidas a análise de variância, diagrama de Pareto e superfície de resposta, para todos os resultados obtidos. Desta forma foi possível observar que apenas as antocianinas tiveram diferença estatística, sendo que o parâmetro pH apresentou influência negativa na quantidade delas. Assim, se esse fermentado for reproduzido preferencialmente deverá ser realizada sua fermentação na temperatura de 30°C e pH inicial de 3,5 ou ligeiramente abaixo para manter as antocianinas no produto.

**Palavras-chave:** Fermentado alcoólico. Bebida. Compostos fenólicos. Análises físico-químicas, antioxidantes.

1 Acadêmica Curso de Farmácia, Instituto Federal do Paraná, campus Palmas-PR, machado.deise@hotmail.com.br

2 Docentes Curso Técnico em Alimentos do Instituto Federal do Paraná, campus Palmas-PR, diego.favero@ifpr.edu.br

3 Docente do Curso de Farmácia e Técnico em Alimentos do Instituto Federal do Paraná, campus Palmas-PR, kely.lima@ifpr.edu.br

**Abstract:** Generally, fruits have adequate characteristics for the production of fermented drinks, therefore, these products must be thoroughly researched and encouraged. Apples (*Pyrus malus* L.) Fuji variety and blackberries (*Rubus* sp.), cultivate Tupy are fruits grown in Palmas (PR) for their excellent development in the cold. Thus, the objective of this work was to elaborate formulations of mixed fruit fermented apple (*Pyrus malus* L.) and blackberry (*Rubus* sp.) with different pHs and temperatures in order to verify the influence of two variables in the fermentation process to bioactive compounds. Four fermentations were carried out to verify the interaction between two factors, pH (3.5 and 3.9) and temperature (25 ° C and 30 ° C), using a completely randomized factorial design, 2<sup>2</sup>. Subsequently, its bioactive compounds such as anthocyanins, total antioxidant activity and total phenolics were quantified and some physical-chemical analyzes were carried out, such as alcohol content, calories, density and soluble solids content using the Alcozyzer Beer equipment. And using the “Statistica 10” software, analysis of variance, Pareto diagram and response surface were obtained for all results obtained. Thus, it was possible to observe that only anthocyanins had a statistical difference, and the pH parameter had a negative influence on their quantity. Thus, if this fermentate is reproduced preferably, it must be fermented at a temperature of 30 ° C and an initial pH of 3.5 or slightly below to maintain the anthocyanins in the product.

**Keywords:** Alcoholic fermented. Beverage. Phenolic compounds. Physicochemical analysis, antioxidants.

## 1 INTRODUÇÃO

Vários estudos vem sendo divulgados sobre a elaboração e caracterização de fermentados de frutas. Com isso, as indústrias de destilados e fermentados têm crescido, especialmente com a utilização de frutas características de cada região (SOUSA; BAPTISTA; ZAN, 2018). O aproveitamento de frutas regionais no desenvolvimento de novos produtos promove a redução de perdas pós colheita e pode gerar benefícios econômicos para o país (DUARTE *et al.*, 2018).

Por se tratar de um município frio, Palmas foi contemplada com o título de capital paranaense do frio e da maçã (PARANÁ, 2017). Além de apresentar excelentes propriedades medicinais, essa é a terceira fruta mais consumida nessa região, que produz principalmente as variedades Gala e Fuji (PIMENTEL; SANTOS, 2017).

No entanto, para que se tenha uma maior produtividade destas duas variedades, elas são plantadas intercaladas com a função de favorecer a polinização cruzada, sendo chamadas de macieiras polinizadoras, ou seja, a maçã de variedade Fuji poliniza a variedade Gala e vice-versa (FIORAVANÇO; SANTOS, 2013). Mas as vezes essas maçãs polinizadoras podem não apresentar qualidade suficiente para serem comercializadas *in natura* por possuírem uma menor aceitabilidade pelas suas características organolépticas, sendo direcionadas para uso industrial, como para a produção de suco concentrado (ZARDO, 2019).

Outra fruta que se desenvolve muito bem no frio de Palmas é a amora-preta, sendo uma cultura apropriada para pequenos produtores familiares. Além disso, essa fruta é rica em antioxidantes e outras substâncias que favorecem a saúde e reduzem o risco de doenças (INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ, 2015).

O crescente estudo de bebidas alcoólicas formuladas com frutas tende principalmente a investigar seus compostos bioativos, os quais são benéficos para a saúde de quem as consome. Um exemplo disto, são os estudos de *Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias*. Curitiba, PR, v.05, n.02, p. 4-01-22, mar./dez, 2020

Nardini e Garaguso (2020) que avaliaram a adição de frutas em cerveja, e de Boeira *et al.* (2020) em fermentado de açaí, demonstrado em seus resultados alta atividade antioxidante, além de aumentar a quantidade de compostos fenólicos em comparação com as bebidas tradicionais já comercializadas.

Os compostos bioativos, que incluem as antocianinas e fenólicos, exibem alta atividade antioxidante e são amplamente necessários para evitar a deterioração de produtos oxidáveis, como os alimentícios. Além disso, as propriedades protetoras dos flavonóides contra certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares e envelhecimento são potencialmente benéficas para a saúde humana (GUEDES *et al.*, 2017).

Por se tratar de frutas cultivadas no município, por apresentarem elevado valor nutritivo, bem como, realizar o aproveitamento dos frutos de amora-preta, fruta com alta perecibilidade, e de maçã que possuem preço baixo de venda, além de ter sido utilizados frutos menores e com maiores injúrias, como alternativa para o setor agroindustrial de Palmas, o objetivo deste trabalho consistiu em elaborar formulações de fermentado de frutas misto de maçã (*Pyrus malus* L.) e amora-preta (*Rubus sp.*) com diferentes pHs e temperaturas a fim de verificar a influência de duas variáveis no processo fermentativo frente aos compostos bioativos.

## 2 METODOLOGIA

O estudo foi desenvolvido no laboratório de Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal do Paraná (IFPR) do município de Palmas, estado do Paraná.

### 2.1 Seleção e aquisição de materiais

As frutas foram adquiridas de produtores do município de Palmas-PR a amora-preta, cultivar Tupy é proveniente da safra 2018/2019 e estava congelada enquanto que a maçã da variedade Fuji da safra 2019 foi mantida

em câmara fria até o início da elaboração do fermentado que ocorreu no mês de julho de 2019.

## 2.2 Delineamento experimental

A fim de verificar a influência do pH (3,5 e 3,9) e da temperatura (25 °C e 30 °C), na etapa de fermentação com relação aos parâmetros físico químicos e bioativos foi realizado um delineamento fatorial inteiramente casualizado, 2<sup>2</sup>, totalizando quatro fermentações as quais foram realizadas em duplicata. Com relação aos parâmetros físico-químicos e bioativos, as análises foram realizadas em triplicata e posteriormente seus resultados foram submetidos ao software “Statistica 10” obtendo assim a análise de variância (ANOVA), diagrama de Pareto e superfície de resposta.

## 2.3 Elaboração do fermentado

Para o preparo do mosto, a polpa de amora foi descongelada em refrigerador por 12 horas antes do processamento.

As maçãs foram devidamente higienizadas e sanitizadas em hipoclorito de sódio na concentração de 200 ppm, durante 10 minutos e em seguida essas frutas foram enxaguadas para a retirada do hipoclorito de sódio e então fragmentadas em liquidificador industrial. As proporções utilizadas foram de 57% para a maçã, 29% de amora e 14% de água para processar.

A adição de metabissulfito de potássio foi de 0,2 g para cada litro do mosto (BRASIL, 2016). Foi adicionado enzima pectolítica (Endozyn Pectofruit<sup>®</sup>, A&B Bioquímica) na proporção de 0,3 mL para cada quilograma de maçã, conforme indicado pelo fabricante.

Para realizar a chaptalização, esse suco foi analisado quanto ao teor de sólidos solúveis utilizando refratômetro manual (Kasvi<sup>®</sup>). Em seguida o mosto foi corrigido, por meio de adição de açúcar, para ao final, obter uma bebida com grau alcoólico de aproximadamente 5 °GL.

O mosto foi suplementado com ativador de crescimento de leveduras (Enovit<sup>®</sup>, A&B Bioquímica) 30 g/hL.

O pH foi corrigido com solução de carbonato de cálcio 10% *quantum satis* (BRASIL, 2016) para enquadrar-se nos valores definidos para o experimento (3,5 e 3,9), valores estes verificados com pHmetro digital (MS tecnopon<sup>®</sup>). Para o pé de cuba utilizou-se o inóculo de mosto 20 g/hL da levedura seca ativa selecionada a partir de *Saccharomyces cerevisiae r.f. bayanus* (Fermol<sup>®</sup>), previamente reidratada conforme especificado na ficha técnica pela empresa A&B Bioquímica.

A fermentação ocorreu em temperatura controlada de 25°C em incubadora BOD (demanda bioquímica oxigênio - Deluq<sup>®</sup>) e 30°C em estufa digital (Solid Steel<sup>®</sup>) para os dois tipos de pH escolhidos, totalizando 4 fermentações que foram realizadas em duplicata, em recipientes de vidro previamente esterilizados adaptados com batoque hidráulico para saída do gás carbônico. Nesta etapa, a fermentação foi conduzida até atingir o teor de sólidos solúveis constante.

Por fim foi adicionada bentonite granulada (Bentogran<sup>®</sup>, A&B Bioquímica) hidratada em 15 partes de água na proporção de 20 g/hL, para clarificação, permanecendo sete dias no refrigerador. Em seguida foram armazenados sob refrigeração em recipientes de vidro âmbar previamente esterilizados e rotulados.

## 2.4 Análises

### 2.4.1 Determinação do pH

A medida do pH foi realizada em pHmetro digital previamente calibrado com tampões de pH 7,0 e 4,0 operando-o de acordo com as instruções do manual do fabricante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

#### 2.4.2 Determinação do °Brix

O refratômetro foi previamente calibrado com água destilada e em seguida foi realizada a leitura com algumas gotas da amostra (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

#### 2.4.3 Compostos Fenólicos Totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. A curva padrão foi elaborada com ácido gálico como padrão de referência nas seguintes concentrações: 25, 50, 100, 150, 200 e 250 mg ácido gálico/L, realizando a leitura a 760 nm (SILVEIRA, 2013). A equação da reta obtida foi  $y = 0,0044x + 0,039$ ;  $R^2 = 0,9964$  e os resultados foram expressos em mg GAE/L.

#### 2.4.4 Antocianinas

As antocianinas foram determinadas pelo pH diferencial. Foi determinada a absorbância da porção de teste diluída com tampão pH 1,0 e tampão de pH 4,5 a 520 e 700 nm, foi utilizada, como branco água destilada (LEE *et al.*, 2005). Os resultados foram expressos em mg-cianidina-3-glicosídeo/L.

#### 2.4.5 Atividade Antioxidante Total

Foi determinado antioxidante total pelo sequestro de radical livre ABTS e a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 734 nm (RUFINO *et al.*, 2007). A curva padrão foi elaborada com solução padrão de trolox nas seguintes concentrações: 100, 500, 1000, 1500 e 2000  $\mu\text{mol/L}$  obtendo a equação da reta  $y = -0,0003x + 0,6611$ ;  $R^2 = 0,9939$ . Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol/L}$ .

#### 2.4.6 Outras análises

Para determinar a densidade, teor de álcool, sólidos solúveis residuais e calorias utilizou-se o equipamento Alcolyzer Beer (Anton Paar<sup>®</sup>) que usa metodologia baseada na determinação da densidade de alta precisão pelo princípio de infravermelho.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores das condições de pH inicial e temperatura, assim como os resultados obtidos nas oito formulações executadas em termos de densidade, álcool, calorias e sólidos solúveis realizadas no fermentado por meio do equipamento Alcolyzer Beer, estão resumidos na Tabela 1.

Conforme pode-se verificar na tabela 1, a densidade variou de 0,996 g/cm<sup>3</sup> (fermentado com pH 3,5 e 30 °C) a 0,998 g/cm<sup>3</sup> (pH 3,9 e 30 °C), enquanto que teor alcoólico foi de 6,64 % (pH 3,9 e 30 °C) a 7,15 % (pH 3,5 e 30 °C), já o valor calórico foi de 44,33 Kcal/100mL (pH 3,5 e 25 °C) a 46,83 Kcal/100 mL (pH de 3,5 e 30 °C).

Além disso, percebe-se o teor de sólidos solúveis ficou em 0 °Brix, enquanto que o pH final variou entre 3,4 a 3,6.

**Tabela 1** – Resultado das análises dos parâmetros físico-químicos expressos pela média, seguida do desvio padrão.

Fermentados alcoólicos pH/Temperatura	Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	Álcool (% v/v)	Calorias (kcal/100ml)	Sólidos Solúveis (°Brix)	pH final
3,5/25°C	0,997 <sup>a</sup> ± 0,00	6,70 <sup>a</sup> ± 0,04	44,33 <sup>a</sup> ± 0,27	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	3,4 <sup>a</sup> ± 0,00
3,5/30°C	0,996 <sup>a</sup> ± 0,00	7,15 <sup>a</sup> ± 0,31	46,83 <sup>a</sup> ± 1,66	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	3,4 <sup>a</sup> ± 0,00
3,9/25°C	0,997 <sup>a</sup> ± 0,00	6,70 <sup>a</sup> ± 0,06	44,73 <sup>a</sup> ± 0,30	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	3,65 <sup>a</sup> ± 0,07
3,9/30°C	0,998 <sup>a</sup> ± 0,00	6,64 <sup>a</sup> ± 0,06	44,53 <sup>a</sup> ± 0,36	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	3,6 <sup>a</sup> ± 0,00

Valores com letras sobrescritas na mesma coluna iguais não diferem estatisticamente ao nível de 5%, na análise de variância (ANOVA).

Fonte: Autores (2019).

As temperaturas controladas de 25°C e 30°C foram escolhidas por serem temperaturas ótimas para o desenvolvimento e conseqüentemente a maior formação de etanol pelas leveduras após o processo fermentativo (GALANAKIS *et al.* 2012).

Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias. Curitiba, PR, v.05, n.02, p. 4-01-22, mar./dez, 2020

Segundo Góes-Favoni *et al.* (2018), temperaturas mais elevadas enfraquecem a levedura além de ser propício ao surgimento de contaminantes e ocasionar perdas do produto pela evaporação, por outro lado temperaturas mais baixas as leveduras apresentam menor atividade de crescimento e também de formação do produto. Neste sentido, Paula *et al.* (2012) ao realizarem fermentado alcoólico de umbu a 18 °C durante 18 dias fermentação, destacaram que a baixas temperaturas a velocidade do metabolismo da levedura foi menor.

Os valores de álcool obtidos no experimento variaram de 6,64 a 7,15% v/v estando em acordo com os estipulados pela instrução normativa nº 35, de 16 de novembro de 2010, que considera normal para fermentado alcoólico de frutas misto entre 4 e 14% para esse tipo de bebida (BRASIL, 2010).

Tais valores do presente trabalho são semelhantes ao estudo realizado por Mundaragi e Thangadurai (2018) em que o teor de etanol do fermentado de cacto variou de 4,6 a 9,1% (v/v), esta variável foi dependente da temperatura utilizada que foi entre 20°C e 30°C, e o pH que foi entre 3 e 4.

O pH de fermentação utilizado foi entre 3,5 e 3,9 e essa variável é importante para muitos aspectos. De acordo com Góes-Favoni *et al.* (2018), a faixa de pH considerada ideal para o crescimento das leveduras situa-se entre 4,0 e 5,0, porém meios um pouco mais ácidos apresentam melhores resultados quanto ao rendimento em etanol além de reduzir a contaminação bacteriana. Tendo como base essas informações foram escolhidos menores valores de pH de fermentação neste trabalho.

Após a finalização do processo fermentativo foram obtidos fermentados alcoólicos com valores de pH entre 3,4 a 3,6, os quais, de acordo Brandão, (2013) são influenciados pela formação do etanol, ácidos orgânicos e inorgânicos. Este mesmo autor ao realizar fermentado alcoólico de batata Yacon produziu uma bebida com pH de 3,4, os quais então próximos aos encontrados neste trabalho.

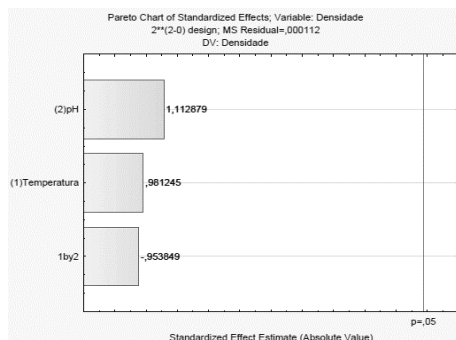
A fim de corroborar os resultados encontrados, foi empregado o software Statistica 10 para o delineamento experimental e após a realização do

processo fermentativo e realização das análises, os resultados das duplicatas foram submetidos a este software para a obtenção da Análise de Variância (ANOVA), diagrama de Pareto e superfície de resposta.

Na tabela 1, com relação aos parâmetros de álcool ( $R^2$  ajustado foi de 0,66), densidade ( $R^2$  0,43) e calorias ( $R^2$  0,62), a superfície de resposta não será apresentada neste trabalho pois o R ajustado destas foram abaixo de 0,7.

Com relação a densidade os valores ficaram entre 0,996 e 0,998 g/cm<sup>3</sup>, os quais se assemelham aos resultados dos estudos feitos em vinhos tintos de mesa seco por Lima, Yamanaka e Oliveira (2019), que explicam que esse resultado varia em função do extrato seco, do teor de açúcar e do grau alcoólico e que apresentam uma densidade muito próxima da água. Como se pode observar na figura 1 não houve influência das variáveis pH, temperatura nem da sua interação na densidade.

**Figura 1:** Diagrama de Pareto com efeitos das variáveis pH e temperatura na densidade

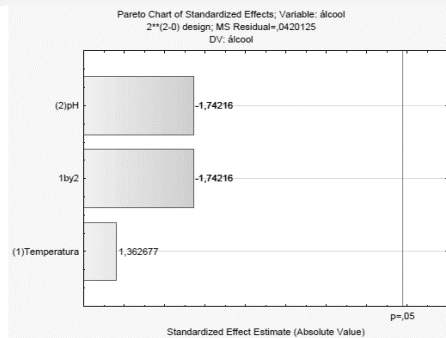


**Fonte:** Autores (2019).

Quanto as variáveis pH e temperatura foi possível verificar estatisticamente que as mesmas bem como a interação não influenciaram no teor alcoólico final dos fermentados obtidos (figura 2).

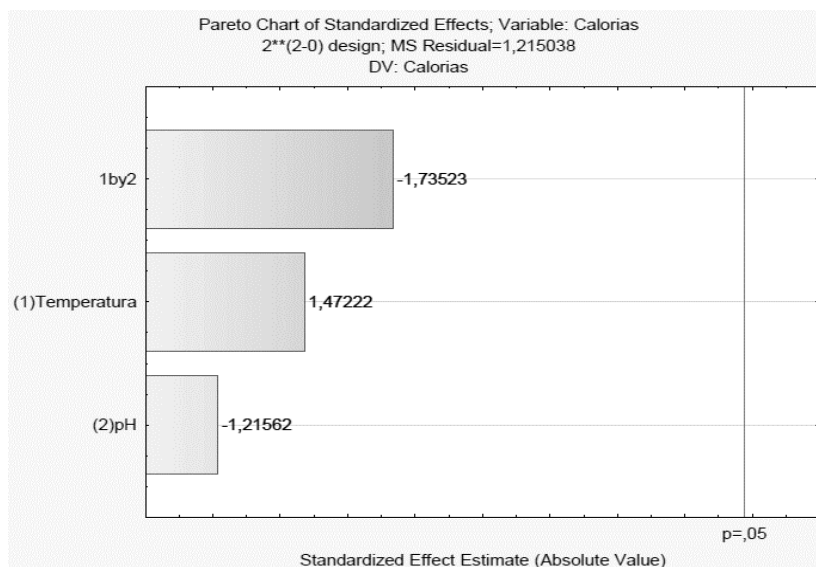
**Figura 2 -** Diagrama de Pareto com efeitos das variáveis pH e temperatura no álcool

Meio Ambiente e Agrárias



Fonte: Autores (2019).

As calorias variaram de 44,33 a 46,83 kcal/100mL, mostrando ser uma bebida de baixa caloria, se comparada com vinhos já comercializados que apresentam 84,50 kcal/100mL (BRASIL, 2011). A quantidade das calorias e de álcool são proporcionais, pois, conforme Venturini Filho (2016) o álcool possui um ganho energético equivalente a 7 kcal/g, valor este maior que o de carboidratos e proteínas. Entretanto, as variáveis utilizadas bem como sua interação não influenciaram estatisticamente nas calorias, conforme pode ser verificado no diagrama de Pareto (figura 3) os quais ficaram abaixo de 5%.



**Figura 3:** Diagrama de Pareto com efeitos das variáveis pH e temperatura nas calorias.

**Fonte:** Autores (2019).

A concentração de sólidos solúveis residuais para todas as amostras foi de 0°Brix, evidenciando que a levedura utilizada (*Saccharomyces cerevisiae r.f. bayanus*) conseguiu consumir todos os açúcares que estavam ali presentes. Segundo Satora *et al.* (2018) toda cultura pura de leveduras são caracterizadas por terem bons mecanismos de conservação, de desenvolvimento e de produção, por utilizarem quase todos os açúcares do mosto e formar quantidades semelhantes de etanol na produção de vinhos de maçã.

O pH final foi levemente mais baixo que o inicial. Isso acontece porque além das leveduras produzirem etanol elas também produzem ácidos orgânicos fazendo com que o fermentado reduza seu valor de pH até o final da fermentação (VENTURINI FILHO, 2016).

Os valores das condições de pH inicial e temperatura de fermentação, assim como os resultados obtidos nas quatro formulações em duplicata executadas em termos de compostos fenólicos totais, antioxidantes e antocianinas estão resumidos na Tabela 2.

Conforme pode-se verificar na tabela 2, os compostos fenólicos totais variaram de 332,95 mg GAE/L (fermentado com pH 3,5 e 25°C) a 418,18 mg GAE/L (pH 3,9 e 30°C), enquanto os antioxidantes totais foi de 3881,87 µmol/L (pH 3,5 e 30°C) a 4253,65 µmol/L (pH 3,5 e 25°C) já as antocianinas foi de 17,78 mg-cian-3-glic./L (pH 3,9 e 30 °C) a 21,58 mg-cian-3-glic./L (com pH 3,5 e 30°C).

**Tabela 2** – Resultado das análises dos compostos bioativos expressos pela média, seguida do desvio padrão.

Fermentados alcoólicos pH/Temperatura	Fenólicos Totais (mg GAE/L)	Antioxidantes Totais (µmol/L)	Antocianinas (mg-cian-3-glic./L)
3,5/25°C	332,95 <sup>a</sup> ± 52,96	4253,65 <sup>a</sup> ± 130,30	19,53 <sup>b</sup> ± 1,42
3,5/30°C	353,03 <sup>a</sup> ± 42,92	3881,87 <sup>a</sup> ± 310,32	21,58 <sup>a</sup> ± 1,71
3,9/25°C	359,47 <sup>a</sup> ± 33,48	3893,30 <sup>a</sup> ± 91,04	17,82 <sup>c</sup> ± 0,18

3,9/30°C	418,18 <sup>a</sup> ± 126,17	4077,61 <sup>a</sup> ± 136,43	17,78 <sup>d</sup> ± 0,83
----------	------------------------------	-------------------------------	---------------------------

Valores com letras sobrescritas na mesma coluna diferentes diferem estatisticamente ao nível de 5%, na análise de variância (ANOVA).

Fonte: Autores (2019).

Com relação aos parâmetros de antioxidantes ( $R^2$  0,34) e compostos fenólicos totais ( $R^2$  0,22), a superfície de resposta também não será apresentada neste trabalho pois o R ajustado destes foi abaixo de 0,7. No entanto, o  $R^2$  ajustado das antocianinas foi de 0,77, existindo assim, uma correlação linear entre as variáveis analisadas.

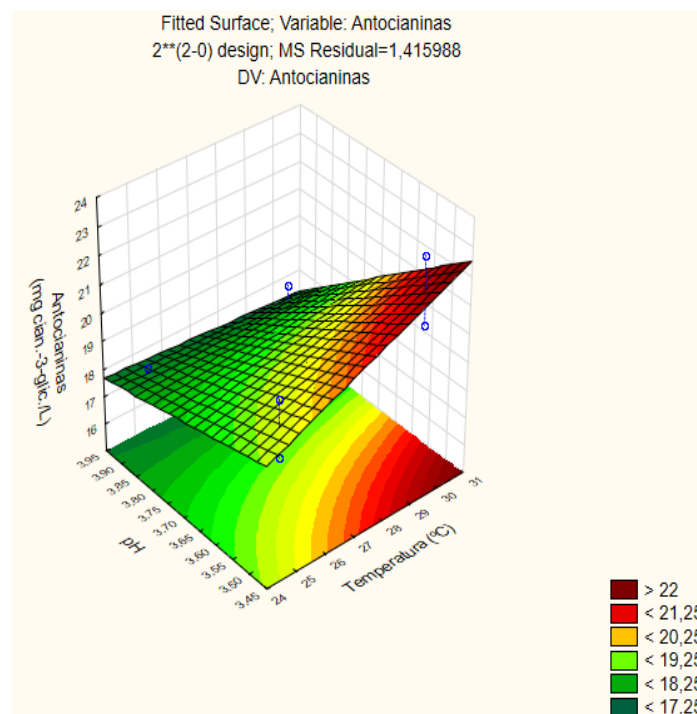
Os valores de antocianinas variaram de 17,78 a 21,58 mg-cian-3-glic./L abaixo dos resultados encontrados nos vinhos tintos comercializados em Curitiba e região metropolitana que foram de 36,18 a 37,12 mg-cian-3-glic./L (LIMAS, 2016). Conforme Kharadze *et al.* (2018) nos vinhos tintos são utilizadas uvas que possuem antocianinas, em especial a cianidina-3-glicosídeo. Silva *et al.* (2011) ao realizarem a quantificação de antocianinas em uvas tintas destinadas à produção de vinhos tintos encontraram 160,07 mg/100g nas cascas da variedade alicante, enquanto que Ferreira *et al.* (2010) encontraram 90,5 mg/100g na amora-preta, indicando assim que as uvas possuem maiores quantidades de antocianinas. Além disso, no presente trabalho, foi utilizada uma proporção de 29% de amora-preta e de 57% de maçã, justificando assim valores inferiores.

Verifica-se na Figura 4, que para valores menores de pH e maiores de temperatura, a quantidade de antocianinas é maior. Freitas (2019) explica que as antocianinas são responsáveis por muitas cores naturais e atraentes tendo a particularidade de apresentar várias estruturas em solução cujo equilíbrio depende do pH do meio, no ácido (pH < 3) estão presentes na sua forma vermelha, a pH ligeiramente ácido e perto na neutralidade são incolores e para pH neutros ou superiores aparecem as fórmulas púrpura e azuis. Além disso, o pH atua nas cores, sendo que estas são mais estáveis em soluções ácidas (MACHADO, PEREIRA E MARCON (2013).

Tais resultados de antocianinas podem ser comprovados pelo diagrama de Pareto (figura 5), em que a interação temperatura e pH, bem como o

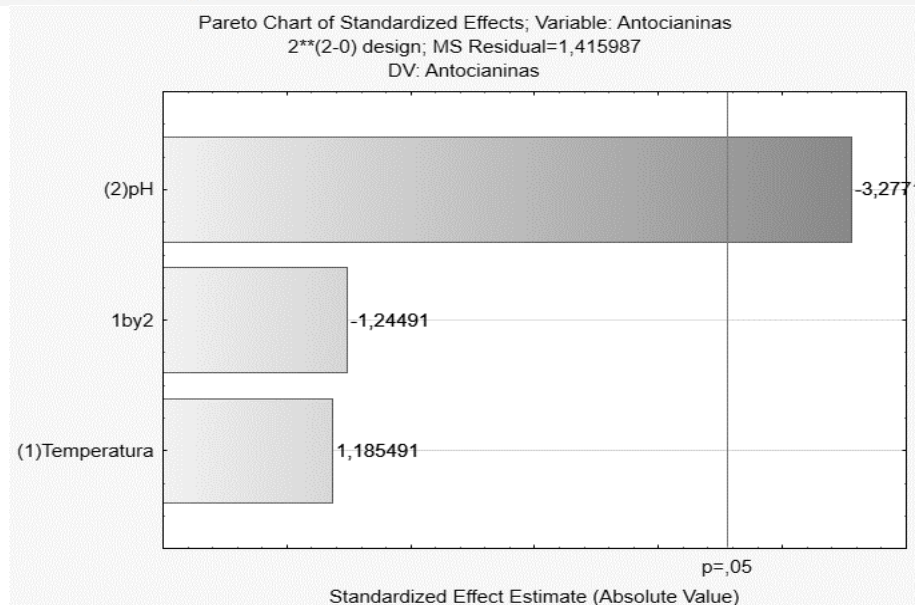
parâmetro temperatura, dentro da faixa avaliada, não foi significativa, entretanto com relação ao pH, este influenciou negativamente nos valores de antocianinas, ou seja, quanto maior o valor de pH, menores os valores encontrados. Estatisticamente as amostras apresentaram diferença ao nível de 5 % na ANOVA. Segundo Machado, Pereira e Marcon (2013) o aumento da temperatura pode favorecer a produção de complexos ou reações de polimerização durante a degradação que estabilizam os pigmentos.

**Figura 4** - Superfícies de resposta representando a variação das antocianinas em função da temperatura e do pH utilizado no processo fermentativo



Fonte: Autores (2019).

**Figura 5** - Diagrama de Pareto com efeitos das variáveis pH e temperatura nas antocianinas



Fonte: Autores (2019).

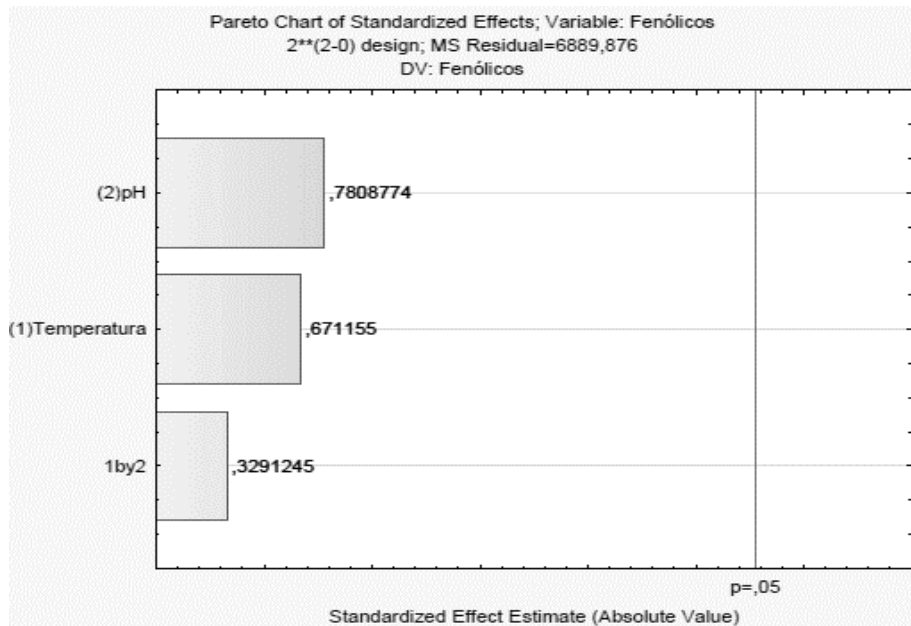
Existem também muitos outros fatores que influenciam a concentração de antocianinas além da temperatura e pH. No processamento dos alimentos, elas podem sofrer, além das reações de degradação por efeito da luz, efeito de oxigênio e por reação com outras espécies presentes na matriz, podendo levar a alteração das suas propriedades biológicas e da cor no produto final (FREITAS, 2019).

Os valores de fenólicos totais variaram de 332,95 a 418,18 mg GAE/L, bem abaixo que nos vinhos tintos comercializados em Curitiba e região metropolitana que variaram de 866,24 a 1279,70 mg GAE/L (LIMAS, 2016).

Como pode ser observado na figura 6, não houve diferença estatística ao nível de 5%. Porém, segundo Machado, Pereira e Marcon (2013) que avaliaram compostos fenólicos em algumas frutas e hortaliças, encontraram uma correlação positiva entre tempo e temperatura para a maior parte das amostras analisadas, dependendo do caso isto acontece porque o aumento da temperatura auxilia na extração dos pigmentos e também na sua transferência da casca para a polpa. Este mesmo autor fala também que o pH 2 e pH 10 foram os de melhor concentração de fenólicos na amora preta.

Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias. Curitiba, PR, v.05, n.02, p. 4-01-22, mar./dez, 2020

**Figura 6** - Diagrama de Pareto com efeitos das variáveis pH e temperatura no compostos fenólicos

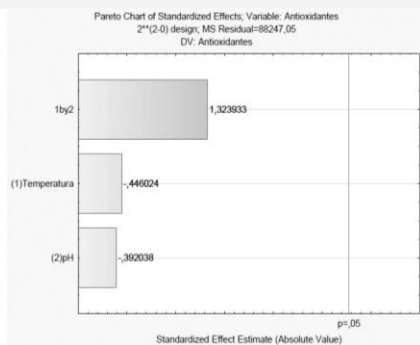


**Fonte:** Autores (2019).

Os valores de antioxidantes dos fermentados variaram de 3881,87 a 4253,65  $\mu\text{mol/L}$  estando próximos de valores de vinhos tintos comercializados que de acordo com Limas (2016) são de 3962 a 5736  $\mu\text{mol/L}$  e bem acima dos fermentados de maçã elaborados por Bortolini (2018) que variaram de 471 a 710  $\mu\text{mol/L}$ .

Tais valores superiores aos verificados em fermentados de maçã podem ser explicados pela adição da amora-preta, pois a mesma apresenta valores de 15150 a 51350  $\mu\text{mol/Kg}$  dependendo da cultivar (GUEDES *et al.*, 2017). Como pode ser visto na figura 7, as variáveis utilizadas não influenciaram estatisticamente na quantidade de antioxidantes.

**Figura 7**- Diagrama de Pareto com efeitos das variáveis pH e temperatura na atividade antioxidante.



Fonte: Autores (2019).

As diferenças de pH e temperatura não influenciaram na atividade antioxidante. Segundo Tsegay, Sathyanarayana e Lemma (2018) que fizeram um vinho da fruta do cacto com pH de 3,9 e a temperatura de 30°C, descrevem que foram as condições ideais para antioxidantes totais e a aceitação sensorial. Já Mundaragi e Thangadurai (2018) encontraram que a atividade antioxidante no vinho de *Carissa spinarum* L. em temperatura de 25 °C e pH de 3,5 foram significativamente maiores ou a par com outros vinhos de frutas tropicais já relatados.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Relacionando ao objetivo deste trabalho, por se tratar de frutas cultivadas no município, por apresentarem elevado valor nutritivo, bem como, realizar o aproveitamento dos frutos menores de maçã da variedade Fuji a qual é utilizada para a polinização da variedade Gala e vice e versa, que possuem preço baixo de venda, pode-se dizer que este fermentado é uma opção de novo produto, podendo gerar mais rentabilidade para os produtores e agregar ainda mais o valor dessas matérias-primas que são produzidas em grande escala no município de Palmas (PR). Além disso, as frutas em geral apresentam características adequadas para produção de bebidas fermentadas, devendo ser cada vez mais exploradas em futuros trabalhos.

Verificou-se então, que as variáveis estudadas no processo fermentativo (pH e T °C) não influenciaram nas análises físico-químicas, na atividade antioxidante e nem na quantidade de compostos fenólicos, mas observou-se

que o pH influenciou negativamente nos valores das antocianinas, ou seja, quanto maiores os valores de pH, menores foram os valores encontrados. Isso significa que se alguma indústria quiser aproveitar esse tipo de maçã na produção de fermentados alcoólicos, preferencialmente deverá fazer sua fermentação na temperatura de 30°C e pH inicial de 3,5 ou ligeiramente abaixo para conferir cor ao produto e trazer benefícios à saúde pela maior presença das antocianinas.

## REFERÊNCIAS

BOEIRA, L. S. *et al.* Chemical and sensorial characterization of a novel alcoholic beverage produced with native acai (*Euterpe precatoria*) from different regions of the Amazonas state. **Food Science and Technology**. Campinas SP, v. 117, n.1, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643819309740?via%3Dihub>>. Acesso em: 30 set. 2019.

BORTOLINI, G. D. **Influência da adição do bagaço imobilizado na evolução dos compostos fenólicos durante o processo fermentativo de mosto de maçã**. 2018. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.

BRANDÃO. C. C. **Desenvolvimento de fermentado alcoólico de yacon**. 77 f. Dissertação (Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Escola de Agronomia) Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: **Tabela da composição nutricional dos alimentos consumidos no Brasil**. 2011. Disponível em: <<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwiLg6XWjPzIAhWTGbkGHXQwC8EQFjAAegQIAxAC&url=https%3A%2F%2Fbiblioteca.ibge.gov.br%2Fvisualizacao%2Flivros%2Fliv50002.pdf&usg=AOvVaw0UMzlwtrHuCOcLVmuZDyL1>>. Acesso em: 13 nov. 2019.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução normativa nº 35, de 16 de novembro de 2010**. Estabelece a complementação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas por mistura, comercializadas em todo o território nacional. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/in-no-35-de-16-de-novembro-de-2010.pdf>> Acesso em: 15 set. 2019.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RDC Nº 123, de 4 de novembro de 2016**. Regulamenta sobre os aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso em vinhos. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2858750/%281%29RDC\\_123\\_2016\\_.pdf/0c2f728c-458c-4ee6-bd32-2d5bbaa586d1](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2858750/%281%29RDC_123_2016_.pdf/0c2f728c-458c-4ee6-bd32-2d5bbaa586d1)> Acesso em: 20 out. 2018.

DUARTE, L. G. O. *et al.* Fermentado alcoólico: melancia. **Revista Científica Semana Acadêmica**, Fortaleza, v.1 n. 9, p. 1-26, 2018.

FERREIRA, D. S.; ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z.. Compostos bioativos presentes em amora preta (*Rubus spp.*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 32, n. 3, p. 664-674, 2010.

FIORAVANÇO, J. C.; SANTOS, R. S. S. **Maçã**: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília, DF. Embrapa, 2013. 229 p.

FREITAS, V. O mundo colorido das antocianinas. **Revista de Ciência Elementar**, Porto, v. 7, n. 2, p. 1-6, 2019.

GALANAKIS, C. M. *et al.* Effect of pressure and temperature on alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on c-alumina pellets. **Bioresource Technology**, v.114, p. 492-498, 2012.

**Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias**. Curitiba, PR, v.05, n.02, p. 4-01-22, mar./dez, 2020

GÓES-FAVONI, S. P. *et al.* Fermentação alcoólica na produção de etanol e os fatores determinantes do rendimento. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, Aracaju, v. 9, n. 4, p. 285-296, 2018.

GUEDES, M. N. S. *et al.* Antioxidant activity and total phenol content of blackberries cultivated in a highland tropical climate. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 39, n. 1, p. 43-48, 2017.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Pesquisa mostra que amora-preta é boa opção para regiões mais frias do Estado**. 2015. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/noticias/makepdf.php?storyid=1781>> Acesso em: 09 jan. 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

KHARADZE, M. *et al.* Anthocyanins and antioxidant activity of red wines made from endemic grape varieties. **Annals of Agrarian Science**, Geórgia, v. 16, p. 181-184, 2018.

LEE, J; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E.; Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. **Journal AOAC International**, Oregon, v. 88, n. 5, p. 1269-1278, 2005.

LIMA, L. P. G. E.; YAMANAKA, H. U.; OLIVEIRA, V. B. Perfil físico-químico, atividade antioxidante e Avaliação microbiológica de vinhos tintos secos. **Uniandrade**, Curitiba, v. 20, n. 1, p. 29-36, 2019.

LIMAS, M. E. **Determinação de compostos bioativos majoritários e atividade antioxidante em vinhos tintos**. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Tecnológica) Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2016.

MACHADO, W. M.; PEREIRA, A. D.; MARCON, M. V. Efeito do processamento e armazenamento em compostos fenólicos presentes em frutas e hortaliças.

**Revista Exatas Terra Ciências Agrárias Engenharia**, Ponta Grossa, v.19, n. 1, p. 17-30, 2013.

MUNDARAGI, A.; THANGADURAI, D. Process optimization, physicochemical characterization and antioxidant potential of novel wine from an underutilized fruit *Carissa spinarum* L. (Apocynaceae). **Food Science and Technology**, Karnataka, v.38 n.3, p. 428-433, 2018.

NARDINI, M.; GARAGUSO, I. Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of fruit beers. **Food Chemistry**, Roma, v. 305, n. 3, p. 1-9, 2020. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31499290>>. Acesso em: 30 set. 2019.

PARANÁ. Projeto de lei nº 374/2017. Confere ao município de Palmas o título de capital do frio e da maçã. **Assembleia Legislativa do Estado do Paraná**, Curitiba, PR, 07 de ago. 2017.

PAULA, B. *et al.* Produção e caracterização físico-química de fermentado de umbu. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.9, p.1688-1693, 2012

PETRI, J. L.; HAWERROTH, F. J.; LEITE, G. B. Fenologia de espécies silvestres de macieira como polinizadora das cultivares gala e fuji. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30 n. 4, p. 868-874, 2008.

PIMENTEL, R.; SANTOS, S. O sabor saudável da maçã. **Revista Ideias**, Curitiba, PR, v. 185, n. 3, 2017.

RUFINO, M. S. M. *et al.* **Metodologia Científica**: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. Comunicado Técnico Online, Embrapa, Fortaleza, CE, 2007.

SATORA, P. *et al.* Influence of selected saccharomyces and schizosaccharomyces strains and their mixed cultures on chemical composition of apple wines. **Journal of Food Science**, Cracóvia, v. 83, n. 2, p. 424-431, 2018.

SILVA, M. S. *et al.* Quantificação de antocianinas totais determinadas na casca e na polpa de uvas tintas destinadas a produção de vinho. In: III simpósio brasileiro de pós colheita – SPC, 2011. Brasília. **Anais**. Brasília, Embrapa seminário, 2011. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/907887/quantificacao-de-antocianinas-totais-determinadas-na-casca-e-na-polpa-de-uvas-tintas-destinadas-a-producao-de-vinhos> > Acesso em: 09 dez. 2019.

SILVEIRA, A. L.C. **Validação de métodos para a determinação de compostos fenólicos em melancia**. 83 f. Dissertação (Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar) - Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, Portugal, 2013.

SOUSA, D. S.; BAPTISTA, J. A. A.; ZAN, R. A. Produção e avaliação físico-química dos vinhos (fermentados) seco e suave a partir do araçá-boi (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh). **Multi-Science Journal**, Urutaí, v. 1, n. 13, p. 27-29, 2018.

TSEGAY, Z. T.; SATHYANARAYANA C. B.; LEMMA, S. M. Optimization of cactus pear fruit fermentation process for wine production. **Foods**, Basiléia, v. 7, n. 7, p. 1-16, 2018.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Alcoólicas: ciência e tecnologia**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2016. 576 p.

ZARDO, D. M. **Compostos fenólicos de maçãs comerciais, polinizadoras e silvestres como agentes antibacterianos e antioxidantes em alimentos**. 178 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2019.

**Enviado em: 09/12/2019**

**Aceito em: 15/09/2020**

**Editor Chefe: Prof. Dr. Everaldo dos Santos**