

## Acetificação de vinho de tamarindo- características físico-químicas

## Acetification of tamarind wine - physicochemical characteristics

### RESUMO

**Letícia Thais Antunes**  
[leinha.thais@gmail.com](mailto:leinha.thais@gmail.com)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

**Lyssa Setsuko Sakanaka**  
[lyssa@utfpr.edu.br](mailto:lyssa@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

**Edvaldo Rodrigues de Oliveira Júnior**  
[edvaldojr.ldna@gmail.com](mailto:edvaldojr.ldna@gmail.com)  
Instituto Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

**Talita Kato**  
[talita\\_kato@hotmail.com](mailto:talita_kato@hotmail.com)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

**Wilma Aparecida Spinosa**  
[wilma.spinosa@uel.br](mailto:wilma.spinosa@uel.br)  
Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil

**Claudio Takeo Ueno**  
[takeo@utfpr.edu.br](mailto:takeo@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

**Recebido:** 19 ago. 2020.

**Aprovado:** 01 out. 2020.

**Direito autoral:** Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



O objetivo deste trabalho foi estudar a viabilidade do emprego de bactérias ácido acéticas de um acetificador piloto na produção de um vinagre de tamarindo. A polpa de tamarindo usada neste projeto foi obtida de comércio local. Foi feita a fermentação alcoólica desta polpa, durante 120 horas, utilizando-se leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* e as enzimas Pectinex Ultra Tropical e Viscozyme. A fermentação acética foi feita com três diferentes bactérias acéticas isoladas de um acetificador piloto. A produtividade das bactérias acéticas foi verificada pelas análises de acidez total dos fermentados e concentração de etanol. Os valores da acidez obtida na fermentação da polpa de tamarindo ficaram entre 5,96 % e 6,12 % (g/100mL), e o teor de etanol entre 0 e 1,2 % (v/v). As bactérias 2 e 3 foram as que apresentaram a melhor eficiência na produção de vinagre. O vinagre de tamarindo apresentou-se de acordo com os parâmetros da legislação vigente, e pode ser um produto interessante para comercialização e consumo de tamarindo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Acidez. Fermentação. Vinagre.

### ABSTRACT

This study aims to look into the viability of employing acetic acid bacteria isolated from a pilot acetifier in the production of tamarind vinegar. The tamarind pulp used in this project was obtained from a local business. The alcoholic fermentation of this pulp occurred during 120 hours, and was performed using the *Saccharomyces cerevisiae* yeast and the enzymes Pectinex Ultra Tropical and Viscozyme. The acetic fermentation was obtained using three different acetic bacteria isolated from a pilot acetifier. The productivity of the acetic bacteria was verified through titratable acidity analysis and ethanol concentration. The acidity values obtained in the fermentation of the tamarind pulp were between 5,96% and 6,12% (g/100mL), and the concentration of ethanol was between 0 and 1,2% (v/v). Bacteria 2 and 3 were the ones with better efficiency on vinegar production. The tamarind vinegar satisfied the current legislation requirements, and, can be an interesting product for commercialization and consume of tamarind.

**KEYWORDS:** Acidity. Fermentation. Vinegar.



## INTRODUÇÃO

As primeiras menções que se têm do vinagre datam de 3.000 a.C. onde babilônios usavam a fruta e a seiva de palmeiras para produzir bebidas alcoólicas, essas bebidas se converteram naturalmente em vinagre em contato com o ar. Os babilônios usavam então esse vinagre na comida ou como um conservante natural de alimentos. O vinagre pode ser produzido a partir de frutas e vegetais e carregar tanto o sabor como as propriedades destes. Em 2000 foram documentados pelo menos 110 tipos de vinagre com propriedades terapêuticas, higiênicas, profiláticas, medicinais, cosméticas e detergentes (BOURGEOIS e BARJA, 2009).

O tamarindo (*Tamarindus indica*) é originário da África e no Brasil é consumido principalmente no Nordeste. Apesar de seu uso generalizado, o tamarindo ainda é considerado uma fruta sub-utilizada na maior parte do mundo; apenas a Índia explora esse fruto de maneira organizada nacionalmente exportando-o para o resto do mundo. O principal destino dado aos tamarindos importados é sua adição a condimentos e molhos, por conta de seu sabor ácido-adocicado. O tamarindo tem um sabor ácido devido, em sua maior parte, ao ácido tartárico cujo nível pode atingir até 12% da polpa. Adicionalmente, o tamarindo é uma boa fonte das vitaminas B, tiamina, niacina e riboflavina. A acidez do tamarindo é um dos principais motivos que o torna um candidato ideal para a produção de vinagre (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2008).

O vinagre é uma combinação de ácido acético e água feito a partir de uma fermentação em duas etapas. Primeiro, a levedura se alimenta dos açúcares ou amido presentes em qualquer líquido de alimentos vegetais como frutas, grãos, batatas ou arroz, e é metabolizado em álcool. Esse álcool é então exposto ao oxigênio e as bactérias denominadas *Acetobacters*, fermentam este mosto alcoólico durante semanas ou meses, transformando-o em vinagre (T.H. CHAN SCHOOL OF PUBLIC HEALTH, 2019).

Na etapa de fermentação alcoólica pode-se otimizar a produção de álcool através do método de sacarificação, sendo este, realizado simultaneamente à fermentação. A sacarificação é a hidrólise de polissacarídeos em açúcares, quando ela é feita em conjunto com a fermentação, permite que os polissacarídeos se transformem em açúcares possíveis de serem consumidos pelas leveduras. Esse processo depende de uma temperatura ideal para as leveduras e para as enzimas e também de uma concentração ideal de enzimas (FARINAZZO et al., 2017).

As *Acetobacters* são bactérias ácido acéticas (BAA), de característica gram-negativas, aeróbicas obrigatórias, cujo formato se assemelha a bastonetes (MADIGAN et al., 2012). Assim como a levedura no vinho retira sua energia do açúcar e produz álcool, as BAA retiram sua energia do álcool e produzem ácido acético. Apesar de outras BAA conseguirem produzir vinagre, a mais encontrada comercialmente é a *Acetobacter aceti* (MARKHAM, 2012). As BAA realizam uma oxidação incompleta de álcool e açúcares, levando ao acúmulo de ácidos orgânicos como produto final. As *Acetobacters* se diferenciam das outras BAA por serem flageladas e por promoverem uma oxidação do ácido acético, gerando  $\text{CO}_{2(g)}$ . Elas são utilizadas na indústria de alimentos, na maioria para a produção de vinagre, mas podem ser usadas para produzir vitamina C (MADIGAN et al., 2012). Algumas cepas de BAA já se encontram presentes no vinho desde o início de sua fabricação

e permanecem no vinho mesmo após engarrafado, a falta de oxigênio e os altos níveis de álcool suprimem a atividade dessas bactérias. A cerveja, com seu baixo teor de álcool é ainda mais suscetível à acetificação (MARKHAM, 2012). As BAA são muito instáveis, mudando com facilidade suas propriedades bioquímicas e podem até mesmo perder a capacidade de oxidar o etanol em ácido acético.

Por conta desses atributos, é muito importante que seja feita uma caracterização das BAA na produção de vinagre. O melhor rendimento das BAA, quanto à temperatura, é obtido entre 25°C e 30°C, quanto ao álcool, podem suportar até 11% v/v e quanto ao ácido acético normalmente suportam até 10% (RIZZON e MENEGUZZO, 2002). A BAA ideal deve resistir à elevada concentração de ácido acético e álcool, ter pouca exigência nutritiva, grande velocidade na conversão do álcool em ácido acético, ter bom rendimento na transformação, não pode hiperoxidar o ácido acético formado e deve dar uma boa qualidade gustativa ao vinagre (RIZZON e MENEGUZZO, 2002).

O objetivo deste trabalho foi estudar a viabilidade do emprego de BAA de um acetificador piloto na produção de um vinagre de tamarindo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Material:** Polpa de tamarindo da marca Polpa Norte; levedura *Saccharomyces cerevisiae* da marca Fleischmann; BAA's, isoladas de um acetificador da UEL, originalmente obtidas de um acetificador de uma empresa de SP; enzima Viscozyme L<sup>®</sup> e enzima Pectinex Ultra Tropical<sup>®</sup>, ambas da marca Novozyme<sup>®</sup> cedidas pela LNF – Latinoamericana. Os reagentes e meios utilizados foram adquiridos no comércio local.

**Fermentação alcoólica da polpa de tamarindo:** Inicialmente foi preparado do pé de cuba: a levedura foi hidratada em água deionizada estéril por 40 min, em seguida foi adicionado o meio YMB e deixado em repouso por 3h antes da adição de 7% do volume total em polpa de tamarindo em temperatura ambiente, quando então descansou por um período de 12 horas. No dia da fermentação foi montado o fermentador. O fermentador foi esterilizado antes da adição da polpa de tamarindo, pé de cuba preparado anteriormente, e das enzimas Viscozyme L<sup>®</sup> e Pectinex Ultra Tropical<sup>®</sup>. A fermentação ocorreu durante 120 horas a 25°C. As enzimas são adicionadas para promover a sacarificação. Após a fermentação alcoólica, o fermentado foi filtrado com um pano estéril em recipientes previamente higienizados. O vinho filtrado foi armazenado num galão com bentonita e armazenado em câmara fria.

**Acetificação do vinho de tamarindo:** Três diferentes bactérias acéticas do gênero *Acetobacter* isoladas em trabalhos realizados por Oliveira Junior (2019) e Piccinin et al. (2019), foram utilizadas para elaboração do vinagre de tamarindo em erlenmeyers de 500mL, em triplicata. A cada 4-7 dias uma alíquota de vinagre era removida e adicionados o mesmo volume de vinho de tamarindo. O vinagre retirado foi usado em testes e é armazenado num galão em câmara fria.

**Análise de acidez:** A acidez total dos fermentados foi determinada através de titulação volumétrica com solução padronizada de NaOH. Foram utilizadas 3 gotas de fenolftaleína como indicador adicionadas a um erlenmeyer com 1000 uL de

amostra do fermentado. O procedimento foi realizado em triplicata. A porcentagem de acidez na amostra foi calculada de acordo com Aroucha (2010).

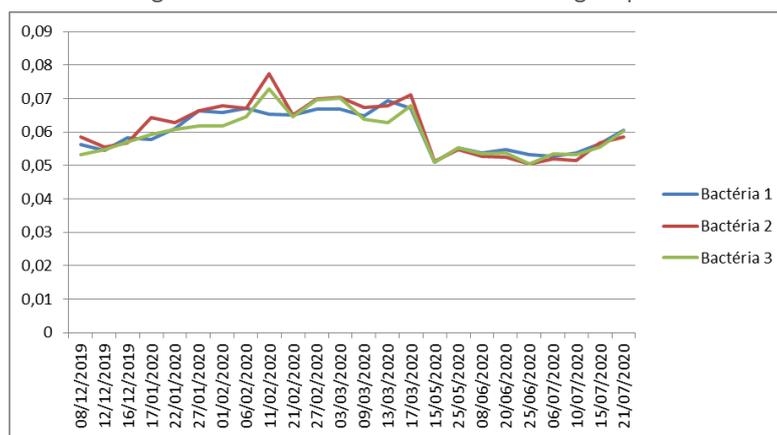
**Análise de etanol:** A análise seguiu procedimento descrito pela NBR 13920 (ABNT, 1997).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

### DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TOTAL DOS FERMENTADOS

Em trabalho anterior realizado por Piccinin et al. (2019), foram isoladas três cepas diferentes de *Acetobacter* do acetificador piloto da UEL contendo vinagre de milho. Foram feitos procedimentos para a adaptação das bactérias para serem alimentadas com vinho de tamarindo, e o monitoramento do processo é feito realizando-se análises de acidez e etanol. Na Figura 1 é apresentada a acidez média dos vinagres produzidos por cada uma dessas *Acetobacter* ao longo do tempo. Assim, pode-se caracterizar cada bactéria segundo sua produtividade.

Figura 1 – Teor de acidez médio dos vinagres por bactéria



Fonte: Autoria própria (2020).

Foi possível observar que todas as bactérias acéticas usadas no processo mantiveram a sua eficiência na produção de ácidos. Houve uma queda pronunciada na acidez por conta da pandemia, quando a rotina alimentação ficou prejudicada, o que levou a uma queda da produtividade das bactérias, no entanto, elas vêm recuperando viabilidade.

Todas as bactérias mantiveram durante todo o período a sua produção de ácidos em acordo com o estabelecido pela legislação (mínimo de 4% (g/100mL)).

Também é possível observar que, mesmo sendo cepas diferentes, as bactérias têm produtividade muito similar. E observou-se que as bactérias também são produtoras de exopolissacarídeos, característico de *Acetobacter*.

Foram levantados dados a respeito da acidez em vinagres produzidos a partir de outras pesquisas. Os dados foram organizados na Tabela 1, juntamente com os

resultados de acidez obtidos na produção do vinagre de tamarindo, como forma de comparação.

Tabela 1 – Porcentagem média de ácido acético em m/v por tipo de vinagre

Tipos de vinagre	Porcentagem média de ácido acético	Referência
Tamarindo (bactéria 1)	6.01 % (m/v)	Este trabalho
Tamarindo (bactéria 2)	6.12 % (m/v)	Este trabalho
Tamarindo (bactéria 3)	5.96 % (m/v)	Este trabalho
Melado de soja	5.07 % (m/v)	MIRANDA et al., 2020
Subproduto da polpa de banana	4.92 % (m/v)	TANAKA et al., 2016
Jaboticaba (formulação 2)	4.26 % (m/v)	ZOCHE e FIGUEREDO, 2020
Jaboticaba (formulação 4)	4.34 % (m/v)	ZOCHE e FIGUEREDO, 2020
Amora-preta (vinagreira)	5.16 % (m/v)	LIMA, 2014
Amora-preta (Biorreator de Bancada)	4.23 % (m/v)	LIMA, 2014
Casca de abacaxi	4.50 % (m/v)	SOSSOU et al., 2009

Fonte: Autoria própria (2020).

Nas pesquisas do vinagre de jaboticaba (ZOCHE e FIGUEREDO, 2020) e do vinagre de amora-preta (LIMA, 2014) foram fabricados mais de um vinagre, pois o intuito dessas pesquisas foi avaliar métodos de produção diferentes. As pesquisas a respeito do vinagre de melado de soja (MIRANDA et al., 2020) e do vinagre de casca de abacaxi (SOSSOU et al., 2009) buscavam produzir e caracterizar o vinagre obtido. A pesquisa do vinagre de subproduto da polpa de banana buscava a produção caracterização do vinho e vinagre produzidos (TANAKA et al., 2016).

Pode-se observar que o vinagre de tamarindo foi o que apresentou maior valor de acidez, provavelmente por tratar-se de uma fruta já com teor de acidez considerável presente na matéria-prima.

A Instrução Normativa nº 6 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2012) dispõe a respeito dos padrões de identidade e qualidade e a classificação dos fermentados acéticos. A respeito da acidez dos fermentados acéticos comercializados para consumo como condimento, estes, devem ter uma acidez volátil de no mínimo 4 % (g/100mL).

O teor de etanol dos vinagres foi de 1,2% (fermentado da Bactéria 1), 0,5% (Bactéria 2) e 0 (bactéria 3). De acordo com a legislação (MAPA, 2012), o teor de álcool dos fermentados acéticos deve ser de no máximo 1,0% (v/v), o que indica que a bactéria 1 parece estar com problemas de conversão do álcool em ácido acético, comprometendo sua produtividade.

## CONCLUSÕES

Foi possível obter um vinagre de fermentado alcoólico de tamarindo com características físico-químicas adequadas conforme preconizado pela legislação brasileira, sem uso de aditivos ou correção de pH.

Em comparação com outros vinagres, o vinagre de tamarindo apresenta alta acidez, provavelmente pela acidez característica já presente na fruta.

### AGRADECIMENTOS

À UTFPR pela infraestrutura, à CAPES, Fundação Araucária e ao CNPq pelos recursos que possibilitaram a aquisição dos equipamentos utilizados.

### REFERÊNCIAS

AROUCHA, Edna Maria Mendes et al. Acidez em frutas e hortaliças. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**: GRUPO VERDE DE AGRICULTURA ALTERNATIVA (GVAA), Mossoró, v. 5, n. 2, p.1-4, jun. 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13920: Aguardente de cana: Determinação do teor alcoólico**. Rio de Janeiro. 1997.

BOURGEOIS, J; BARJA, F. The history of vinegar and of its acetification systems. **Archives des Sciences**, Suíça, v. 62, n. 2, p. 147–160, dez. 2009.

FARINAZZO F; FARINAZZO E; SPINOSA W; GARCIA S. Saccharomyces boulardii: optimization of simultaneous saccharification and fermentation of cell production in organic and conventional apple substrate pulp. **Food Science and Biotechnology**, Coréia do Sul, v. 26, n. 4, p. 969-977, jul. 2017.

LIMA, Kely Priscila de. **Produção de Vinagre como Estratégia de Aproveitamento Tecnológico da Amora-Preta**: avaliação dos processos submerso e do processo lento. Ano de defesa: 2014. 120 folhas. Dissertação (Mestrado) – Curso de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014.

MADIGAN M; MARTINKO J; STAHL D; CLARK D. **Brock Biology of Microorganisms**. 13.ed. San Francisco: Prentice Hall, 2012.

MARKHAM B. **The Mini Farming Guide to Fermenting**: Self-Sufficiency from Beer and Cheese to Wine and Vinegar. Nova York: Skyhorse Publishing, 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (Brasil). Instrução Normativa nº 6, de 3 de abril de 2012. **Diário Oficial da União**, [S. l.], n. 6, 4 abr. 2012.

MIRANDA L; GOMES R; MANDARINO J; IDA E; SPINOSA W. Acetic acid fermentation of soybean molasses and characterisation of the produced vinegar. **Food Technology and Biotechnology**, Croácia, v. 58, n. 1, p. 84-90, jan-mar. 2020.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Lost Crops of Africa: Volume III: Fruits**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2008. p.150–162.

OLIVEIRA JUNIOR, Edvaldo Rodrigues de. **Fermentação Acética de Vinho de Tamarindo (*Tamarindus indica* L.)**. 2019. 29 f. TCC - Curso de Técnico em Biotecnologia, Instituto Federal do Paraná, Londrina, 2019.

PICCININ, Larissa de Grande et al.. Triagem de bactérias ácido-acéticas para a produção de um vinagre de tamarindo: vinculado ao projeto fermentação alcoólica e acética de polpa de tamarindo (*tamarindus indica l.*). In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UTFPR, 2019, Londrina. **Anais...**

RIZZON L; MENEGUZZO J. Elaboração de Vinagre. **Embrapa**: Documentos, Bento Gonçalves, v. 36, set. 2002.

SOSSOU S; AMEYAPOH Y; KAROU S; SOUZA C. Study of pineapple peelings processing into vinegar by biotechnology. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Paquistão, v. 12, n. 11, p. 859-865. 2009.

T.H. CHAN SCHOOL OF PUBLIC HEALTH. Vinegar. **Harvard**. Disponível em: <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/food-features/vinegar/>. Acesso em: 28 jun. 2020.

TANAKA C; RUZON F; MIRANDA L; GALVAN D; SPINOSA W; CASTRO-GOMÉZ R. Modeling and kinetics of bioconversion and chemical properties (wine and vinegar) from banana pulp by-products. **Preprints**. 2016.

ZOCHE E; FIGUEREDO O. **Produção de Vinagre de Jabuticaba**. 2019. 46 f. TCC - Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2014.