

**Desenvolvimento e caracterização de fermentado acético de sapoti
(*Manilkara zapota*)**

**Development and characterization of acetic fermented sapodilla
(*Manilkara zapota*)**

**Desarrollo y caracterización del zapote fermentado acético (*Manilkara
zapota*)**

DOI: 10.55905/oelv22n11-209

Receipt of originals: 10/24/2024

Acceptance for publication: 11/18/2024

Maria Cecília Soares Correia de Oliveira

Mestre em Engenharia Química

Instituição: Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Endereço: João Pessoa, Paraíba, Brasil

E-mail: ceciliasoares2010@gmail.com

Clóvis Gouveia da Silva

Doutor em Engenharia de Processos

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Endereço: João Pessoa, Paraíba, Brasil

E-mail: algarobeira@gmail.com

Maria Conceição Ramos da Soledade Bezerra Silva

Doutora em Engenharia de Materiais

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Endereço: João Pessoa, Paraíba, Brasil

E-mail: mc.quimi@gmail.com

José Evangelista Santos Ribeiro

Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Endereço: Bananeiras, Paraíba, Brasil

E-mail: vange_ribeiro@hotmail.com

Nathan de Andrade Silva

Graduando em Química Industrial

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Endereço: João Pessoa, Paraíba, Brasil

E-mail: nathanandrade2709@gmail.com

Laiza de Andrade Santos

Graduanda em Engenharia Química
Instituição: Universidade Federal da Paraíba
Endereço: João Pessoa, Paraíba, Brasil
E-mail: laiza.andrade@academico.ufpb.br

Carlos Alberto Bispo de Sousa

Doutor em Engenharia de Processos
Instituição: Universidade Federal da Paraíba
Endereço: João Pessoa, Paraíba, Brasil
E-mail: carlobispo@ct.ufpb.br

Julice Dutra Lopes

Doutora em Tecnologia de Alimentos
Instituição: Universidade Federal da Paraíba
Endereço: João Pessoa, Paraíba, Brasil
E-mail: julice@ct.ufpb.br

RESUMO

O sapoti (*Manilkara zapota*) é um fruto que possui alta perecibilidade e por isso os produtores encontram dificuldades em comercializá-lo. A produção de vinagre é uma saída para a utilização deste fruto, submetendo-o a uma fermentação alcoólica seguida de uma fermentação acética. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar vinagre de sapoti, obtido a partir do isolamento de bactérias acéticas provenientes de kombucha e do próprio sapoti. O caldo de sapoti foi extraído em prensa hidráulica. As bactérias acéticas usadas para a produção do vinagre foram obtidas pelo isolamento das bactérias naturais do próprio sapoti e de kombucha. A fermentação alcoólica do caldo de sapoti foi realizada utilizando a levedura *Saccharomyces bayanus* na concentração de 0,5 g/L. Utilizou-se o método lento, para a realização da fermentação acética, com 75% de fermentado alcoólico de sapoti e 25% de inóculo. O vinagre de sapoti passou por várias análises para garantir que estava dentro dos limites exigidos pela legislação brasileira, sendo posteriormente submetido a análise sensorial com julgadores não treinados. Na fermentação alcoólica obteve-se um teor de 13,4 °GL em quase 9 dias e na acética durou 37 dias com uma acidez total de 5,2338% e um teor alcoólico de 0,1°GL. A análise sensorial realizada concluiu que não houve diferença significativa, entre o vinagre de sapoti e o vinagre de maçã comercial. Portanto, foi possível obter um vinagre de sapoti a partir de bactérias de kombucha com 79,7% de aprovação, apresentando ótimas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais.

Palavras-chave: Sapoti, Vinagre, Bactérias Acéticas, Análise Sensorial, *Saccharomyces bayanus*.

ABSTRACT

The sapodilla (*Manilkara zapota*) is a fruit that is highly perishable and therefore producers find it difficult to sell it. The production of vinegar is a way to use this fruit,

subjecting it to alcoholic fermentation followed by acetic fermentation. The present work aimed to develop and characterize sapodilla vinegar, obtained from the isolation of acetic bacteria from kombucha and sapodilla itself. The sapodilla juice was extracted using a hydraulic press. The acetic bacteria used to produce vinegar were obtained by isolating natural bacteria from sapodilla and kombucha. The alcoholic fermentation of sapodilla broth was carried out using the yeast *Saccharomyces bayanus* at a concentration of 0.5 g/L. The slow method was used to carry out acetic fermentation, with 75% alcoholic fermented sapodilla and 25% inoculum. The sapodilla vinegar underwent several analyzes to ensure that it was within the limits required by Brazilian legislation, and was subsequently subjected to sensory analysis with untrained judges. In alcoholic fermentation it obtained a content of 13.4°GL in almost 9 days and in acetic fermentation it lasted 37 days with a total acidity of 5.2338% and an alcohol content of 0.1°GL. The sensory analysis carried out concluded that there was no significant difference between sapodilla vinegar and commercial apple cider vinegar. Therefore, it was possible to obtain sapodilla vinegar from kombucha bacteria with 79.7% approval, presenting excellent physical-chemical, microbiological and sensory characteristics.

Keywords: Sapoti, Vinegar, Acetic Bacteria, Sensory Analysis, *Saccharomyces Bayanus*.

RESUMEN

El chicozapote (*Manilkara zapota*) es un fruto muy perecedero por lo que a los productores les resulta difícil venderlo. La elaboración de vinagre es una forma de aprovechar este fruto, sometándolo a una fermentación alcohólica seguida de una fermentación acética. El presente trabajo tuvo como objetivo desarrollar y caracterizar el vinagre de zapote, obtenido a partir del aislamiento de bacterias acéticas de kombucha y del propio zapote. El jugo de chicozapote se extrajo mediante una prensa hidráulica. Las bacterias acéticas utilizadas para producir vinagre se obtuvieron aislando bacterias naturales de chicozapote y kombucha. La fermentación alcohólica del caldo de chicozapote se realizó utilizando la levadura *Saccharomyces bayanus* a una concentración de 0,5 g/L. Para realizar la fermentación acética se utilizó el método lento, con 75% de alcohol de zapote fermentado y 25% de inóculo. El vinagre de chicozapote fue sometido a varios análisis para asegurar que estuviera dentro de los límites exigidos por la legislación brasileña, y posteriormente fue sometido a análisis sensoriales con jueces no capacitados. En fermentación alcohólica obtuvo un contenido de 13,4°GL en casi 9 días y en fermentación acética duró 37 días con una acidez total de 5,2338% y una graduación alcohólica de 0,1°GL. El análisis sensorial realizado concluyó que no existía diferencia significativa entre el vinagre de zapote y el vinagre de manzana comercial. Así, se logró obtener vinagre de chicozapote a partir de la bacteria kombucha con un 79,7% de aprobación, presentando excelentes características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales.

Palabras clave: Zapoti, Vinagre, Bacterias Acéticas, Análisis Sensorial, *Saccharomyces bayanus*.

1 INTRODUÇÃO

O sapoti (*Manilkara sapota*) é um fruto que possui polpa dura, esbranquiçada e muito adstringente quando imaturo, e polpa suculenta com coloração castanho-avermelhada, amarelada ou marrom-escura, com sabor adocicado e sem acidez no seu estágio de amadurecimento (Silva Junior *et al.*, 2014; Moraes, 2018). Ele teve sua origem na América Central, e vem sendo cultivado principalmente nos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Ceará (Soares, 2018; Santos *et al.*, 2020).

Normalmente o sapoti é consumido *in natura*, mas por possuir alta perecibilidade, ou seja, um rápido amadurecimento, os produtores acabam encontrando dificuldades em mantê-lo conservado para a sua comercialização (Costa *et al.*, 2017; Bonifácio, 2018). Uma tecnologia que poderia solucionar este problema é a produção de vinagre, que aproveita matérias-primas e seus subprodutos dos estabelecimentos industriais de frutas e das propriedades rurais, que não poderiam estar no mercado de outra forma (Cruz, 2012).

Os vinagres obtidos de frutas possuem qualidade sensorial e nutricional superior aos provenientes de outras fontes, pois apresentam sabor e aroma próprios. Nutricionalmente, destacam-se a presença de ácidos orgânicos, compostos fenólicos, vitaminas, proteínas e aminoácidos, adquiridos do fruto e da fermentação alcoólica (Aquarone *et al.*, 2001; Zoche; Figueiredo, 2014).

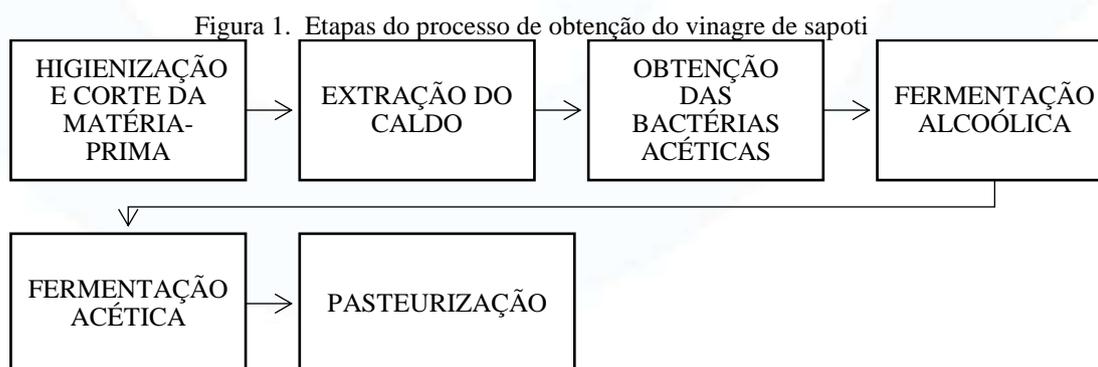
Esse produto é obtido por uma fermentação alcoólica seguida de uma fermentação acética, pela atuação das bactérias aeróbias do gênero *Acetobacter* (Aquarone *et al.*, 2001). Existem métodos distintos para a fabricação de vinagre. Um deles é o método de Orleans, ou método lento, que consiste em colocar uma quantidade predeterminada de vinagre em um recipiente com aberturas na parte de cima para entrada de ar, adicionando a cada semana fermentado de frutas, substituindo o fermentado antigo pelo novo ao longo do tempo (Costa *et al.*, 2017; Maestre, 2017).

De acordo com a Instrução Normativa N° 16, de 19 de março de 2020, a adição de açúcar na produção de fermentado de fruta ficou proibida (Brasil, 2020) e por isso para a obtenção de um vinagre de frutas é necessária a utilização de uma matéria-prima

açucarada naturalmente. Assim o sapoti, por possuir em sua composição um alto teor de açúcar, pode vir a se tornar um excelente contribuinte para a fermentação alcoólica, facilitando o processo de fabricação do vinagre. O objetivo geral do trabalho foi desenvolver e caracterizar fermentado acético do fruto do sapoti (*Manilkara zapota*).

2 METODOLOGIA

Os frutos de sapoti foram adquiridos na Ceasa do município de João Pessoa – PB, em estágio inicial de maturação, sendo levados para o Laboratório de Análises e Pesquisas de Bebidas Alcoólicas (LBA) do Departamento de Engenharia Química da UFPB, e lá foram deixados em temperatura ambiente (25 °C) até a maturação completa. Depois foram lavados e sanitizados com solução de 50 ppm de hipoclorito de sódio por 5 minutos, enxaguados e colocados em cestas perfuradas. Os frutos secos passaram por uma seleção para a exclusão dos deteriorados e seguiram para a etapa do corte e descasque, onde foram retiradas as cascas e as sementes. A Figura 1 mostra as etapas que o processo de obtenção do vinagre de sapoti seguiu.



Fonte: Elaborado pelos autores

Para a obtenção do caldo de sapoti foi utilizado um sistema de prensa hidráulica de acionamento manual com capacidade de 30 toneladas, marca SKAY. Devido às características do material a ser extraído, foram usados sacos de algodão forrando o interior do cilindro da prensa. Após a extração, o caldo foi filtrado com o auxílio de uma peneira comum e acondicionado em garrafas PET (5 L).

A fermentação alcoólica foi realizada em quatro biorreatores de polietileno, em temperatura controlada (24 °C), com 6 litros de caldo em cada um. A levedura utilizada foi a *Saccharomyces bayanus* da marca RED STAR na proporção 0,5 g/L. Foi realizado um acompanhamento cinético do processo fermentativo dos biorreatores a cada dois dias inicialmente, determinando os seguintes parâmetros: sólidos solúveis totais (°Brix), utilizando um densímetro apropriado para 100 mL de amostra; pH, utilizando um pHmetro de bancada modelo mPA-210 da marca MS Tecnocon; acidez total por titulação, utilizando metodologia descrita por IAL (2008); teor alcoólico (°GL), utilizando um ebuliômetro, e açúcares totais (ART), determinados pelo método DNS (ácido 3,5-dinitro salicílico) descrito por Miller (1959). Finalizado o processo fermentativo os sobrenadantes foram separados da parte sólida por decantação e armazenados em freezer em temperatura de -18 °C para a fermentação acética.

Para a produção do vinagre de sapoti foram utilizadas bactérias provenientes de kombucha, produzida de forma artesanal. Utilizou-se um fermentado de sapoti com teor alcoólico de 13 °GL, como fonte de nutrientes para o desenvolvimento dessas bactérias. A formulação do inóculo foi de 83,3% de fermentado de sapoti e 16,7% de um isolado de kombucha artesanal, com camadas de biofilme que as bactérias acéticas produzem. Para controle do processo, foram realizadas análises de acidez total e pH (IAL, 2008) em um intervalo que variou de 1 a 3 dias.

Diante de testes preliminares realizados, optou-se pela utilização do método lento, ou método de Orleans, para a realização da fermentação acética. Para este fim, foi utilizado um biorreator de polietileno com capacidade de 8 L, onde colocou-se 75% de fermentado alcoólico de sapoti e 25% de inóculo à temperatura ambiente (25 °C).

As amostras eram coletadas duas vezes na semana para a análise de acidez total, pH e teor alcoólico. Após o vinagre apresentar um teor alcoólico abaixo de 1 °GL e ultrapassar 4% de teor acético, ele foi retirado do biorreator, filtrado à vácuo, engarrafado em garrafas previamente sanitizadas e pasteurizado para a realização da caracterização do produto. A pasteurização foi realizada em garrafas de vidro fechadas. Inicialmente as garrafas foram colocadas em banho maria na temperatura de 65 °C por 30 minutos. Após esse período, as garrafas foram imersas em banho de gelo (a 0 °C).

2.1 CARACTERIZAÇÃO DO CALDO, DO FERMENTADO ALCOÓLICO E DO FERMENTADO ACÉTICO

O caldo de sapoti e os fermentados alcoólicos foram caracterizados quanto aos seguintes parâmetros: acidez total, sólidos solúveis totais (SST), açúcares redutores (AR), açúcares redutores totais (ART), açúcares não redutores e pH. A análise da atividade antioxidante pelos métodos DPPH (Silva Júnior et al., 2021), FRAP (Benzie; Strain, 1996) e ABTS (Saimaiti et al., 2022) e a dos compostos fenólicos totais (Slinkard; Singleton, 1977) foi realizada apenas no caldo e no fermentado acético.

Os fermentados acéticos obtidos foram caracterizados quanto a acidez total, acidez fixa, acidez volátil, pH, teor alcoólico, extrato seco reduzido, açúcares redutores, açúcares redutores totais, açúcares não redutores, densidade relativa, sulfato de potássio e cinzas para verificar se eles atendiam as especificações da legislação vigente (Brasil, 2012). Para garantir a segurança do produto, foram realizadas análises de coliformes totais e termotolerantes, pelo método de Hunt e Rice (2005). Como as amostras analisadas eram ácidas, foi realizada uma neutralização em uma delas para verificar a influência da acidez no experimento.

2.2 ANÁLISE SENSORIAL DO VINAGRE

Avaliou-se, por meio de alfaces frescas, as características sensoriais do vinagre de sapoti e de um vinagre comercial de maçã. Foram recrutados julgadores de ambos os gêneros, a eles foi apresentado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, norteado pela Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (CNS), autorizando sua participação voluntária na pesquisa, informando sobre a natureza desta, objetivos, finalidade, riscos potenciais e/ou incômodos. Foi adotado como critério de seleção dos julgadores a disponibilidade e o interesse em realizar o teste, pois nem todos eram consumidores de vinagre de fruta.

A análise sensorial foi realizada utilizando testes de aceitação e intenção de compra com 57 julgadores não treinados. Para o teste de aceitação foram analisados os

atributos cor, aroma, sabor, acidez, e aceitação global, utilizando-se uma escala hedônica estruturada de 9 pontos, variando de uma extremidade a outra desde “gostei muitíssimo” com nota igual a 9 à “desgostei muitíssimo”, com nota igual a 1, com a mediana de “nem gostei, nem desgostei” e também a escala de 5 pontos na qual 5 representa a nota máxima "compraria" e 1 representa a nota mínima “não compraria (Dutcosky, 2011).

2.3 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Os resultados das determinações foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de T-student a um nível de confiança de 95%. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. Foi utilizado o pacote estatístico Statistica®, versão 7.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 RENDIMENTO DO SAPOTI

Na Tabela 1 estão os valores do peso dos frutos após amadurecimento, da polpa, das sementes e dos resíduos, que incluem cascas e frutos descartados. A quantidade de resíduos foi bastante elevada (15,109 kg) pois grande parte dos frutos apresentou características impróprias para utilização, sendo maduro demais ou verde demais. O rendimento do processo de corte e descasque foi de 66,8%, valor abaixo do encontrado por Cavalcante (2022) (77,02%) e Neves (2020) (78,99%), ambos realizados no mesmo laboratório, LBA. Esse baixo rendimento pode ter sido causado pela quantidade excessiva de frutos descartados, resultado do amadurecimento não controlado dos frutos.

Tabela 1 - Rendimento dos componentes do sapoti

Parâmetros	Massa (kg)	Rendimento (%)
Massa dos frutos	47,811	-
Massa da polpa	31,939	66,80
Massa das sementes	0,763	1,60
Resíduo	15,109	31,60

Fonte: Elaborado pelos autores

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO CALDO

Logo após a extração foram obtidos 18,06 L de caldo com um teor de Sólidos Solúveis Totais (SST) de 27 °Brix. Com base em uma fermentação preliminar realizada com sapoti decidiu-se diluir o caldo para o SST 23 °Brix e ao realizar o cálculo, viu-se que seria necessário adicionar 3,14 L de água potável ao caldo para que ele chegasse a um SST de 23 °Brix. Portanto, ao final da diluição obteve-se 21,2 L de caldo com 23,2 °Brix. Por meio da Tabela 2 é possível observar os parâmetros principais do caldo de sapoti.

Tabela 2 - Caracterização do caldo de sapoti

Parâmetros	Média ± desvio padrão	Mínimo Legislação (BRASIL, 2018)
pH	4,750 ± 0,01527	5,5
SST (°Brix)*	23,200 ± 0,0000	16,0
Acidez total (g/100g de ácido cítrico)	0,370 ± 0,0000	0,2
Açúcares redutores totais (g/100 mL)	17,185 ± 3,2146	11,0
CFT (mg EAG/100 mL)*	17,203 ± 7,4844	-
AA – DPPH (µM Trolox/100 mL)*	15,164 ± 17,5432	-
AA – FRAP(µM Trolox/100 mL)*	58,758 ± 29,1707	-
AA – ABTS(µM Trolox/100 mL)*	71,711 ± 11,7137	-

*SST= sólidos solúveis totais. CFT=compostos fenólicos totais. AA=atividade antioxidante

Fonte: Elaborado pelos autores

O valor de pH do caldo foi 4,75, sendo mais baixo que o valor mínimo exigido por Brasil (2018). Cavalcante (2022) obteve um valor de pH próximo, 4,97 para caldo de sapoti, valor bem abaixo do encontrado por Santos et al. (2020) nas polpas de sapoti (pH 6,65) e mais próximo ao de Soares (2018) que também na polpa de sapoti encontrou um pH de 5,55. Quanto ao valor de sólidos solúveis totais (SST), o caldo deste trabalho apresentou, após a diluição, um valor de 23,2 °Brix. Antes da diluição o SST do caldo de sapoti era 27 °Brix, semelhante ao de Cavalcante (2022) que foi 26,2 °Brix no caldo de

sapoti, ambos maiores que o mínimo indicado na legislação (16 °Brix). Santos et al. (2020) encontraram um teor de SST de 13,0 °Brix na polpa de sapoti enquanto Soares (2018) encontrou no mesmo fruto um valor de 20,2 °Brix. O valor dos sólidos solúveis é de extrema importância porque pode indicar se o fruto é muito açucarado, o que vai influenciar no processo de fermentação.

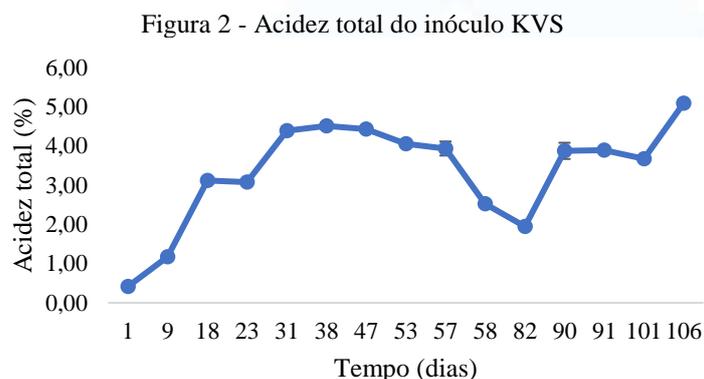
O valor dos compostos fenólicos totais é um balanço das substâncias de todos os compostos que formam as subclasses dos compostos fenólicos em uma amostra. O teor presente no caldo de sapoti foi de 17,2035 mg EAG/100 mL, um pouco mais elevado que o obtido por Cavalcante (2022) em caldo de sapoti extraído da mesma forma, por meio de prensa hidráulica (11 mg EAG/100 mL), e muito menor do que o encontrado por Lim, Rabeta e Uthumporn (2018) avaliar o suco de sapoti (46,98 mg EAG/100 mL). Morais (2018) também realizou a análise de compostos fenólicos totais na polpa do sapoti, encontrando valores entre 9,86 e 16,24 mg EAG/100 mL. O presente trabalho, Morais (2018) e Cavalcante (2022) analisaram frutos de sapoti originários da região Nordeste do Brasil, enquanto Lim, Rabeta e Uthumporn (2018) utilizaram sapotis da região de Kuala Kurau na Malásia, o que pode influenciar nas características do caldo.

A atividade antioxidante por meio do método de sequestro do radical DPPH foi de 15,164 µM Trolox/100 mL, enquanto Morais (2018) e Cavalcante (2022) obtiveram no sapoti valores de 12,6 µM Trolox/100 g e 6.012 µM Trolox/100 g, respectivamente, onde o valor encontrado por Morais (2018) foi semelhante ao deste trabalho com o caldo do sapoti, já Cavalcante (2022) encontrou um teor de atividade antioxidante muito elevado por este método.

Pelo método FRAP, a atividade antioxidante foi 58,758 µM Trolox/100 mL para o caldo de sapoti, enquanto Morais (2018) obteve 52,64 µM Trolox/100 mL na polpa de sapoti, valores bastante parecidos. Cavalcante (2022) encontrou valores bastante elevados (42.894 µM ET/100 mL) no caldo de sapoti, comparados aos de Morais (2018) e aos deste trabalho. Pelo método ABTS o valor da atividade antioxidante do caldo do sapoti foi maior que o obtido pelos outros métodos, chegando a 71,711 µM Trolox/100 mL, enquanto Cavalcante (2022) com polpa de sapoti encontrou 46,203 µM Trolox/100 g.

3.3 OBTENÇÃO DAS BACTÉRIAS ACÉTICAS

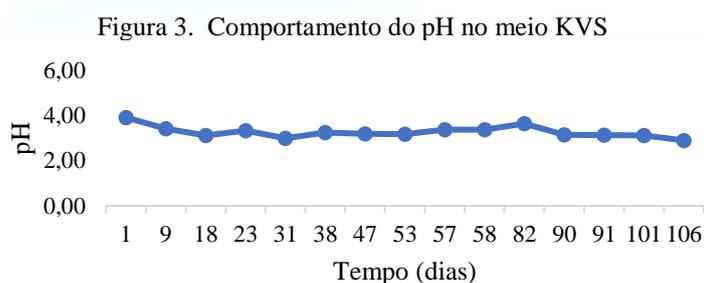
Logo após a inoculação, a acidez total do meio de kombucha com fermentado de sapoti (KVS) foi de 0,4175% e o pH de 3,91. Do 9º dia ao 18º dia houve um ótimo crescimento, a acidez total subiu quase 2%, chegando nos 4% exigidos pela legislação brasileira no dia 31 (4,3936%). Por 22 dias a acidez total se manteve na faixa dos 4%, voltando a cair a partir do 53º dia. O comportamento da acidez durante o período do isolamento é demonstrado na Figura 2.



Fonte: Elaborado pelos autores

Observando a Figura 2 é possível observar a elevação da acidez nos primeiros dias, a estabilidade do dia 31 ao dia 53 onde a acidez se manteve em torno de 4%, e ainda é apresentado um decaimento entre o dia 57 e o dia 82. Pela falta de alimentação do meio com álcool, as bactérias presentes começaram a consumir o ácido acético que elas mesmas produziram, é por este motivo que os valores de acidez total caíram. Observando essa queda, foi realizada uma alimentação com fermentado de sapoti no dia 82, para que as bactérias presentes no meio continuassem a produzir. Em 8 dias após a alimentação, já se notou uma nova elevação na acidez do meio, chegando no valor de 3,8767%. Após um pequeno declínio no 101º, foi realizada uma nova alimentação, para evitar que a acidez voltasse a cair. No dia 106 a maior acidez total desse meio (5,0894%) foi alcançada, estando o inóculo pronto para ser utilizado na fermentação acética.

Observando a Figura 3, a maioria dos valores de pH do meio seguiram o comportamento da acidez, sendo inversamente proporcionais, ou seja, quando o valor de acidez aumentava, o valor de pH decaía.



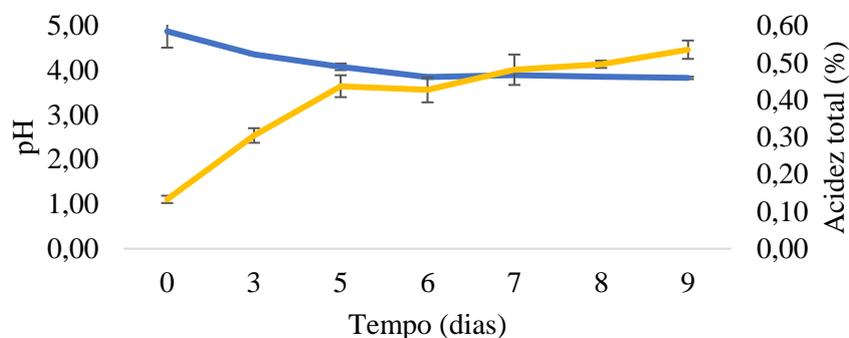
Fonte: Elaborado pelos autores

No início do processo, o pH do meio se encontrava em 3,91 e começou a cair à medida que a acidez aumentou, chegando em 3,12 no 18º dia. O menor pH obtido foi de 2,90 no último ponto de coleta do inóculo, coincidindo com a maior acidez total encontrada.

3.4 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO SAPOTI

Durante a fermentação alcoólica do caldo de sapoti foram realizadas coletas inicialmente a cada 2 dias, e depois diariamente, para um maior acompanhamento da cinética da fermentação. Foram realizadas ao todo 7 coletas até que o SST chegasse a um valor de 0 °Brix. O pH se manteve em valores próximos a 4, e a acidez apresentou valores entre 0,13% a 0,54%, em média. A Figura 4 mostra o comportamento do pH e da acidez total durante os dias da fermentação alcoólica de sapoti.

Figura 4 - Comparação do comportamento do pH e da acidez total durante fermentação alcoólica de sapoti

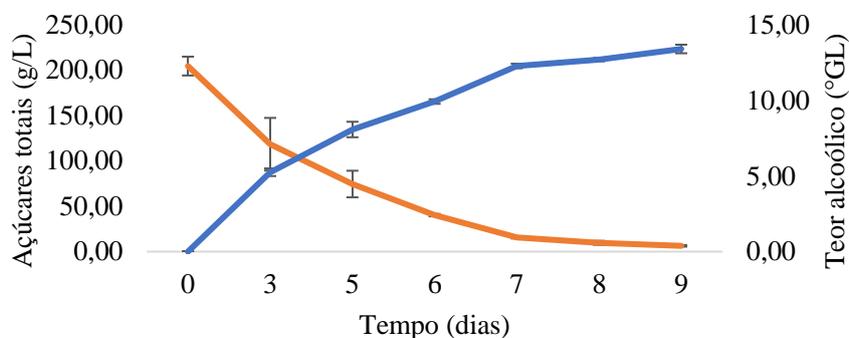


Fonte: Elaborado pelos autores

Nota-se que os valores de acidez subiram à medida que os valores de pH caíram. Este comportamento era esperado, já que é característico de uma fermentação. O comportamento das duas curvas foi semelhante ao encontrado por Cavalcante (2022), que encontrou um pH mínimo de 3,56, um pouco menor do que foi obtido nesta fermentação (3,83).

O teor alcoólico da fermentação de sapoti iniciou-se em 0 °GL, pois não se tem álcool no começo do processo. No caso do sapoti foi observado uma média de 204,477 g/L de açúcares totais presentes no início do processo, pois se trata de um fruto bastante açucarado naturalmente. À medida que esse substrato foi consumido, o álcool foi produzido pelas leveduras, como é mostrado na Figura 5.

Figura 5 - Consumo de açúcares totais (substrato) e produção de álcool em função do tempo (dias)



Fonte: Elaborado pelos autores

O gráfico apresentado na Figura 5 mostra a relação entre o substrato utilizado na fermentação, os açúcares do fruto sapoti, e o etanol produzido no decorrer dos dias. Comportamento semelhante foi encontrado por Cavalcante (2022), utilizando a mesma levedura e o mesmo fruto, porém por questões de quantidade de leveduras utilizadas e pela temperatura da fermentação, a autora obteve um tempo maior de processo, chegando a 21 dias, mais que o dobro do tempo utilizado neste trabalho para a realização da fermentação. O maior teor alcoólico (13,4 °GL) foi obtido em 9 dias, enquanto isso a quantidade de substrato presente foi de 6,361 g/L. A fermentação foi encerrada porque os sólidos solúveis presentes atingiram 0 °Brix, nos quatro biorreatores utilizados. No início do processo, o SST era de 23,2° Brix após a diluição, e levou aproximadamente 9 dias para finalizar o processo fermentativo.

Os valores de açúcares redutores encontrados no decorrer da fermentação foram maiores que os açúcares totais, pelo mesmo motivo apresentado no tópico da caracterização do caldo de sapoti, variando de 214,15 g/L, no início da fermentação, chegando a 6,27g/L no término.

3.5 FERMENTAÇÃO ACÉTICA DO SAPOTI

Na Tabela 3 estão apresentados os dados da cinética da fermentação acética do sapoti com bactérias da kombucha, onde foram realizadas 10 coletas em 37 dias. O teor alcoólico inicial da fermentação foi de 10,8 °GL, e a acidez total inicial foi 1,59%.

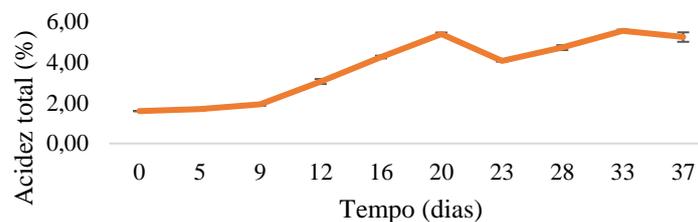
Tabela 3 - Fermentação acética do sapoti com bactérias da kombucha (FAK)

Dias	pH	Acidez total (%)	Teor alcoólico (%)
0	3,6733 ± 0,0058	1,5928 ± 0,0000	10,8
5	3,6633 ± 0,0153	1,6911 ± 0,0681	-
9	3,6167 ± 0,0058	1,9271 ± 0,0681	8
12	3,4967 ± 0,0058	3,0480 ± 0,1228	-
16	3,5967 ± 0,0252	4,2525 ± 0,0667	1,8
20	3,3567 ± 0,0058	5,3880 ± 0,0681	-
23	3,4833 ± 0,0058	4,0601 ± 0,0333	0
28	3,6467 ± 0,0153	4,7143 ± 0,1202	-
33	3,3733 ± 0,0058	5,5417 ± 0,0577	-
37	3,3767 ± 0,0058	5,2338 ± 0,2333	-

Fonte: Elaborado pelos autores

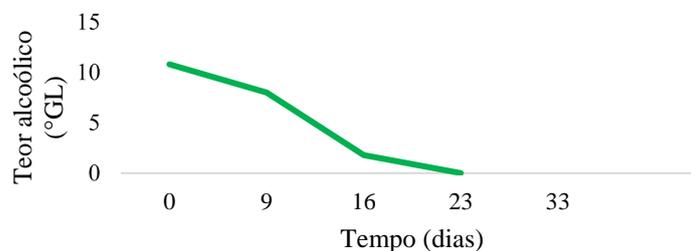
Pela Figura 6, é possível visualizar o crescimento da acidez total do fermentado acético, que a partir do 9º dia subiu consideravelmente até o 20º dia. Porém no 16º dia já se notou que o fermentado alcançou a acidez total de 4%, que indica que o mesmo já pode ser considerado um vinagre. A evolução do pH acompanhou a acidez total, diminuindo à medida que a fermentação avançava, tendo seu ponto máximo o valor inicial (3,6733). Para manter o volume da fermentação, a coleta para a análise de teor alcoólico era realizada uma vez na semana, e de acordo com os valores obtidos, viu-se que o álcool foi realmente transformado em ácido acético (Figura 7), chegando a 0º GL no 23º dia, dando por encerrada a fermentação.

Figura 6. Acidez total da fermentação acética do isolado de kombucha (FAK)



Fonte: Elaborado pelos autores

Figura 7. Teor alcoólico da fermentação acética do isolado de kombucha (FAK)



Fonte: Elaborado pelos autores

Barbosa et al. (2017) realizaram uma fermentação acética de um fermentado alcoólico de cajá, que durou 27 dias para a acidez total sair de 1% até chegar em 4%, mais lento que a fermentação realizada neste trabalho. Com relação ao teor alcoólico da fermentação acética do fermentado de cajá, os autores iniciaram o processo com um teor de 10,24 °GL e findaram a fermentação acética com um teor de 0,96 °GL, mais elevado do que o obtido neste trabalho (0,1 °GL).

3.6 CARACTERIZAÇÃO DO VINAGRE DE SAPOTI E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

O vinagre de sapoti obtido neste trabalho foi resultado da fermentação acética de um fermentado alcoólico de sapoti com bactérias de kombucha caseira (Figura 8). O produto foi submetido a análises físico-químicas e microbiológicas, para averiguar a conformidade com a legislação vigente e atestar sua segurança. Os parâmetros analisados estão apresentados na Tabela 4.

Figura 8 - Vinagre de sapoti engarrafado



Fonte: Elaborado pelos autores

Tabela 4 - Parâmetros do vinagre de sapoti obtido

Parâmetro	Valor	Brasil (2012)	
		Mínimo	Máximo
Cinzas (g/L)	1,267 ± 0,1222	1,00	5,00
Teor alcoólico (°GL)	0,100 ± 0,0000	-	1,00
Sulfatos(g/L)	< 0,7	-	1,00
Extrato seco reduzido (g/L)	44,350 ± 0,5238	6,00	-
Acidez total (%)	4,620 ± 0,0600	-	-
Acidez fixa (%)	0,313 ± 0,0232	-	-
Acidez volátil (%)	4,307 ± 0,0600	4,00	-
Densidade relativa (g/cm ³)	1,031 ± 0,0004	-	-
pH	3,387 ± 0,0252	-	-
SST (°brix)	8,000 ± 0,0000	-	-
Açúcar total (g/L)	15,197 ± 0,5015	-	-
Açúcar redutor (g/L)	11,543 ± 0,3680	-	-
Açúcar não redutor(g/L)	3,654 ± 0,7360	-	-
AA DPPH (µM Trolox/ 100 mL)	46,674 ± 3,5725	-	-
AA FRAP (µM Trolox/g)	41,977 ± 0,7052	-	-
Compostos fenólicos (mg EAG/100g)	30,883 ± 3,7138	-	-

SST – Sólidos Solúveis Totais; AA – Atividade antioxidante

Fonte: Elaborado pelos autores

As cinzas presentes no produto (1,267 g/L) apresentaram-se dentro da faixa permitida na legislação brasileira. Dutra (2021) ao produzir um vinagre de jambolão obteve 1,84 g/L de cinzas, valor um pouco mais elevado que o do vinagre de sapoti. Outro parâmetro que apresentou conformidade com a legislação foi o teor alcoólico, que atingiu um valor de 0,1% no vinagre produzido. Barbosa et al. (2017) obtiveram após o processo de fermentação alcoólica um teor de 10,24% e após a fermentação acética, o teor alcoólico caiu para 0,96%. Em um vinagre de manga, Barbosa (2020) alcançou no final do processo

de fermentação acética um teor alcoólico de 0,95%, semelhante ao vinagre de cajá de Barbosa et al. (2017).

Para a análise de sulfatos no vinagre foi utilizado um método semiquantitativo, que avaliou a precipitação do íon sulfato por meio de uma solução de concentração conhecida de cloreto de bário. Após os procedimentos, concluiu-se que as amostras de vinagre possuem menos de 0,7 g/L de sulfato de potássio em sua composição, por meio da turvação e limpidez dos tubos utilizados no experimento. De acordo com Brasil (2012), a quantidade de sulfato de potássio na amostra precisa ser no máximo 1 g/L, comprovando que o vinagre de sapoti está dentro da faixa permitida.

No vinagre de sapoti o extrato seco reduzido ficou em 44,35 g/L, maior que o valor mínimo permitido que é de 6 g/L. O vinagre de jambolão produzido por Dutra (2021) apresentou um valor de extrato seco de 15,99 g/L e Barbosa et al. (2020) encontraram um valor de 11,33 g/L de extrato seco reduzido em vinagre de manga, ambos inferiores ao encontrado neste trabalho. O vinagre de sapoti, ao final do processo, conseguiu chegar a uma acidez total de 4,62%, exatamente a mesma acidez obtida por Özdemi et al. (2022) com o vinagre de rosa mosqueta, e ambos diferiram de Dutra (2021), que produziu um vinagre de jambolão com acidez total de 5,31%. Segundo Brasil (2012), a acidez volátil mínima para um fermentado acético é de 4%, e o fermentado obtido neste trabalho apresentou uma acidez volátil de 4,307%, estando assim dentro da faixa permitida. Barbosa (2020) obteve um vinagre de manga com uma acidez volátil menor que a apresentada neste trabalho e menor que a indicada pela legislação (3,28%). A densidade relativa do vinagre de sapoti foi de 1,031 g/cm³, valor semelhante ao encontrado por Neves (2020), que encontrou uma densidade de 1,004 g/cm³ em um vinagre de caju e 1,002 g/cm³ em um vinagre de maçã. O valor de pH obtido no produto foi de 3,387, valor parecido com o encontrado por Barbosa et al. (2020) em vinagre de manga (3,28) e por Özdemi et al. (2022) que determinaram um valor de pH de 3,50 ao desenvolverem um vinagre de rosa mosqueta.

Os sólidos solúveis totais presentes no vinagre de sapoti chegaram a valores superiores aos encontrados por Özdemi et al. (2022), que não ultrapassaram 3,65 °Brix em um vinagre de rosa mosqueta. Foi superior também aos obtidos por Neves (2020), que

utilizou maçã e caju para elaborar dois vinagres com SST igual a 3,5 °Brix e 2,77 °Brix, respectivamente. Barbosa et al. (2017) produziram um vinagre de cajá que apresentou um valor de sólidos solúveis totais maior que Neves (2020), chegando a 5,25 °Brix, sendo este valor mais próximo do vinagre de sapoti. No vinagre de sapoti estão presentes 15,197 g/L de açúcares totais, sendo 75,96% de açúcares redutores e 24,04% de açúcares não redutores.

A atividade antioxidante do vinagre de sapoti pelo método DPPH foi de 46,674 μM Trolox/100 mL, valor semelhante ao encontrado por Neves (2020) em um vinagre de caju, 38,42 μM Trolox/100 mL. O mesmo autor também obteve um vinagre de maçã, cuja atividade antioxidante foi de 1.003,75 μM Trolox/100 mL, muito mais elevado do que o encontrado no vinagre de sapoti e no vinagre de caju. Já o vinagre de rosa mosqueta obtido por Özdemir et al. (2022) apresentou $51,39 \times 10^5$ μM Trolox/100 mL, muito maior que todos os valores comparados anteriormente. Pelo método FRAP, a atividade antioxidante do vinagre de sapoti foi 41,977 μM Trolox/100 mL, semelhante ao método DPPH.

O método ABTS apresentou bem mais elevado que os outros dois métodos, 177,8920 μM Trolox/100 mL, maior do que o encontrado por Neves (2020) no vinagre de caju (37,0168 μM Trolox/100 mL) e menor que o de maçã (1402,56 μM Trolox/100 mL) produzido pelo mesmo autor.

Os compostos fenólicos presentes no vinagre de sapoti foram quantificados em 30,883 mg EAG/100 mL. Özdemir et al. (2022) obtiveram 760 mg EAG/100 mL em um vinagre de rosa mosqueta, enquanto Davies et al. (2021) encontraram 138,35 mg EAG/100 mL em um vinagre de mirtilo e 288,72 mg EAG/100 mL em um vinagre balsâmico de mirtilo, onde seu método de extração foi utilizando um liquidificador, já Özdemir et al. (2022) extraíram o suco de rosa mosqueta através de uma maceração. Quando comparado o valor de compostos fenólicos com os outros trabalhos, é possível notar que o vinagre de sapoti, obtido nessas condições, não possui altos valores de fenólicos em sua composição, provavelmente por razão do método de extração utilizado, porém a confirmação só poderia ser feita por meio da utilização de métodos diferentes.

Para a análise de coliformes totais e termotolerantes foram utilizados 10 mL da amostra de vinagre e mais 10 mL de amostra neutralizada, com o objetivo de verificar a

presença de coliformes totais e termotolerantes, em uma diluição de até 10^{-3} . Após esperar as 48 horas do teste presuntivo, não foi observado nem turvação nem formação de gases nos tubos que continham as amostras de vinagre, a ácida e a neutralizada, comprovando que não há presença de coliformes totais e termotolerantes no vinagre de sapoti.

3.7 ANÁLISE SENSORIAL

O teste T- Student foi utilizado para verificar se existia diferença significativa entre os atributos dos dois vinagres avaliados. Dessa forma pode-se constatar que em cada um dos atributos, o vinagre de sapoti e o vinagre de maçã comercial não diferiram significativamente, com nível de 95% de confiança, como é possível ver na Tabela 5.

Tabela 5 - Atributos avaliados do vinagre de sapoti e do vinagre de maçã

	Vinagre de Sapoti	Vinagre de Maçã	P-valor
Aceitação global*	7,2 ^a	6,7 ^a	0,069307
Aroma*	6,6 ^a	6,2 ^a	0,095161
Cor*	7,5 ^a	7,5 ^a	0,440865
Sabor*	7,1 ^a	6,6 ^a	0,053725
Acidez*	6,8 ^a	6,3 ^a	0,083297
Intenção de compra**	4,0 ^a	3,8 ^a	0,091012

Nas linhas, médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si. Teste T-Student

*Escala Hedônica de 9 pontos

**Escala Hedônica de 5 pontos

Fonte: Elaborado pelos autores

Na escala de 9 pontos, a média das notas de aceitação global foi 7,2 para o vinagre de sapoti e 6,7 para o vinagre de maçã comercial. A partir deste valor foi possível obter o índice de aceitação do vinagre de sapoti, que atingiu 79,7% de aprovação, portanto o produto obtido foi aceito por estar com um índice acima de 70%.

Com relação a aceitação global, 51 pessoas deram notas positivas ao vinagre de sapoti, 1 pessoa deu nota neutra e 5 escolheram dar notas negativas, como não há diferenças significativas entre os vinagres, as notas da aceitação do vinagre de maçã comercial seguiu o mesmo comportamento. O aroma dos vinagres também foi muito bem avaliado, pois a grande maioria dos julgadores responderam com notas positivas a este atributo. A coloração dos vinagres de sapoti e de maçã comercial foi bastante semelhante,

por isso os julgadores não conseguiram identificar pela cor qual era a amostra de sapoti e a de maçã, e conseqüentemente acabaram dando notas parecidas para as duas amostras. Quase todos os julgadores deram notas positivas para o sabor do vinagre de sapoti, comprovando sua aprovação. Assim como os outros atributos, a acidez e a intenção de compra foram bem avaliadas, onde a maioria dos julgadores admitiram que comprariam o produto se estivesse no mercado, o que fortalece ainda mais o índice de aceitação do vinagre de sapoti obtido a partir de bactérias da kombucha.

4 CONCLUSÃO

As bactérias acéticas isoladas da kombucha que foram obtidas, mostraram grande capacidade de produzir ácido acético, de acordo com os valores de acidez total e pH que o inóculo apresentou, por este motivo foram utilizadas para a produção de um vinagre de sapoti. O fermentado acético obtido foi caracterizado, comprovando que se encontrava dentro dos valores permitidos na legislação, podendo ser chamado de vinagre de fruta.

Por meio da análise sensorial realizada, foi possível constatar que os atributos do vinagre de sapoti não apresentaram diferença significativa com o vinagre de maçã comercial, sendo o vinagre de sapoti aceito com mais de 70% de aprovação, estando apto para competir com os vinagres comerciais.

REFERÊNCIAS

- AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia na produção de alimentos**. Vol. 4. Editora Blücher, São Paulo, 523 p., 2001.
- BARBOSA, C. D. et al. Obtenção e caracterização de vinagre de manga pelo método de acetificação de Orleans. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, e127985593, 2020.
- BARBOSA, V. O. **Análise dos processos fermentativos para produção de vinagre de cajá (*Spondias mombin*)**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos) – Universidade Federal de Campina Grande, Sumé – PB, 2017.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
- BONIFÁCIO, K. F. **Produção de cerveja artesanal com polpa de sapoti (*Manilkara sapota* L.)**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2018.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 16, de 19 de março de 2020. Altera a IN MAPA nº6, de 3 de abril de 2012 e a IN MAPA nº 34, de 29 de novembro de 2012, para estabelecer a proibição de utilização de açúcar na elaboração do fermentado de fruta que sirva de matéria-prima para a produção de fermentado acético de fruta. **Diário Oficial da União**, março, 2020.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 6, de 3 de abril de 2012. Estabelece os padrões de identidade e qualidade e a classificação dos fermentados acéticos. **Diário Oficial da União**, n. 66, abril, 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 37, de 1º de outubro de 2018. Estabelecer os parâmetros analíticos de suco e de polpa de frutas e a listagem das frutas e demais quesitos complementares aos padrões de identidade e qualidade. **Diário Oficial da União**. Brasília, D.F. 08 de outubro de 2018.
- CAVALCANTE, A. C. S. S. **Desenvolvimento de uma bebida alcoólica fermentada gaseificada do fruto do sapotizeiro (*Manilkara zapota* L.)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, 2022.
- COSTA, L. N.; MORAIS, P. L. D.; LEITE, G. A.; ALMEIDA, M. L. B.; MIRANDA, M. R. A.; FERNANDES, P. L. O. Influência da adubação potássica na qualidade e no potencial antioxidante do sapoti em diferentes estádios de desenvolvimento, **Revista Ceres**, v. 64, n.4, p. 419-425, 2017.
- CRUZ, M. A. M. **Vinagres comercializados em Portugal: avaliação da capacidade antioxidante**. 2012. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar) – Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viseu, Viseu – Portugal, 2012.

DAVIES, C. V. et al. Blueberry balsamic vinegar: bioactive compounds and antioxidant activity during processing and assessment of diverse evaporation techniques for juice. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 24, e2020190, 2021.

DUTCOSKY, S. D. Análise sensorial de alimentos. In: **Análise sensorial de alimentos**. 2011. p. 426-426.

DUTRA, J. M. **Produção e caracterização físico-química e microbiológica do vinagre de jambolão (*Syzygium cumini*)**. 2021. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde – GO, 2021.

HUNT, H.E.; RICE, E. W. Microbiological examinations. In: EATON, A.D (ED.) Standard methods for the examination of water & wastewater. 21th ed. Washington; APHA. Part 9000, p.9-1 – 9-169, 2005.

IAL, Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4ª ed. Brasília – DF: Ministério da Saúde, 2008.

LIM, W. S.; RABETA, M. S.; UTHUMPORN, U. Development of functional beverage from Sapodilla (*Manilkara Zapota* L.) fruit. **Food Research**, v. 2, n. 2, p. 163-170, 2018.

MAESTRE, K. L. **Estudo de condições de fermentação alcoólica e acética utilizando subproduto lácteo e diferentes leveduras**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo - PR, 2017.

MILLER GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MORAIS, A. R. S. **Avaliação do potencial antioxidante do sapoti (*Manilkara zapota* L.)**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

NEVES, G. A. R. **Desenvolvimento de vinagre a partir de frutos de caju-árvore-do-cerrado e sua aplicação em bebidas mistas**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2020.

ÖZDEMİR, Nilgün et al. Phytochemical content, and antioxidant activity, and volatile compounds associated with the aromatic property, of the vinegar produced from rosehip fruit (*Rosa canina* L.). **LWT – Food Science and Technology**, v. 154, p. 112716, 2022.

SAIMAITI, A. et al. Antioxidant capacities and polyphenol contents of kombucha beverages based on vine tea and sweet tea. **Antioxidants**, v. 11, n. 9, p. 1655, 2022.

SANTOS, E. F.; RAMOS, R. S.; OLIVEIRA, S. C. P; FERREIRA, T. O. Caracterização física e físico-química do fruto Sapoti oriundo de Santa Isabel do Pará. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 35185-35192, 2020.

SILVA JÚNIOR, J. C. et al. Traditional and flavored kombuchas with pitanga and umbu-cajá pulps: Chemical properties, antioxidants, and bioactive compounds. **Food Bioscience**, v. 44, p. 101380, 2021.

SILVA JUNIOR, J. F.; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; DE MOURA, R. J. M. O sapatizeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 86-99, 2014.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. L. Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 28, n. 1, p. 49–55, 1977.

SOARES, G. G. G. **Caracterização físico-química das polpas do fruto do sapatizeiro (*Manilkara sapota*, L.)**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

ZOCHE, E. P.; FIGUEIREDO, O. **Produção de vinagre de jaboticaba**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Medianeira - PR, 2014.