



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS

Ana Letícia Andrade Ferreira

Fermentados de frutas com baixo teor alcoólico: estudo prospectivo e avaliação da influência do tratamento enzimático assistido por ultrassom no potencial bioativo de fermentado de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess)

Florianópolis
2023

Ana Letícia Andrade Ferreira

Fermentados de frutas com baixo teor alcoólico: estudo prospectivo e avaliação da influência do tratamento enzimático assistido por ultrassom no potencial bioativo de fermentado de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess)

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Ciências dos Alimentos.

Orientador(a): Profa. Dra. Carlise Beddin Fritzen-Freire

Florianópolis

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Ferreira, Ana Letícia Andrade

Fermentados de frutas com baixo teor alcoólico : estudo prospectivo e avaliação da influência do tratamento enzimático assistido por ultrassom no potencial bioativo do fermentado de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) / Ana Letícia Andrade Ferreira ; orientadora, Carlise Beddin Fritzen-Freire, 2023.

106 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Ciências dos Alimentos. 3. Fermentação alcoólica. 4. Frutas nativas. 5. Baixo teor alcoólico. I. Fritzen-Freire, Carlise Beddin . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

Ana Letícia Andrade Ferreira

Fermentados de frutas com baixo teor alcoólico: estudo prospectivo e avaliação da influência do tratamento enzimático assistido por ultrassom no potencial bioativo de fermentado de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess)

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 02 de março de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Ana Carolina Moura de Sena Aquino, Dr.(a)
Instituto Federal de Santa Catarina – Campus Urupema

Prof.(a) Renata Dias De Mello Castanho Amboni, Dr.(a)
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.(a) Maria Manuela Camino Feltes, Dr.(a)
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestra em Ciências dos Alimentos

Insira neste espaço a
assinatura digital

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos

Insira neste espaço a
assinatura digital

Prof.(a) Carlise Beddin Fritzen-Freire, Dr.(a)
Orientador(a)

Florianópolis, 2023

*Este trabalho é dedicado aos meus pais,
Cristiane e Marcos, pelo apoio incondicional.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de registrar aqui minha sincera gratidão a todos que fizeram parte desta jornada e me apoiaram ao longo desses dois anos:

À minha família, principalmente aos meus pais por não medirem esforços para me ajudar a chegar até aqui e serem meu maior alicerce e minha maior inspiração.

À minha orientadora Prof. Dr^a. Carlise Beddin Fritzen-Freire, obrigada pela confiança depositada em mim, por todos os ensinamentos transmitidos, pelo incentivo, paciência e dedicação até nos momentos mais difíceis!

Aos meus amigos da faculdade, Leandra, Mateus, Gabriel e William, meu primeiro grupo de pesquisa, obrigada por despertarem em mim a paixão pelo laboratório, e aos meus amigos de uma vida inteira Maria e Allan vocês são parte integral dessa conquista!

Aos meus colegas de Pós-Graduação e do Laboratório de Frutas e Hortaliças, Natália, Rodrigo, Josi, Monnik, Rômulo e Gerson, serei para sempre grata por nossa amizade, pelos momentos que compartilhamos e tudo que vivemos até aqui, foram vocês que me mantiveram firme em momentos de fraqueza! Agradeço principalmente à Bruna, que me acolheu e me ajudou desde o primeiro momento, que sorte a minha ter meu caminho cruzado com o seu, este trabalho não existiria sem você, obrigada!

À existência das universidades públicas no Brasil, e às políticas que as mantêm em pé, à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos (PPGCAL), pela oportunidade de realização do meu mestrado e da disponibilidade da infraestrutura necessária, agradeço igualmente à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) por apoiar esta pesquisa. E ao Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC) pela parceria neste projeto.

Ao Dr. Rodrigo Hoff, ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a Prof. Dr^a. Ana Carolina de Oliveira Costa, a Dr^a. Fabíula Biluca e a Dr^a Isabel Hass pela parceria na realização das análises.

À banca examinadora, Prof. Dr^a. Ana Carolina M. S. Aquino, Prof. Dr^a. Maria M. C. Feltes, Prof. Dr^a. Renata D. M. C. Amboni, desde já obrigada pela disponibilidade de aceitarem o convite e por suas contribuições.

Estendo meus agradecimentos a todos que de alguma forma cruzaram meu caminho e estiveram ao meu lado durante essa caminhada tornando-a mais leve e contribuindo para construção desse trabalho, muito obrigada!

RESUMO

O Brasil é um dos maiores produtores de frutas do mundo, com destaque para as frutas nativas, que possuem potencial para serem exploradas através das mais variadas tecnologias, como a fermentação alcoólica. Este tipo de processo pode ser empregado para a elaboração de bebidas com baixo teor alcoólico e ricas em antioxidantes naturais. Formas para otimizar o processo fermentativo também vêm sendo amplamente estudadas, como a adição de enzimas e o tratamento com ultrassom. A uvaia, fruta nativa do Sul do Brasil, tem sido objeto de muitas pesquisas por sua composição química rica em compostos bioativos, entretanto, sua produção ainda é limitada e seu consumo realizado majoritariamente *in natura*. Nesse sentido, se faz necessário o estudo de novas formas de consumo desta fruta, a fim de trazer inovação para o mercado, aumentar sua produção e agregar valor aos frutos nativos do Sul. Portanto, os objetivos deste trabalho foram realizar um estudo prospectivo científico e tecnológico em torno dos fermentados de frutas de baixo teor alcoólico, e avaliar a influência de tratamentos pré-fermentativos utilizando enzima e ultrassom nas propriedades bioativas do fermentado de uvaia de baixo teor alcoólico. Inicialmente foi realizada uma revisão bibliográfica que percorreu sobre os principais tópicos envolvendo a elaboração de fermentados de frutas de baixo teor alcoólico, enfatizando o potencial de exploração da uvaia. Em seguida, a prospecção científica e tecnológica realizada nas bases de dados do *Scopus* e *Espacenet*®, encontrou 354 artigos científicos e 411 documentos de patentes, dos quais 52 e 99 foram selecionados para análise, respectivamente. Os dados observados mostraram a crescente do mercado de fermentados de frutas de baixo teor alcoólico, sendo a China a principal detentora dessa tecnologia, e a uva e a maçã as principais frutas utilizadas como matéria-prima. Em uma terceira etapa foi avaliada a influência de quatro tratamentos pré-fermentativos utilizando enzima e ultrassom nas propriedades químicas do fermentado de uvaia, realizando o acompanhamento do processo fermentativo e a caracterização dos mostos e fermentados. Foram realizadas análises físico-químicas e de cor, determinação dos açúcares, ácidos orgânicos alifáticos. A composição fenólica total, individual e atividade antioxidante, também foi analisada, além dos efeitos da digestão gastrointestinal *in vitro* sobre esses parâmetros. Dentre os tratamentos realizados na pré-fermentação, o enzimático assistido por ultrassom se destacou apresentando o maior teor de ácido málico, o menor teor alcoólico (3,71%), o maior teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, além de apresentar forte associação com vários flavonoides e com ácidos como o sinápico, 3,4-dihidroxibenzóico, cafeico, *p*-cumárico, siríngico e benzóico. Na digestão *in vitro* esse mesmo tratamento apresentou, na fase intestinal, um aumento de 50% na atividade antioxidante (ABTS), essa mesma atividade apresentou forte correlação com o ácido *p*-cumárico durante a digestão, o qual por sua vez, foi o majoritário na fase intestinal (113,40 µg/L) dessa amostra. Diante disso, conclui-se que a utilização de tratamento enzimático combinado com ultrassom influenciou positivamente a composição química do fermentado de uvaia de baixo teor alcoólico, se tornando uma alternativa para exploração e valorização de frutas nativas da região Sul do Brasil.

Palavras-chave: Fermentação; Baixo teor alcoólico; Fruta nativa; Enzima; Ultrassom.

ABSTRACT

Brazil is one of the largest fruit producers in the world, with an emphasis on native fruits, which have the potential to be exploited through the most varied technologies, such as alcoholic fermentation. This kind of process can be applied to the preparation of beverages with low-alcohol content and rich in natural antioxidants. Ways to optimize the fermentation process have also been widely studied, such as the addition of enzymes and ultrasound treatment. The uvaia, a fruit native to southern Brazil, has been the subject of much research due to its chemical composition rich in bioactive compounds, however, its production is still limited and its consumption is mostly in natura. In this sense, it is necessary to study new forms of consumption of this fruit, to bring innovation to the market, increase its production and add value to the native fruits of the South. Therefore, the objectives of this work were to carry out a scientific and technological prospective study on fermented low-alcohol fruit products and to evaluate the influence of pre-fermentative treatments using enzymes and ultrasound on the bioactive properties of low-alcohol fermented grapefruit. Initially, a bibliographic review was carried out that discussed the main topics involving the elaboration of low-alcohol fruit fermented products, emphasizing the potential for exploitation of uvaia. Then, the scientific and technological prospection carried out in the Scopus database found 354 scientific articles and 411 patent documents, of which 52 and 99 were selected for analysis, respectively. The observed data showed the growing market for fermented low-alcohol fruit products, with China being the main holder of this technology, and grapes and apples being the main fruits used as raw materials. In a third step, the influence of four pre-fermentation treatments using enzyme and ultrasound on the chemical properties of the fermented grapefruit was evaluated, monitoring the fermentation process and characterizing the musts and fermented products. Physical-chemical and color analyses, determination of sugars, and aliphatic organic acids were carried out. Individual total phenolic composition and antioxidant activity were also analyzed, in addition to the effects of in vitro gastrointestinal digestion on these parameters. Among the treatments carried out in the pre-fermentation, the enzymatic one assisted by ultrasound stood out, presenting the highest content of malic acid, the lowest alcohol content (3.71%), the highest content of total phenolic compounds, and antioxidant activity, in addition to presenting a strong association with several flavonoids and with acids such as synaptic, 3,4-dihydroxybenzoic, caffeic, p-coumaric, syringic and benzoic. In in vitro digestion, this same treatment showed, in the intestinal phase, a 50% increase in antioxidant activity (ABTS), this same activity showed a strong correlation with p-coumaric acid during digestion, which in turn was the major in the intestinal phase (113.40 $\mu\text{g/L}$) of this sample. Given this, it is concluded that the use of enzymatic treatment combined with ultrasound positively influenced the chemical composition of fermented low-alcoholic uvaia, becoming an alternative for the exploration and valorization of fruits native to the southern region of Brazil.

Keywords: Fermentation; Low-alcohol content; Native fruit; Enzyme; Ultrasound.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Revisão Bibliográfica

Figura 1 - Principais etapas na elaboração de fermentados alcoólicos de frutas.....	19
Figura 2 - Conversão do piruvato em etanol na fermentação alcoólica.....	25
Figura 3 - Frutos de <i>Eugenia pyriformis</i> Cambess.....	29
Figura 4 - Estrutura molecular dos principais compostos fenólicos identificados na uvaia.....	31

CAPÍTULO 2

Fermentados de frutas com baixo teor alcoólico: panorama científico, tecnológico e perspectivas de mercado

Figura 1 - Artigos científicos publicados sobre fermentados de frutas <i>low-alcohol</i> por país.....	39
Figura 2 - Quantitativo de patentes depositadas por país.....	46
Figura 3 - Número de patentes por código IPC na base de dados do Espacenet®.....	47
Figura 4 - Evolução anual dos artigos científicos e documentos de patentes na área de fermentados de frutas de baixo teor alcoólico.....	53

CAPÍTULO 3

Influência de tratamento enzimático assistido por ultrassom nas propriedades fermentativas e no potencial bioativo do fermentado de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) com baixo teor alcoólico

Figura 1 - Produção de CO ₂ (A) e teor de sólidos solúveis totais (B) ao longo dos 5 dias de fermentação da uvaia.....	65
Figura 2 - Valores de pH dos mostos e fermentados de uvaia.....	67
Figura 3 - Compostos fenólicos totais dos mostos e fermentados de uvaia.....	74

Figura 4 - Atividade antioxidante dos mostos e fermentados de uvaia pelos métodos de ABTS (A) e FRAP (B).....	75
Figura 5 - Análise de componentes principais do perfil fenólico, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das amostras de mostos e fermentados de uvaia.....	78
Figura 6 - Compostos fenólicos totais nas amostras de fermentados de uvaia ao longo das fases da digestão <i>in vitro</i>	79
Figura 7 - Capacidade antioxidante através dos métodos FRAP (A) e ABTS (B) dos fermentados de uvaia ao longo da digestão.....	81
Figura 8 – Compostos fenólicos individuais nas amostras de mostos, dos fermentados de uvaia e ao longo das fases da digestão <i>in vitro</i>	83
Figura 9 - Coeficientes de correlação de Pearson entre os compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e fenólicos individuais presentes na fase intestinal.....	85

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO 1

Revisão Bibliográfica

Quadro 1 - Parâmetros pré-fermentativos, fermentativos e pós-fermentativos utilizados em trabalhos científicos para elaboração de diferentes fermentados alcoólicos de frutas.....20

CAPÍTULO 2

Fermentados de frutas com baixo teor alcoólico: panorama científico, tecnológico e perspectivas de mercado

Quadro 1 - Artigos científicos publicados recentemente (2020 a 2022) sobre fermentados de frutas *low-alcohol* na área de Agricultura e Ciências Biológicas.....41

Quadro 2 - Documentos de patentes depositados no *Espacenet*® entre os anos 2020 e 2022 sobre fermentados de frutas *low-alcohol*.....50

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Revisão Bibliográfica

Tabela 1 - Padrões legais de identidade e qualidade para os fermentados de fruta de acordo com a legislação brasileira	26
--	----

CAPÍTULO 2

Fermentados de frutas com baixo teor alcoólico: panorama científico, tecnológico e perspectivas de mercado

Tabela 1 - Resultados da pesquisa realizada nas bases de dados Espacenet®.....	39
Tabela 2 - Definição dos demais códigos presentes nos documentos de patentes.....	52
Tabela 3 - Teor alcoólico das bebidas presentes nos documentos avaliados.....	54

CAPÍTULO 3

Influência de tratamento enzimático assistido por ultrassom nas propriedades fermentativas e no potencial bioativo do fermentado de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) com baixo teor alcoólico

Tabela 1 - Teor de açúcares individuais nos mostos e fermentados de uvaia (mg/mL).....	68
Tabela 2 - Ácidos orgânicos alifáticos identificados no mosto e no fermentado de uvaia (mg/100mL).....	70
Tabela 3 – Parâmetros de cor correspondentes aos diferentes tratamentos do mosto e do fermentado de uvaia.....	71

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
1.1	OBJETIVOS.....	16
1.1.1	Objetivo geral.....	16
1.1.2	Objetivos específicos.....	16
	CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
1.1	FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE FRUTAS.....	18
1.1.1	Etapas de elaboração de fermentados alcoólicos de frutas.....	19
1.1.1.1	<i>Etapa de pré-fermentação.....</i>	<i>21</i>
1.1.1.2	<i>Tratamentos enzimáticos e ultrassom.....</i>	<i>22</i>
1.1.1.3	<i>Etapa de fermentação.....</i>	<i>24</i>
1.1.1.4	<i>Etapa de pós-fermentação.....</i>	<i>25</i>
1.1.2	Fermentados de frutas com baixo de teor alcoólico.....	27
1.2	UVAIA.....	28
1.2.1	Compostos bioativos da uvaia.....	30
1.3	BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS.....	32

**CAPÍTULO 2 – FERMENTADOS DE FRUTAS COM BAIXO TEOR ALCOÓLICO:
PANORAMA CIENTÍFICO, TECNOLÓGICO E PERSPECTIVAS DE MERCADO. 34**

1	INTRODUÇÃO.....	36
2	METODOLOGIA.....	37
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
3.1	PROSPECÇÃO CIENTÍFICA.....	38
3.1.1	Países de origem das publicações.....	38
3.1.2	Área de conhecimento das publicações.....	39
3.2	PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA.....	45
3.2.1	Mapeamento de patentes depositadas por país/organização.....	45
3.2.2	Códigos de classificação internacional de patentes e status de depósito.....	46
3.2.3	Inventores e depositantes.....	48
3.2.4	Perfil de patentes.....	49
4	EVOLUÇÃO ANUAL DOS ARTIGOS E PATENTES.....	52
5	PERSPECTIVAS PARA O MERCADO DE BEBIDAS <i>LOW-ALCOHOL</i>.....	54
6	CONCLUSÃO.....	55

**CAPÍTULO 3 – INFLUÊNCIA DE TRATAMENTO ENZIMÁTICO ASSISTIDO POR
ULTRASSOM NAS PROPRIEDADES FERMENTATIVAS E NO POTENCIAL
BIOATIVO DO FERMENTADO DE UVAIA (*EUGENIA PYRIFORMIS* CAMBESS)
COM BAIXO TEOR ALCOÓLICO..... 56**

1	INTRODUÇÃO.....	58
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	60
2.1	PROCESSAMENTO DA POLPA DE UVAIA.....	60
2.2	ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS FERMENTADOS DE UVAIA COM BAIXO TEOR ALCOÓLICO.....	60
2.2.1	Preparação dos mostos e condução do processo fermentativo.....	60
2.2.2	Determinação do pH, açúcares e ácidos orgânicos.....	61
2.2.3	Análise de cor.....	62
2.2.4	Quantificação do etanol e demais metabólitos da fermentação.....	62
2.2.5	Determinação dos compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante <i>in vitro</i>	62
2.2.6	Avaliação dos compostos fenólicos individuais.....	63

2.2.7	Simulação gastrointestinal <i>in vitro</i> e bioacessibilidade dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante.....	63
2.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	64
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
3.1	ACOMPANHAMENTO DO PROCESSO FERMENTATIVO.....	64
3.2	ANÁLISES DE PH, AÇÚCARES E ÁCIDOS ORGÂNICOS.....	66
3.3	ANÁLISE DE COR.....	71
3.4	DETERMINAÇÃO DO TEOR ALCOÓLICO E METABÓLITOS DA FERMENTAÇÃO.....	72
3.5	COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	73
3.6	COMPOSIÇÃO FENÓLICA INDIVIDUAL.....	76
3.7	BIOACESSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DOS FENÓLICOS INDIVIDUAIS DOS FERMENTADOS DE UVAIA.....	79
4	CONCLUSÃO.....	85
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86
	REFERÊNCIAS.....	88

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui características geográficas e climáticas favoráveis para a produção de frutas, ainda assim existem inúmeras espécies frutíferas nativas e exóticas com potencial econômico e nutricional que permanecem inexploradas. O consumo dessas frutas é considerado parte importante de uma dieta saudável por serem fontes de compostos bioativos como fenólicos, carotenoides, vitaminas e minerais, além de possuírem uma elevada atividade antioxidante, exercendo um papel essencial na prevenção de doenças como câncer e disfunções cardiovasculares. Essas características podem estimular as indústrias alimentícias a utilizar essas frutas não convencionais no desenvolvimento de novos produtos como sucos e bebidas, por exemplo. (SCHIASSI *et al.*, 2018).

A tecnologia de fermentação alcoólica é uma excelente alternativa de exploração dessas frutas, uma vez que qualquer outra fruta além da uva pode ser submetida ao processo de fermentação, gerando produtos com características físico-químicas, sensoriais e nutricionais aprimoradas, além de ampliar as possibilidades de inovação (SWAMI; THAKOR; DIVATE, 2014). Apesar das bebidas alcoólicas serem mundialmente comercializadas, seus consumidores, e a sociedade como um todo, tem estado cada vez mais alertas aos malefícios à saúde que estão ligados ao consumo excessivo de álcool, por isso tem se observado uma tendência na busca por bebidas sem álcool ou com teores alcoólicos reduzidos (BUCHER; DERROVER; STOCKLEY, 2018).

Esses fermentados alcoólicos de frutas com baixo teor alcoólico, em especial aqueles que utilizam frutas não convencionais, também vêm ganhando espaço na comunidade científica, como a jujuba (*Ziziphus jujuba* Mill.) originária da Ásia (YUAN *et al.*, 2022), ou a pitaya (*Hylocereus costaricensis*) que tem origem no México Central e América do Sul (JIANG; LU; LIU, 2020a). Frutas nativas brasileiras com origem nos biomas da Amazônia também já vêm sendo exploradas para produção de bebidas alcoólicas como por exemplo o araçá-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh.) (SOUZA *et al.*, 2022). Apesar disso, são escassos estudos que compilem dados científicos e tecnológicos acerca desse tipo de produto.

Nesse sentido, a uvaia (*Eugenia piryformis* Cambess) uma fruta originária da Mata Atlântica e nativa da região Sul do Brasil apresenta uma composição rica em vitaminas, minerais, ácidos fenólicos, flavonoides e carotenoides, além de possuir um baixo teor de sólidos solúveis totais, o que a torna uma ótima alternativa para a produção de um fermentado de baixo teor alcoólico, promovendo a valorização da diversidade local, a geração de renda

para pequenos produtores e a inserção de um produto inovador no mercado (SILVA *et al.*, 2022).

Além disso, cada vez mais tem se buscado tecnologias a fim de otimizar o processo fermentativo e a qualidade do produto, a aplicação de enzimas na etapa pré-fermentativa já é uma alternativa utilizada há muito tempo, afinal são inúmeras as enzimas disponíveis no mercado que podem ser utilizadas com diferentes objetivos que envolvem desde a clarificação e maior rendimento do processo, até a liberação de compostos de interesse no meio fermentativo (CLAUS; MOJSOV, 2018). Já a aplicação de ultrassom é uma tecnologia promissora que tem ganhado atenção pois pode aumentar a eficácia da fermentação estimulando o crescimento dos microrganismos e inclusive promover a atividade enzimática (YU *et al.*, 2021). Com isso, supõe-se que a combinação dessas duas tecnologias provoque respostas positivas no processo fermentativo, através da sua ação sobre os tecidos vegetais (MA; CAI; LIU, 2020).

Entretanto, até o presente momento, são inexistentes trabalhos que tenham utilizado a uvaia como matéria-prima na fermentação alcoólica, empregando diferentes tratamentos pré-fermentativos. Portanto, a fim de atender os diferentes aspectos supracitados, este trabalho foi estruturado em capítulos, elaborados no formato de artigos científicos, sendo o primeiro referente a uma revisão bibliográfica, o segundo a um estudo prospectivo científico e tecnológico, e o terceiro correspondente aos resultados experimentais relacionados à fermentação da uvaia.

No Capítulo 1, na revisão bibliográfica, foram contemplados tópicos essenciais para o desenvolvimento do trabalho: fermentados alcoólicos de frutas, as etapas e tratamentos envolvidos na elaboração dessas bebidas, incluindo tratamentos enzimáticos e com ultrassom; bebidas com baixo teor alcoólico; a uvaia e seus compostos bioativos; e a bioacessibilidade de compostos bioativos através da digestão *in vitro*.

No Capítulo 2, a prospecção científica e tecnológica traz os principais dados de artigos científicos e documentos de patentes publicados na área de bebidas alcólicas de frutas com baixo teor alcoólico, incluindo um panorama global e temporal.

No Capítulo 3 está apresentado o estudo de desenvolvimento de um fermentado alcoólico de uvaia de baixo teor alcoólico, explorando diferentes tratamentos pré-fermentativos com enzima e ultrassom. Foram realizadas análises antes e após o processo fermentativo, incluindo a caracterização físico-química, a determinação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, além da composição fenólica e seu comportamento ao longo da simulação gastrointestinal *in vitro*.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo geral elaborar uma revisão bibliográfica, uma prospecção científica e tecnológica sobre fermentados de frutas com baixo teor alcoólico, além de avaliar a influência do tratamento enzimático assistido por ultrassom no potencial bioativo de fermentado de uvaia.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Elaborar uma revisão a respeito de fermentados de frutas com baixo teor alcoólico, com ênfase no potencial de utilização da uvaia;
- b) Elaborar uma prospecção científica e tecnológica sobre fermentados de fruta com baixo teor alcoólico;
- c) Elaborar fermentados de uvaia com baixo teor alcoólico submetidos a diferentes tratamentos pré-fermentativos utilizando a enzima pectinase e ultrassom: controle (sem tratamento enzimático e sem ultrassom), com tratamento enzimático e sem ultrassom, sem tratamento enzimático e com ultrassom, com tratamento enzimático e com ultrassom;
- d) Monitorar o processo de fermentação alcoólica através do acompanhamento de medidas de liberação de CO₂ e sólidos solúveis totais;
- e) Caracterizar os mostos (antes da fermentação) e os fermentados de uvaia (após a fermentação) através de análises físico-químicas, cor, açúcares individuais, ácidos orgânicos alifáticos, teor de etanol, composição fenólica total e individual e capacidade antioxidante;
- f) Avaliar a bioacessibilidade dos compostos fenólicos totais, individuais e da capacidade antioxidante nos fermentados alcoólicos de uvaia através da digestão *in vitro*.

CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE FRUTAS

O Brasil possui um grande potencial para elaboração de fermentados alcoólicos de frutas, pois apresenta uma elevada diversidade de espécies frutíferas, ocupando o terceiro lugar no ranking mundial de produção, com cerca de 44 milhões de toneladas produzidas em 2020, de acordo com dados do Anuário Brasileiro de Horti & Fruti - 2021 (KIST *et al.*, 2021). Esta mesma publicação enfatiza que mesmo com a pandemia de Covid-19, o Brasil conseguiu manter a produção de frutas em 2020, com mais de um milhão de toneladas exportadas. Na elaboração de um fermentado alcoólico é possível utilizar diversas frutas, resultando em uma grande variedade de produtos com diferentes características químicas e sensoriais, cada qual com suas especificidades devido à natureza da fruta e das transformações químicas que ocorrem durante o processo fermentativo (BOEIRA *et al.*, 2020).

Convencionalmente a uva e a maçã são as frutas mais utilizadas para a produção de fermentados alcoólicos, sendo as matérias-primas do vinho e da sidra, respectivamente. De acordo com a lei Nº 7.678, de 8 de novembro de 1988 (BRASIL, 1988), a denominação vinho é exclusiva para a bebida obtida pela fermentação alcoólica da uva sã, fresca e madura. Dessa forma, bebidas alcoólicas fermentadas a partir de outras frutas não devem ser denominadas como vinhos, sendo regidas pelo decreto Nº 6.871, de 4 de junho de 2009 (BRASIL, 2009). Esta legislação define fermentado de fruta como a bebida com graduação alcoólica entre 4% e 14% (v/v), obtido através da fermentação alcoólica de mosto de fruta sã, fresca e madura, adicionado ou não de açúcar e água potável, além de aditivos definidos para cada tipo de fruta. Assim, a bebida obtida por fermentação alcoólica de frutas deve ser denominada “*Fermentado de*” seguido do nome da fruta utilizada para a sua obtenção (BRASIL, 2009).

Em 2012 houve uma complementação dos padrões de identidade e qualidade das bebidas alcoólicas fermentadas, a partir da Instrução Normativa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) Nº 34, de 29 de novembro de 2012 (BRASIL, 2012). De acordo com esta legislação, a bebida fermentada deve ser obtida a partir do suco de uma única fruta, não podendo haver misturas de espécies e não devem ser adicionados ingredientes que alterem as características sensoriais naturais da bebida, salvo casos previstos na legislação.

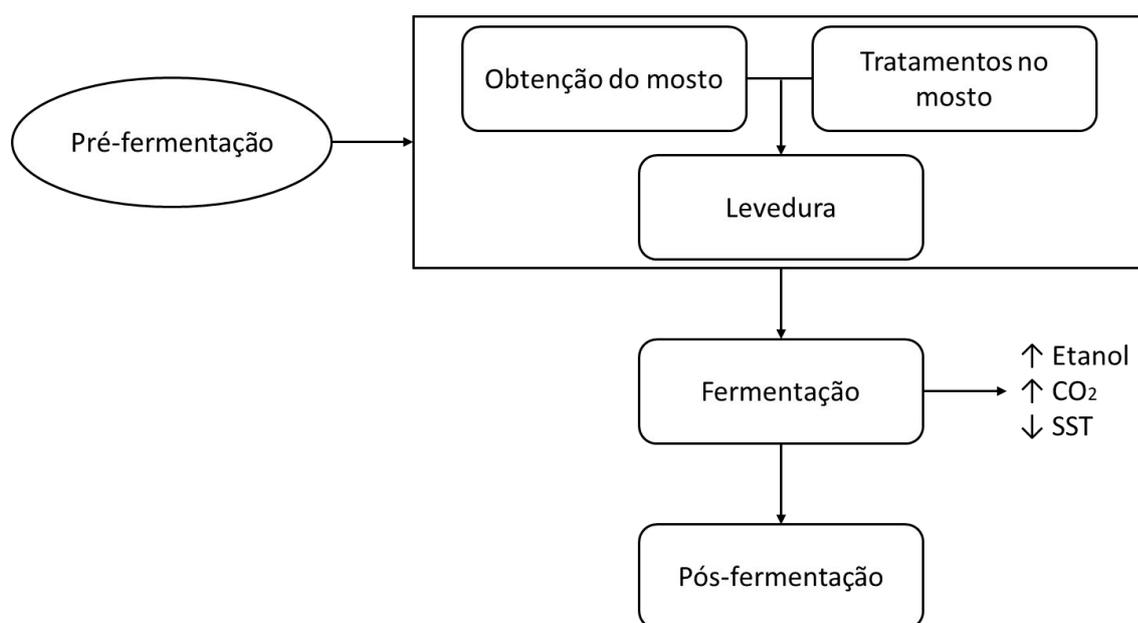
Além disso, a bebida deve se enquadrar nos parâmetros de identidade e qualidade estabelecidos nesta mesma instrução normativa.

Dentre os principais ingredientes utilizados para a elaboração de um fermentado de frutas destacam-se a polpa ou suco da fruta a ser fermentada e a levedura. No entanto, outros ingredientes e aditivos têm sido empregados, incluindo enzimas, açúcares, ajustadores de pH, nutrientes para a levedura e agentes conservantes (SANTOS *et al.*, 2021a).

1.1.1 Etapas de elaboração de fermentados alcoólicos de frutas

Na elaboração de bebidas alcoólicas de frutas o processo é geralmente dividido em três etapas principais: pré-fermentação, fermentação e pós-fermentação, como apresentado na Figura 1.

Figura 1 - Principais etapas na elaboração de fermentados alcoólicos de frutas.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

No entanto, modificações nessas etapas podem ocorrer, dependendo da infraestrutura disponível, das peculiaridades de cada matéria-prima e das características desejadas para o produto. Nesse sentido, pesquisas têm avaliado diferentes parâmetros durante a elaboração de fermentados alcoólicos de frutas, conforme apresentado no Quadro 1, que serão discutidos nas subseções 1.1.1.1, 1.1.1.3 e 1.1.1.4.

Quadro 1 - Parâmetros pré-fermentativos, fermentativos e pós-fermentativos utilizados em trabalhos científicos para elaboração de diferentes fermentados alcoólicos de frutas.

Frutas	Leveduras	Tratamentos pré-fermentação	pH	SST* (°Brix)	Temp * (°C)	Tempo (dias)	Tratamentos pós-fermentação	Ref.*
Maracujá-do-mato	<i>S.cerevisiae</i> var. bayanus Maurivin PDM	Metabissulfito de potássio Enzimas pectinolíticas Bentonita Chaptalização	-	-	24	4-6	Duas trasfegas Metabissulfito de potássio Bentonita Sílica Gelatina Sorbato de potássio	Santos <i>et al.</i> (2021a)
Uva	<i>S. cerevisiae</i>	Ácido tartárico Ultrassom	3,6	26,3	23-27	2-7	Maturação Trasfega	Lapiente <i>et al.</i> (2021)
Araçá-boi	<i>S. cerevisiae</i>	Diluição (1:1)	2,8	21	18	21	Trasfega Filtração	Souza <i>et al.</i> (2020)
Pitaya vermelha	<i>S. bayanus Metschnikowia agaves</i>	Chaptalização Ácido cítrico Metabissulfito de sódio	3,8	22	17-29	10-14	-	Lin <i>et al.</i> (2020)
Framboesa	<i>S. cerevisiae Torulaspora delbrueckii</i>	Pectinase Chaptalização	2,9	-	24-26	6-9	Trasfega Sulfitagem	Li <i>et al.</i> (2020a)
Cassis/ Groselha-preta	<i>S. cerevisiae e bayanus Torulaspora delbrueckii Metschnikowia pulcherrima e fructicola</i>	Pasteurização	3,0	-	21	6-11	Sulfato de potássio Sorbato de potássio Centrifugação	Kelanne <i>et al.</i> (2020)
Pitaya vermelha	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	Ácido málico Chaptalização Pasteurização Pectinase	4,0	20	20	14	Centrifugação	Jiang, Lu e Liu (2020b)
Goiaba serrana	<i>S. cerevisiae</i>	Metabissulfito de potássio Lafazym (enzima pectinolítica) Chaptalização	3,3	18	16	15	Clarificação com gelatina e sílica Metabissulfito de potássio Filtração	Sartori <i>et al.</i> (2020)
Jujuba	<i>Torulaspora</i>	Ácido cítrico Pectinase e	4,2	17	20	9	-	Guo <i>et al.</i> (2018)

	<i>delbrueckii</i>	celulase Protease ácida Chaptalização Bicarbonato de sódio						
Milho e banana	<i>S. cerevisiae</i>	Pectinase	5,0 - 5,1	6,6-7,8	25	3	Filtração Pasteurização	Pauline <i>et al.</i> (2017)
Uva	<i>S. cerevisiae</i>	Metabissulfato de potássio Ultrassom	-	-	25	7	Maturação	Gambacorta <i>et al.</i> (2017)
Carambola	<i>S. cerevisiae</i>	Filtração e pasteurização da polpa Chaptalização Carbonato de cálcio	4,0 - 5,0	19-25	25	9	-	Valim <i>et al.</i> (2016)
Jamelão e cana de açúcar	<i>S. cerevisiae</i>	Chaptalização Metabissulfato de potássio	5,1	20	28	7	Centrifugação Sulfitagem	Oliveira <i>et al.</i> (2016)
Suco pasteuriza do de laranja	<i>Pichia kluyveri</i> var. <i>kluyveri</i>	-	3,5	11	20	15	-	Cerrillo <i>et al.</i> (2014)

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

*SST: sólidos solúveis totais antes da fermentação; *Temp.: temperatura de fermentação; *Ref: Referência.

1.1.1.1 Etapa de pré-fermentação

Na etapa de pré-fermentação ocorre a obtenção e o tratamento do mosto (SARANRAJ; SIVASAKTHIVELAN; NAVEEN, 2017). Primeiramente é realizada a extração da polpa ou do suco da fruta, com o auxílio de uma despulpadeira ou de uma prensa (MAS *et al.*, 2015). Na sequência alguns tratamentos são frequentemente realizados no mosto a fim de melhorar sua qualidade e otimizar o processo de fermentação, incluindo o ajuste de pH, a sulfitagem e a chaptalização.

O ajuste de pH é recomendável, pois este parâmetro pode afetar o crescimento da levedura e a eficiência da fermentação, além de interferir no rendimento de etanol e nas características finais da bebida, em especial a acidez. As fermentações alcoólicas podem se desenvolver em uma ampla faixa de pH, no entanto, valores entre 3,0 e 5,0 são considerados ideais para o crescimento da levedura, com o ajuste sendo realizado através da adição de ácidos, como o ácido cítrico ou málico, ou pela adição de carbonato de cálcio (LIMA *et al.*, 2001), dependendo do pH inicial da fruta. Em um estudo realizado por Lin *et al.* (2012)

verificou-se que em mostos com pH abaixo de 4,0 houve um maior rendimento na produção de etanol. Já em valores de pH acima de 5,0 a concentração final de etanol diminuiu significativamente.

A sulfitagem tem sido utilizada nos mostos visando promover uma ação antioxidante e bactericida, prevenindo o crescimento de microrganismos indesejados na fermentação (DIVOL; DU TOIT; DUCKITT, 2012). Este tratamento consiste na adição de sulfitos, como o dióxido de enxofre e seus sais, como por exemplo o metabissulfito de potássio ou sódio, em concentrações próximas de 0,05 a 0,1 g/L (LIN *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2021a). Estas medidas de conservação vêm sendo amplamente recomendadas, a fim de preservar os compostos químicos do mosto e suas características sensoriais. Alguns trabalhos também aplicam a pasteurização nos mostos (KELANNE *et al.*, 2020; VALIM *et al.*, 2016), para uma fermentação mais controlada, porém, existe a possibilidade de degradação de alguns componentes bioativos termolábeis oriundos da fruta.

A chaptalização consiste na adição de sacarose ao mosto, que poderá ser substituída total ou parcialmente por açúcar invertido, glicose, frutose, maltose ou seus xaropes (BRASIL, 2012). Este tratamento é empregado quando o teor de sólidos solúveis totais (SST) do mosto é baixo e se deseja aumentar o teor alcoólico da bebida, sendo que o teor de SST presente na fruta depende da sua espécie, variedade e do seu estágio de maturação (LUZÓN-QUINTANA; CASTRO; DURÁN-GUERRERO, 2021).

Além disso, alguns tratamentos pré-fermentativos estão ganhando destaque recentemente, como a utilização de enzimas pectinolíticas e ultrassom, visando principalmente a obtenção de bebidas com maior potencial bioativo, devido a liberação de compostos funcionais no mosto a ser fermentado.

1.1.1.2 Tratamentos enzimáticos e ultrassom

Tratamentos enzimáticos em mostos de frutas são tradicionalmente utilizados com o objetivo de melhorar o rendimento da extração e facilitar a sua clarificação, através da quebra das paredes celulares do fruto, diminuindo o teor de fibras e a viscosidade do mosto (RAMADAN; MOERSEL, 2007). Além disso, pesquisas recentes têm revelado que alguns tratamentos enzimáticos podem liberar compostos do interior das células vegetais, que causam alterações importantes na composição química do mosto, aumentando a sua atividade antioxidante, o teor de açúcares redutores e aminoácidos, além de outras substâncias como

compostos voláteis que melhoram os atributos sensoriais do produto (GUO *et al.*, 2018; JIANG; LU; LIU, 2020b; MA *et al.*, 2018; RAMADAN; MOERSEL, 2007).

As enzimas pectinolíticas são as mais utilizadas para o tratamento pré-fermentativo do mosto, conforme mostrado no Quadro 1. Jiang, Lu e Liu (2020b) investigaram os efeitos da adição de pectinase na pré-fermentação de mosto de pitaya e concluíram que o tratamento enzimático resultou em um maior teor de compostos fenólicos na bebida fermentada, quando comparada à amostra controle (sem tratamento enzimático). Estes autores também relataram que as bebidas tratadas com pectinase produziram mais ésteres e terpenos, que concederam ao fermentado um perfil aromático mais intenso, além de aumentar 16% o rendimento da bebida.

Já Guo *et al.* (2018) realizaram uma hidrólise enzimática no mosto de jujuba com a combinação das enzimas pectinase e celulase, resultando em um melhor crescimento da levedura, além do aumento da produção de ácidos orgânicos e da intensidade e complexidade dos aromas do fermentado. Por outro lado, Santos *et al.* (2021a) observaram um aumento no teor de compostos fenólicos totais em fermentado alcoólico de maracujá da Caatinga após a fermentação. Estes autores atribuíram este comportamento a uma possível influência da ação das enzimas pectinolíticas na etapa pré-fermentativa, bem como pela ação das leveduras comerciais durante o processo fermentativo.

Segundo Marathe *et al.* (2019), enzimas como a pectinase podem ser usadas para auxiliar na extração de compostos bioativos de vegetais, já que a pectina faz parte da composição das paredes celulares e das camadas intercelulares das plantas a sua degradação permite que diferentes compostos bioativos sejam liberados. Vale ressaltar que a eficiência da extração enzimática pode ser aprimorada com o auxílio de ultrassom, devido à propagação de ondas de pressão de ultrassom e ao fenômeno de cavitação resultante, promovendo uma melhor penetração do solvente no tecido vegetal, aumentando a área de contato entre a fase sólida e a fase líquida (GHAFOOR *et al.*, 2009).

A frequência utilizada no tratamento com ultrassom, pode aumentar ou reduzir a atividade das enzimas na etapa pré-fermentativa, induzir um maior crescimento dos microrganismos durante a fermentação, além de otimizar o processo de maturação dos fermentados, diminuindo o tempo necessário para essa etapa, promovendo uma melhora nas características de cor, sabor e aroma das bebidas (YU *et al.*, 2021).

Assim, a aplicação de ultrassom para a elaboração de fermentados de frutas é considerada uma tecnologia promissora e emergente. Alguns trabalhos vêm investigando as vantagens do seu uso em produtos fermentados, como os estudos conduzidos por Lapuente *et al.* (2021) e Pérez-Porras *et al.* (2021) que testaram o ultrassom como um pré-tratamento

durante a maceração de uvas a fim de obter um mosto com maior qualidade e de forma mais rápida. Por outro lado, Daccache *et al.* (2020a) aplicaram o ultrassom durante a fermentação de maçãs e observaram um maior crescimento das leveduras, com um consequente consumo mais rápido de glicose e produção de etanol.

Já Li *et al.* (2020b) realizaram o tratamento com ultrassom em fermentados alcoólicos de mirtilo após a fermentação, e observaram uma melhora nos parâmetros de cor e na composição de antocianinas durante a maturação da bebida, sem que houvesse uma redução da atividade antioxidante. Gambacorta *et al.* (2017) avaliaram o impacto do tratamento com ultrassom, tanto antes como após a fermentação, em três diferentes cultivares de uvas italianas e observaram uma maior extração dos compostos fenólicos em duas cultivares, o que promoveu um aumento da atividade antioxidante.

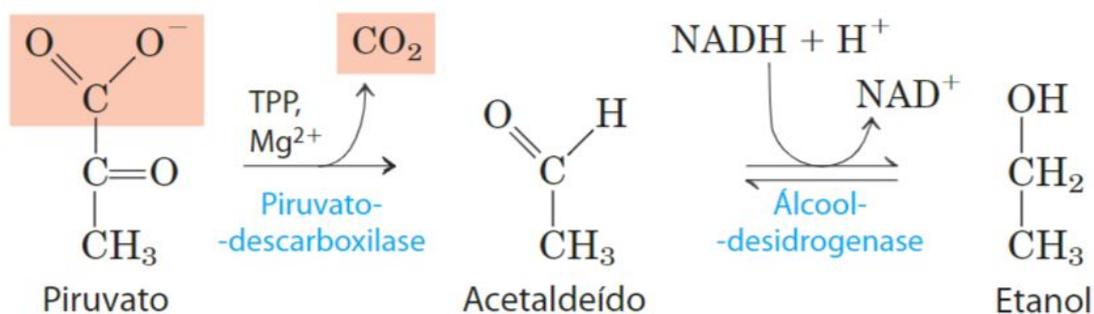
Entretanto, são escassos os trabalhos que utilizam o tratamento enzimático combinado com o ultrassom na etapa pré-fermentativa de fermentados de frutas, sendo uma abordagem inovadora e com resultados promissores (LAPUENTE *et al.*, 2021; PÉREZ-PORRAS *et al.*, 2021; DACCACHE *et al.*, 2020a; LI *et al.*, 2020b; GAMBACORTA *et al.*, 2017).

1.1.1.3 Etapa de fermentação

A etapa de fermentação é iniciada após a adição das leveduras ao mosto de fruta, em especial as do gênero *Saccharomyces*, sendo que as espécies mais conhecidas pelas suas atuações em fermentações de bebidas alcoólicas são a *S. cerevisiae* e a *S. bayanus* (PARAPOULI *et al.*, 2020). No entanto, nos últimos anos tem-se buscado selecionar diferentes cepas de leveduras, além da utilização de leveduras não *Saccharomyces*, como os gêneros *Torulaspota* e *Metschnikowia*, em misturas ou culturas puras (JIANG; LU; LIU, 2020a; KELANNE *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2020a), visando um maior controle do processo fermentativo e a otimização das características do produto.

Em termos gerais, durante o processo fermentativo os açúcares presentes no mosto são convertidos em etanol, essa conversão se inicia com o transporte dos açúcares para dentro da célula microbiana onde serão fosforilados e convertidos a piruvato na via glicolítica. Na sequência as moléculas de piruvato são descarboxiladas pela enzima piruvato descarboxilase, formando acetaldeído e CO₂. O acetaldeído é então reduzido a etanol pela enzima álcool desidrogenase (Figura 2) (HUTKINS, 2006; NELSON; COX, 2014).

Figura 2 - Conversão do piruvato em etanol na fermentação alcoólica.



Fonte: Adaptada de Nelson e Cox (2014).

Inicialmente as leveduras no mosto passam por uma fase rápida de adaptação, chamada de fase *lag*, seguida pela fase de crescimento exponencial (*log*), e na sequência tem-se a fase estacionária, onde grande parte dos açúcares fermentescíveis (entre 50 e 80%) são consumidos, com diminuição contínua da atividade das leveduras, até que os nutrientes do meio se esgotem (MARSIT; DEQUIN, 2015).

No entanto, a temperatura utilizada na fermentação exerce grande influência no tempo do processo, bem como na produção de etanol e de compostos secundários. As leveduras possuem uma faixa de temperatura ampla de produção de etanol e formação de biomassa, com trabalhos da literatura relatando uma faixa ideal de 16 °C a 29 °C (LIN *et al.*, 2020; SARTORI *et al.*, 2020), conforme já demonstrado no Quadro 1. O fim da fermentação é atingido geralmente quando o teor SST/densidade permanece constante, indicando a necessidade de filtração da bebida.

1.1.1.4 Etapa de pós-fermentação

Após a fermentação as bebidas devem ser submetidas a alguns tratamentos visando aumentar a estabilidade do produto e melhorar as características sensoriais, incluindo processos de filtração e clarificação, realizados antes do seu envase (HUTKINS, 2006). Para isso são realizadas trasfegas, que tem como objetivo retirar as partículas em suspensão que sedimentaram no fundo do fermentador (SOUZA *et al.*, 2020). Contudo, é recomendável, clarificar as bebidas a partir de uma centrifugação e/ou por adição de agentes clarificantes, como gelatina, sílica e bentonita (OLIVEIRA *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2021a; SARTORI *et al.*, 2020). A maneira como serão realizados estes tratamentos dependem dos equipamentos

disponíveis, das características da fruta utilizada como matéria-prima (que pode resultar na formação de maior ou menor quantidade de sedimento), do tipo de agente clarificante e das características finais desejadas para o produto (VENTURINI FILHO, 2016). Em alguns casos, principalmente quando a fermentação é interrompida para se obter bebidas com característica suave (>3 g/L de açúcar), é recomendada uma nova dosagem de sulfitos (LI *et al.*, 2020a). No entanto, as bebidas obtidas devem seguir os padrões de identidade e qualidade recomendados para fermentados de frutas pela Instrução Normativa N° 34, de 29 novembro de 2012 (BRASIL, 2012), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Padrões legais de identidade e qualidade para os fermentados de fruta de acordo com a legislação brasileira.

Parâmetro	Limite mínimo	Limite máximo
Acidez fixa, em meq/L	30	-
Acidez total, em meq/L	50	130
Acidez volátil, em meq/L	-	20
Anidrido sulfuroso total, em g/L	-	0,35
Cloretos totais, em g/L	-	0,5
Extrato seco reduzido, em g/L	12	-
Graduação alcoólica, em % v/v a 20 °C	4	14
Pressão (atm) - gaseificado	2	3
Teor de açúcar, em g/L	> 3 (suave)	≤ 3 (seco)

Fonte: Adaptada de Brasil (2012).

Vale destacar, que a produção de fermentados de frutas vem apresentando um importante crescimento no mercado global de bebidas (SARANRAJ; SIVASAKTHIVELAN; NAVEEN, 2017). Neste sentido, a utilização de frutas nativas brasileiras encontradas em diferentes biomas vem despertando o interesse dos pesquisadores (CARVALHO; CONTE-JUNIOR, 2021). Alguns exemplos de aproveitamento de frutas nativas para o desenvolvimento deste tipo de produto incluem trabalhos sobre fermentados de cupuaçu, umbu, guabiroba, jaboticaba e cacau (DUARTE *et al.*, 2010), maracujá do mato, (SANTOS *et al.*, 2021a), araçá (SOUZA *et al.*, 2020), feijoa (SARTORI *et al.*, 2020) e açaí (BOEIRA *et al.*, 2020). Além disso, as frutas nativas brasileiras apresentam grande potencial de aplicação em um importante e recente nicho de mercado, o das bebidas com baixo teor alcoólico, que tem foco nas suas propriedades bioativas e nos benefícios à saúde dos consumidores

(CERRILLO *et al.*, 2019; YANG *et al.*, 2021). No entanto, ainda são incipientes as pesquisas que abordam a utilização de espécies nativas para a elaboração deste tipo de bebida.

1.1.2 Fermentados de frutas com baixo teor alcoólico

Os fermentados de frutas com baixo teor alcoólico têm se popularizado cada vez mais no âmbito científico e tecnológico, sendo que uma ampla abordagem sobre os trabalhos científicos, patentes depositadas e perspectivas de mercado serão apresentados no estudo prospectivo no Capítulo 2 desta dissertação. Vale salientar que ainda é inexistente no Brasil uma lei que regulamente e determine limites máximos e mínimos de etanol para os fermentados de frutas nomeados como “de baixo teor alcoólico” ou conhecidos popularmente como “*low-alcohol*”.

Do ponto de vista industrial existem algumas estratégias que são mais empregadas para a elaboração de bebidas com baixo teor alcoólico. Dentre elas, métodos de separação física, como por exemplo a osmose reversa, podem promover a desalcoholização da bebida e/ou reduzir o teor de etanol de fermentados após a sua produção (LIGUORI *et al.*, 2018). No entanto, os processos físicos de redução do álcool podem causar a perda de componentes químicos benéficos, o que pode ser evitado com uma abordagem biológica, conservando a composição nutricional e bioativa da bebida (LI *et al.*, 2023).

Pesquisas atuais têm investigado principalmente o uso de diferentes leveduras fermentativas, em busca de menor eficiência na conversão do etanol (LI *et al.*, 2023). Além disso, a realização de fermentações espontâneas, utilizando os microrganismos naturalmente presentes no mosto, vem sendo explorada e se mostrado eficaz na produção de bebidas com teor alcoólico menor (LI *et al.*, 2020a). Cioch-Skoneczny *et al.* (2020) por exemplo, isolaram diversas leveduras do mosto de uva fermentado espontaneamente e exploraram suas capacidades enológicas. Estes autores observaram que a fermentação com cultura comercial de *Saccharomyces cerevisiae* resultou em um teor alcoólico de 14,15%, enquanto os fermentados elaborados com as outras cepas (fermentação espontânea) apresentaram teores entre 0,1 e 3,8%.

Uma estratégia muito empregada na elaboração de fermentados *low-alcohol* é a utilização de frutas com baixo teor de sólidos solúveis totais, realizando desta forma uma fermentação apenas com os açúcares naturalmente presentes na fruta, sem realizar a chaptalização do mosto, o que resulta em um baixo teor alcoólico, além de reduzir significativamente o tempo de fermentação quando comparado aos métodos tradicionais de

produção (YANG *et al.*, 2021). Li *et al.* (2023) produziram fermentados de kiwi de baixo teor alcoólico, utilizando a concentração natural de açúcar da fruta (103,8 g/L), e uma combinação de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* e *Zygosaccharomyces rouxii*), obtendo ao final do processo fermentativo valores de etanol variando entre 3,83 e 4,36%.

Nesse sentido, a uvaia, que é uma espécie nativa amplamente disseminada no Sul do Brasil, apresenta uma composição química ideal para a elaboração de uma bebida fermentada com baixo teor alcoólico, tornando-se uma alternativa inovadora de diversificação de produto, bem como de valorização de matérias-primas regionais ainda pouco exploradas.

1.2 UVAIA

A uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) (Figura 3) também denominada como uvaieira, uvalha ou uvalheira é o fruto pertencente à família Myrtaceae, proveniente da espécie arbórea nativa do Sul do Brasil, mas que pode ser encontrada desde São Paulo até o Rio Grande do Sul (SILVA *et al.*, 2003). A altura das plantas pode variar entre 5 e 15 metros, a floração ocorre entre agosto e setembro, enquanto a frutificação acontece geralmente nos meses de outubro e novembro (FREITAS, 2017).

O fruto da uvaia possui formato arredondado, medindo de 2 a 2,4 cm de diâmetro, quando maduro apresenta polpa e casca de cor amarelada (Figura 3), são frutos suculentos com sabor característico ácido (FARIAS *et al.*, 2020a) além de possuir um aroma agradável caracterizado como frutado, doce e cítrico devido a presença de ésteres como hexanoato e butanoato de etila (FREITAS *et al.*, 2019; MIYAZAWA, 2009). A uvaia é considerada uma fruta ácida pois apresenta um elevado teor de acidez e baixo pH (entre 3,0 e 4,0) também possui um elevado teor de água (em média 93%), características comuns das frutas da família Myrtaceae (SGANZERLA *et al.*, 2019).

Grande parte da produção da uvaia hoje em dia ainda é doméstica o que a torna uma espécie ameaçada de extinção, entretanto, já existem trabalhos que visam a produção desse fruto em escala comercial, como exposto por Sganzerla *et al.* (2021) em um estudo de caracterização biométrica para identificar a variabilidade genética existente entre os frutos de uvaia a fim de realizar um melhoramento genético da espécie. Além disso pesquisas sobre o seu potencial de aplicação também exercem um papel importante no incentivo à produção comercial.

Vale destacar que é possível realizar um aproveitamento integral da fruta pois seus resíduos como a casca e a semente são ótimas fontes de compostos bioativos (RODRIGUES

et al., 2021) e podem ser utilizados para produzir corante natural para uso na confeitaria, por exemplo (AVELAR *et al.*, 2019). O óleo essencial extraído das folhas da planta é antibacteriano e antifúngico, possui atividade contra a Leishmaniose e potencial atividade contra células cancerígenas (DURAZZINI *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2021). Dessa forma, a aplicação industrial da uvaia é uma alternativa para se evitar as perdas na pós-colheita, já que é um fruto muito perecível. Assim, as características de sabor, aliadas à composição química da uvaia a tornam uma fruta atrativa para a elaboração de diferentes produtos, como geleias, sucos, sorvetes (JACOMINO *et al.*, 2018) e iogurtes (BIANCHINI *et al.*, 2020a), além da possibilidade de ser empregada na produção de bebidas fermentadas.

Figura 3 - Frutos de *Eugenia pyriformis* Cambess



Fonte: Giacon (2019)

Quanto a sua composição nutricional a uvaia é rica em fibras e carboidratos, enquanto cinzas, lipídios e proteínas estão presentes em menores quantidades, vale destacar que os carboidratos são os principais macronutrientes presentes na fruta, sendo que 30% do seu peso total é composto por carboidratos não solúveis como celulose, hemicelulose e lignina, além disso, apesar de possuir uma baixa quantidade de proteínas (15,82 g/100g em base seca), a uvaia ainda pode ser uma boa fonte de aminoácidos essenciais e não essenciais, que são fundamentais para o funcionamento do corpo humano (DACOREGGIO *et al.*, 2021).

Essa composição nutricional pode variar de acordo com a localização geográfica das plantas. Segundo Silva *et al.* (2019a) entre as diferentes uvaia coletadas no município de Rio

Branco (São Paulo, Brasil) o acesso Dura foi o que apresentou maior teor de fibras (44,10 g/100g em base seca), enquanto o acesso Rugosa Doce se destacou por possuir a maior quantidade de carboidratos totais (60,81 g/100g em base seca). Já o teor de açúcares solúveis da uvaia variou neste estudo entre 11,62 e 18,88 g/100g (base úmida), entre os seis acessos. Por outro lado, Bianchini *et al.* (2020b), obtiveram valores de 2,32; 1,41 e 0,13 (g/100g em base úmida) para frutose, glicose e sacarose, respectivamente, em uvaia coletadas na Serra Catarinense. Açúcares como a glicose e a frutose são os principais responsáveis pelo teor de sólidos solúveis totais da uvaia, que pode variar de 2,90 a 9,80 °Brix, dependendo do seu estágio de maturação e do local de cultivo (SGANZERLA *et al.*, 2019), sendo este um parâmetro importante para o processo de fermentação alcoólica.

1.2.1 Compostos bioativos da uvaia

A uvaia tem sido reconhecida como uma fruta potencialmente benéfica à saúde, pois apresenta diferentes compostos relatados na literatura como bioativos (NETO; SILVA; DANTAS, 2020). Dentre esses compostos destacam-se os carotenoides, que são terpenos com características lipossolúveis (YAHIA, 2018). Em estudo conduzido por Silva *et al.* (2014) foram observados valores de 1306,6 µg/100g (em base úmida) de carotenoides totais para a uvaia, sendo que 40% (m/m) desse total foram representados pela trans-β-criptoxantina e 13% (m/m) pelo trans-β-caroteno, revelando a uvaia como uma importante fonte de vitamina A (PEREIRA *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2014).

A uvaia também se destaca por ser uma fruta com quantidades consideráveis de vitamina C, com valores mais expressivos do que outras frutas nativas como o araçá e a goiaba serrana (SCHMIDT *et al.*, 2019). Bianchini *et al.* (2020b) encontraram para a uvaia coletada na Serra Catarinense valores próximos de 7,50 mg/g de ácido ascórbico (base úmida).

Além disso, vários trabalhos relatam o potencial antioxidante e a composição fenólica da uvaia. Bianchini *et al.* (2020b) encontraram valores de 406,67 mM de Trolox/100g pelo método FRAP, e 184,84 mM de Trolox/100g pelo método ABTS (base úmida) na polpa *in natura*. Já Sganzerla *et al.* (2018) obtiveram valores de 342,11 mg de Trolox/100g (método FRAP), e valores próximos a 227,99 mg de Trolox/100g (método ABTS), utilizando um extrato hidroetanólico da polpa da uvaia. Além disso, estes autores observaram para os compostos fenólicos totais, no mesmo extrato, valores de 148,51 mg de ácido gálico/100g.

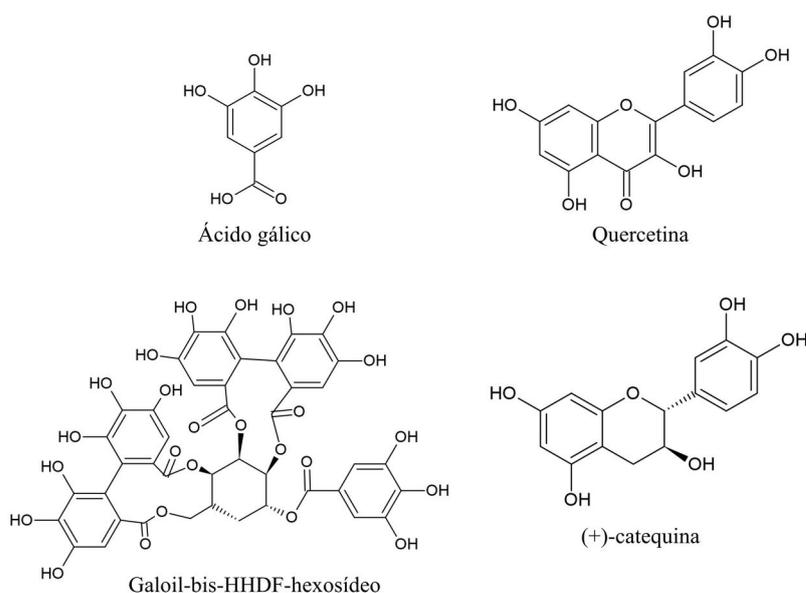
Farias *et al.* (2020b) ao caracterizarem diferentes frações da uvaia (partes comestíveis e semente) quantificaram os compostos fenólicos totais (49,36 mg de ácido gálico/100g em base seca), e identificaram 16 compostos fenólicos pertencentes às classes dos ácidos fenólicos, flavonoides, flavan-3-ols monoméricos e flavonas.

Haminiuk *et al.* (2014) testaram a eficiência de diferentes solventes na extração dos compostos fenólicos da uvaia, e concluíram que o metanol absoluto foi o que obteve melhor performance, fornecendo um valor de compostos fenólicos totais de 588,3 mg/kg em base úmida, sendo que os compostos fenólicos majoritários encontrados no extrato foram o ácido gálico (346,1 mg/kg em base úmida) e a quercetina (149,7 mg/kg em base úmida) (Figura 4).

Já Silva *et al.* (2014), ao realizarem a quantificação e a identificação dos compostos fenólicos de quatro frutas nativas da Mata Atlântica brasileira, incluindo a uvaia, obtiveram um valor de 115,96 mg de ácido gálico/100g em base úmida para os fenólicos totais, e como compostos majoritários encontraram o ácido gálico (27,50 mg de ácido gálico/100g em base úmida) e o galoil-bis-(hexahidroxi-difenil (HHDF))-hexosídeo (19,32 mg de ácido gálico/100g em base úmida) (Figura 4).

Wanderley *et al.* (2022a) investigou o perfil de compostos fenólicos de frutas nativas do sul do Brasil e obteve, para a uvaia, um valor de compostos fenólicos totais de 70,82 mg de ácido gálico/100g em base úmida, sendo o composto majoritário, relatado na fruta pela primeira vez na literatura, a (+)-catequina (6,54 mg/100g).

Figura 4 - Estrutura molecular dos principais compostos fenólicos identificados na uvaia.



Fonte: Elaborado pela autora a partir do programa ChemSketch® 1.0 (2022).

O ácido gálico é um dos compostos antioxidantes naturais mais comuns em plantas, além de ser um dos mais importantes, pois existem relatos do seu efeito cardioprotetor e uma possível ação antidiabética (ZANWAR *et al.*, 2013a). A quercetina é um flavonoide que está sendo estudada pelo seu potencial contra o câncer, doenças cardiovasculares e devido a sua capacidade antioxidante, também apresentando potencial de prevenção de doenças neurodegenerativas como o Alzheimer e o Parkinson (AY *et al.*, 2016). Já o galoil-bis-HHDF-hexosídeo é um tanino hidrolisável, ou seja, um elagitanino (CALANI *et al.*, 2013), alguns estudos demonstram que o consumo de frutas ricas em elagitaninos, têm potencial benéfico para a saúde como a inibição do crescimento de células cancerígenas (LANDETE, 2011). Já a catequina está presente em muitas frutas e bebidas como o chá verde e o vinho, por exemplo, os benefícios do seu consumo estão relacionados à sua ação antioxidante, anti-hipertensiva, e anti-inflamatória, as quais já são bem estabelecidas tanto por estudos *in vitro* como *in vivo* (ZANWAR *et al.*, 2013b).

Vale ressaltar, que de acordo com a legislação brasileira, as substâncias bioativas podem ser definidas como nutrientes ou não nutrientes consumidos normalmente como componente de um alimento, que possuem ação metabólica ou fisiológica específica no organismo humano (BRASIL, 2018). No entanto, a alegação de funcionalidade de um alimento se dá pela comprovação do papel fisiológico de nutrientes em funções do organismo humano, através de ensaios clínicos e evidências experimentais (GRANATO *et al.*, 2020).

1.3 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS

A bioacessibilidade está, junto com a bioatividade, dentro do conceito de biodisponibilidade, portanto, a biodisponibilidade pode ser definida como a fração ingerida de determinado composto que atinge o sistema circulatório onde pode exercer sua atividade biológica. Enquanto a bioacessibilidade é a quantidade de qualquer constituinte alimentar que foi liberado da sua matriz no trato gastrointestinal e pode ser absorvido, a bioatividade, por sua vez, é definida como as mudanças na saúde exercidas por constituintes alimentares (GUTIÉRREZ-GRIJALVA *et al.*, 2016).

O processo de fermentação de frutas pode causar um aumento na quantidade total dos compostos fenólicos presentes na bebida, e conseqüentemente aumentar sua atividade antioxidante (CASTELLO *et al.*, 2020). Tarko *et al.* (2020) avaliaram a bioacessibilidade dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante de bebidas fermentadas produzidas com maçãs e cassis, e observaram que o teor de polifenóis totais aumentou a cada estágio da

digestão *in vitro* e que a partir do segundo estágio, a atividade antioxidante aumentou também, sugerindo uma quebra dos compostos fenólicos o que resultou em metabólitos com maior potencial antioxidante. Por outro lado, Celep *et al.* (2015) ao simularem as condições gastrointestinais *in vitro* para bebidas produzidas com três diferentes frutas (amora-preta, mirtilo e cereja) observaram que houve uma redução significativa no teor de compostos fenólicos e na atividade antioxidante das três amostras após a digestão, entretanto o potencial antioxidante destas bebidas fermentadas manteve-se mais elevado do que vinhos tradicionais (de uva), mesmo após a digestão.

Castello *et al.* (2020) realizaram a análise de biodisponibilidade em humanos, para avaliar a absorção, o metabolismo e a excreção de polifenóis presentes no suco e no fermentado alcoólico de laranja, em amostras de urina e plasma. Estes autores concluíram que ambos os produtos possuíam uma ampla variedade de polifenóis, que estavam altamente biodisponíveis, e que apesar da fermentação não ter afetado os parâmetros farmacocinéticos, os polifenóis do fermentado alcoólico de laranja tiveram uma absorção mais rápida no plasma.

Farias *et al.* (2021) analisaram o efeito da digestão *in vitro* na bioacessibilidade e na bioatividade dos compostos fenólicos da uvaia e observaram que o teor de flavonoides e a atividade antioxidante das frações comestíveis do fruto apresentaram um aumento significativo após a fase intestinal da digestão. Apesar disso, são escassos os trabalhos que avaliem a bioacessibilidade dessas variáveis em produtos produzidos a partir da uvaia.

O nível de processamento ao qual o alimento é submetido pode afetar tanto de maneira positiva quanto de maneira negativa a bioacessibilidade dos compostos fenólicos. Por exemplo, o amolecimento e a quebra da matriz alimentar podem facilitar a liberação desses compostos, enquanto o uso de agentes aquecedores e pró-oxidantes podem induzir a formação de compostos que reduzem a bioacessibilidade dos polifenóis (LORENZO *et al.*, 2019), dessa maneira a análise deste parâmetro se torna importante tendo em vista o processamento ao qual a uvaia será sujeitada.

**CAPÍTULO 2 – FERMENTADOS DE FRUTAS COM BAIXO TEOR ALCOÓLICO:
PANORAMA CIENTÍFICO, TECNOLÓGICO E PERSPECTIVAS DE MERCADO**

RESUMO

A elaboração de fermentados de frutas com baixo teor alcoólico pode ser uma alternativa viável para o aproveitamento de diferentes espécies frutíferas, além de ser uma opção mais saudável para os consumidores. Assim, este trabalho teve como objetivo realizar uma prospecção de artigos científicos e de documentos de patentes referentes a produção de bebidas fermentadas de frutas com baixo teor alcoólico. A busca de artigos foi realizada na plataforma *Scopus*, enquanto a busca de patentes foi realizada no *Espacenet*®, ambas foram feitas utilizando a combinação de palavras: “*low-alcohol*” AND fruit AND wine, sendo encontrados 354 artigos e 411 patentes, respectivamente. No entanto, apenas 52 e 99 destes documentos foram selecionados, pois apresentavam o termo *low-alcohol* em pelo menos um dos campos utilizados nas buscas, ou seja, título, palavras-chave e resumo para os artigos, e resumo, descrição e reivindicações para as patentes. A China se destacou como principal país detentor de publicações (11) e patentes (85). As frutas mais citadas em ambas as buscas foram a uva e a maçã, apesar disso, frutas não convencionais como o espinheiro marítimo, a romã e a amora também foram exploradas nas publicações dos últimos dois anos (2021 e 2022). Foi possível constatar um crescimento mais expressivo da produção de bebidas com baixo teor alcoólico nos últimos dez anos (2012 a 2022), com 42 publicações e 68 patentes, demonstrando que essa tecnologia tem se tornado cada vez mais promissora para a exploração e valorização de frutas, em especial as nativas e exóticas. Tanto os artigos, quanto as patentes tratavam principalmente sobre o desenvolvimento de novas formulações de bebidas com baixo teor alcoólico, possuindo um apelo saudável e com intuito de trazer inovação para o mercado de bebidas.

Palavras-chave: Prospecção científica; Prospecção tecnológica; Fermentação; Inovação.

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, a produção mundial de frutas vem apresentando um crescimento contínuo. De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) entre os anos 2000 e 2019 essa produção teve um aumento de 54% (FAO, 2021), sendo que a China lidera o ranking mundial dos países produtores de frutas com uma produção superior a 240 mil toneladas em 2020, seguida pela Índia, com uma produção de mais de 100 mil toneladas e pelo Brasil com produção de quase 40 mil toneladas (STATISTA, 2022). Diante desse cenário, é possível observar que existe um grande mercado para o processamento de frutas e o desenvolvimento de novos produtos, sendo que a utilização de processos fermentativos pode contribuir para a diversificação de produtos obtidos a base de frutas, além de aumentar a sua conservação e valor agregado.

Para a elaboração de um fermentado alcoólico é possível utilizar diversas frutas, resultando em uma grande variedade de produtos com diferentes características químicas e sensoriais (BOEIRA *et al.*, 2020). Do ponto de vista tecnológico, a principal condição para que a fermentação alcoólica ocorra está relacionada ao teor de açúcar disponível no sistema, gerando etanol durante o processo, a partir do metabolismo das leveduras (SARANRAJ; SIVASAKTHIVELAN; NAVEEN, 2017). No entanto, a composição química de cada fruta depende da sua espécie e estágio de maturação, entre outros fatores, que interferem diretamente na produção de etanol (LUZÓN-QUINTANA; CASTRO; DURÁN-GUERRERO, 2021). Os fermentados de frutas mais conhecidos comercialmente são o vinho, elaborado a partir da uva, e a sidra, obtida a partir da fermentação da maçã. Entretanto, ainda é incipiente a utilização de frutas não convencionais para a elaboração de fermentados alcoólicos, o que pode agregar valor às matérias-primas, em especial devido à sua composição química e aos potenciais benefícios conferidos à saúde dos consumidores (LOPES *et al.*, 2019). Em um estudo prospectivo de patentes relacionado à produção de bebidas alcoólicas fermentadas de frutas, realizado por Santos *et al.* (2021b), foram encontrados 344 documentos de patentes na busca realizada na base de dados brasileira do Instituto Nacional da Propriedade Intelectual (INPI) e no *Espacenet*®, entre os anos de 2000 e 2018, sendo que as

frutas mais citadas nesses documentos foram o mirtilo, a amora e o kiwi, revelando o grande potencial de utilização de frutas não convencionais.

Apesar do consumo de bebidas alcoólicas ser um hábito mundialmente difundido e influenciado por diversos fatores socioeconômicos e culturais, nos últimos anos têm-se observado um aumento no interesse dos consumidores por bebidas com baixo teor alcoólico e/ou zero álcool (LIGUORI *et al.*, 2018). Isso se deve a vários fatores, incluindo a preocupação em relação aos malefícios causados à saúde pelo consumo elevado de etanol e a sua toxicidade, além de condições específicas, como doenças cardiovasculares, obesidade, questões religiosas, gravidez, entre outras (FUCHS; FUCHS, 2021; NUTT *et al.*, 2021).

De maneira geral, os fermentados não alcoólicos de frutas, também chamados de *zero alcohol*, são considerados aqueles que possuem um teor menor do que 0,5% de álcool na sua composição (BUCHER; DEROOVER; STOCKLEY, 2018). Por outro lado, fermentados de frutas são tipicamente classificados como de baixo teor alcoólico, ou *low-alcohol*, quando apresentam um teor alcoólico entre 1 e 7% (v/v) (HUANG *et al.*, 2022). No entanto, ainda não existe um consenso mundial no uso do termo “bebida fermentada com baixo teor alcoólico”, estando sujeito a variações nas regulamentações dos diferentes países, que carecem de informações mais detalhadas sobre esse assunto. Além disso, percebe-se que as investigações sobre os fermentados de fruta com baixo teor alcoólico estão concentradas nos processos de fermentação controlada, interrupção fermentativa, além de processos de desalcoolização das bebidas por tecnologias de osmose reversa, osmose evaporativa e destilação à vácuo (PHAM *et al.*, 2020; HUANG *et al.*, 2022).

Segundo a *International Wine and Spirit Research* (IWSR, 2021), o mercado de bebidas *low-alcohol* e *zero alcohol* representa uma participação de 3,5% na indústria de bebidas, com um crescimento de mais de 6% em consumo no ano de 2021 nos 10 principais mercados globais (Austrália, Brasil, Canadá, França, Alemanha, Japão, África do Sul, Espanha, Reino Unido e Estados Unidos), possuindo um valor de mercado de aproximadamente 10 bilhões de dólares, sendo a Alemanha e a Espanha os líderes em produção desse tipo de produto. Diante da importância econômica e social, além do potencial tecnológico que este tema representa, este estudo buscou realizar um estudo prospectivo por meio da análise de artigos e patentes sobre a produção de bebidas fermentadas de frutas com baixo teor alcoólico, a fim de entender o cenário do tema proposto e orientar o desenvolvimento de novos produtos e tecnologias no setor de bebidas.

2 METODOLOGIA

Os dados científicos foram coletados em novembro de 2022 na plataforma *Scopus* através de uma busca avançada limitando o tipo de documento a somente artigos de pesquisa e utilizando uma combinação entre palavras-chaves e operadores booleanos (“*low-alcohol*” AND fruit AND wine) nos campos título, resumo e palavras-chave. Um total de 354 artigos de pesquisa foram obtidos e seus dados foram exportados em forma de planilha para o *Microsoft Office Excel* versão 2019, os documentos foram filtrados após a leitura dos respectivos resumos utilizando como critério de seleção a presença do termo *low-alcohol* em ao menos um dos campos inseridos na busca, resultando em 52 documentos a serem analisados.

A prospecção tecnológica foi realizada em janeiro de 2023, com a busca dos documentos de patentes realizada na base de dados internacional *European Patent Office (Espacenet®)*, que abrange patentes depositadas em mais de 90 países. Para realizar o levantamento do maior número possível de documentos relacionados ao tema de interesse no *Espacenet®* foi utilizada a ferramenta de busca avançada, inserindo os mesmo termos da busca científica nos campos “título, resumo e reivindicações”, os critérios utilizados para seleção de patentes foram: a presença das palavras *low-alcohol* em um dos campos de busca e a menção do teor alcoólico das bebidas. Os 411 documentos presentes no *Espacenet®* foram exportados em forma de planilha para o *Microsoft Office Excel* versão 2019, e após a leitura dos resumos e descrições (quando disponíveis) de todos os documentos, 312 foram excluídos do estudo por estarem duplicados ou fora dos critérios de inclusão, restando ao final da avaliação 99 documentos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

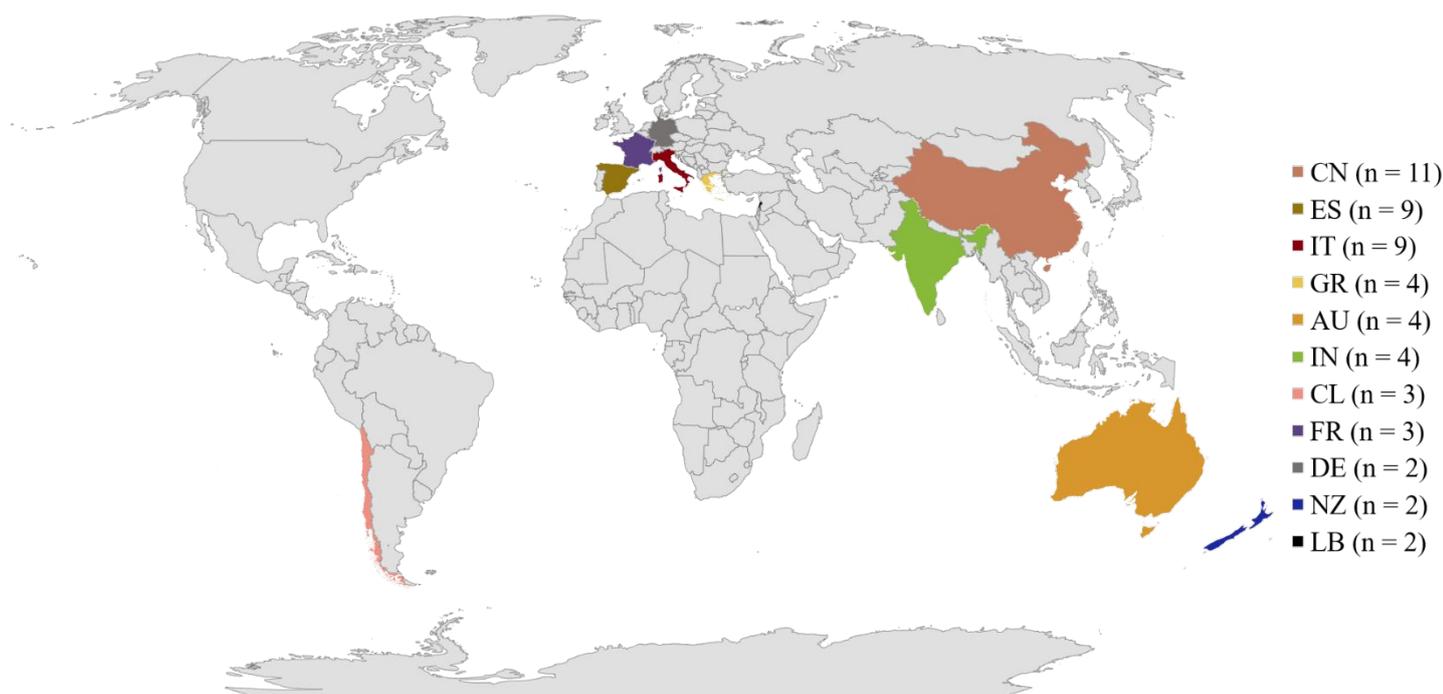
3.1 PROSPECÇÃO CIENTÍFICA

3.1.1 Países de origem das publicações

A maioria dos artigos publicados sobre o tema da pesquisa são provenientes de países europeus (Espanha, Itália, Grécia, França e Alemanha), responsáveis por 27 publicações, conforme mostrado na Figura 1. De modo geral, o continente europeu apresenta uma cultura relacionada à elaboração e ao consumo de bebidas fermentadas de frutas, em

especial vinho e sidra (AICV, 2022), o que reflete o interesse em inovações nesse setor, ganhando uma visibilidade e importância global. Além disso, vale ressaltar que a Ásia aparece com 17 publicações na área, com destaque para a China (n = 11). De acordo com FREITAS *et al.* (2022), a China tem se destacado globalmente pelos esforços significativos em alavancar a área de ciência e tecnologia, com reformas de alto impacto nesta área, refletindo na melhoria tanto da pesquisa científica, quanto do ensino superior, e consequentemente da inovação, que desempenha um papel cada vez mais importante na sua economia. Mesmo com números menos expressivos, países da Oceania, como Austrália e Nova Zelândia (n = 6), e da América do Sul, como o Chile (n = 3), aparecem com publicações na área de fermentados de frutas *low-alcohol*, demonstrando uma tendência incipiente, mas que está presente em nível mundial nesta área de estudo.

Figura 1 - Artigos científicos publicados sobre fermentados de frutas *low-alcohol* por país.



CN = China; ES = Espanha; IT = Itália; GR = Grécia; AU = Austrália; IN = Índia; CL = Chile; FR = França; DE = Alemanha; NZ = Nova Zelândia; LB = Líbano.

3.1.2 Área de conhecimento das publicações

De acordo com a avaliação dos artigos publicados por área de conhecimento, percebe-se que dos 52 artigos avaliados, a grande maioria foi publicada na temática de

Agricultura e Ciências Biológicas (n = 42). As demais áreas relacionadas foram Química; Imunologia e Microbiologia; Bioquímica Genética e Molecular; Biologia; e Engenharia Química, e Engenharia.

O Quadro 1 mostra as principais informações dos artigos mais recentes (2020 a 2022) relacionados à produção de fermentados de frutas *low-alcohol*. Observa-se que as frutas mais citadas nesses trabalhos são a uva e a maçã, apesar da existência de algumas citações com frutas não convencionais para elaboração de bebidas, como o espinheiro marítimo e a romã. Entre os principais objetivos desses trabalhos, os mais comuns envolvem a qualidade das bebidas, como a avaliação dos potenciais benéficos à saúde, ou a otimização dos parâmetros de produção visando uma melhor composição nutricional e sensorial, que podem estar atrelados às mudanças de comportamento dos consumidores que buscam cada vez mais um estilo de vida saudável. Percebe-se ainda que na grande maioria dos trabalhos, o teor alcoólico das bebidas manteve-se abaixo de 6%, demonstrando a crescente busca por bebidas que possuam um teor alcoólico reduzido quando comparadas com fermentados tradicionais que comumente apresentam valores entre 11 e 14%.

Quadro 1 - Artigos científicos publicados recentemente (2020 a 2022) sobre fermentados de frutas *low-alcohol* na área de Agricultura e Ciências Biológicas.

Título	Fruta(s)	Objetivo do estudo	Teor alcoólico	Referência
Effect of Acute Intake of Fermented Orange Juice on Fasting and Postprandial Glucose Metabolism, Plasma Lipids and Antioxidant Status in Healthy Human	Laranja (<i>Citrus sinensis</i> L.)	Avaliar os potenciais efeitos benéficos à saúde do fermentado de laranja em comparação com o suco	0,90%	Escudero-López <i>et al.</i> (2022)
Effect of inoculation method on the quality and nutritional characteristics of <i>low-alcohol</i> kiwi wine	Kiwi (<i>Actinidia chinensis</i>)	Investigar os efeitos dos métodos de inoculação de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Wickerhamomyces anomalus</i> nas características nutricionais e na qualidade do vinho <i>low-alcohol</i> de kiwi	5,30 – 5,50%	Huang <i>et al.</i> (2022)
Enhancement of the aroma in <i>low-alcohol</i> apple-blended pear wine mixed fermented with <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and non- <i>Saccharomyces</i> yeasts	Pera (<i>Pyrus bretschneideri</i> Rehder) e maçã (<i>Malus domestica</i>)	Explorar os efeitos da mistura de suco de pera e maçã, em diferentes proporções, assim como a cultura mista de <i>Saccharomyces</i> com não <i>Saccharomyces</i> na composição volátil e nas propriedades sensoriais do vinho de pera	6,47 – 6,53%	Yang <i>et al.</i> (2022)
Effect of Fermentation Strategy on the Quality and Aroma Characteristics of Yellow Peach Wines	Pêssego (<i>Prunus persica</i> L. Batsch)	Analisar os efeitos de diferentes estratégias de fermentação nas propriedades físico-químicas, teor de monômeros de fenólicos, atividade antioxidante e compostos voláteis no vinho de pêssego amarelo	5,11 – 12,76%	Liang <i>et al.</i> (2022)
Effects of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Starmerella bacillaris</i> on the physicochemical and sensory characteristics of sparkling pear cider	Pera (<i>Pyrus communis</i> L.)	Produzir sidra de pera utilizando culturas mistas de <i>Starmerella bacillaris</i> e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> em inoculação simultânea e sequencial e o seu efeito nas propriedades físico-químicas e sensoriais da bebida	5,70 – 6,0%	Guerrini <i>et al.</i> (2022)

Characterization of Roselle (<i>Hibiscus sabdariffa</i>) calyces wine using date palm (<i>Phoenix dactylifera</i>) fruit extracts as a substitute for granulated sugar	Cálice de caruru-azedo (<i>Hibiscus sabdariffa</i>) com extrato de tamareira (<i>Phoenix dactylifera</i>)	Caracterizar o vinho rose produzido a partir de <i>Hibiscus sabdariffa</i> utilizando extratos de <i>Phoenix dactylifera</i> como substituto do açúcar	2,15 - 10,24%	Sobowale; Omosibi e Animashaun (2021)
Screening Non- <i>Saccharomyces</i> Yeasts as Low Ethanol Producing Starter Cultures	Uva (<i>Vitis vinifera</i> cv. Chenin Blanc)	Avaliar a capacidade fermentativa de leveduras não <i>Saccharomyces</i> sob condições aeróbicas e anaeróbicas como potenciais culturas starters para a produção de bebidas <i>low-alcohol</i>	<5 – 11,9%	Mehlomakulu <i>et al.</i> (2021)
Chemical composition, sensory profile and antioxidant capacity of <i>low-alcohol</i> strawberry beverages fermented with <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Torulaspora delbrueckii</i>	Morango (<i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i>)	Investigar a composição química, as características sensoriais e a atividade antioxidante da bebida fermentada <i>low-alcohol</i> de morango com <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Torulaspora delbrueckii</i> sem adição de açúcar	1,3 – 2,7%	Yang <i>et al.</i> (2021)
Preparation of <i>Low-alcohol</i> Pineapple Wine by Different Methods of Terminating Fermentation	Abacaxi (<i>Ananas comosus</i>)	Efeitos de diferentes métodos de terminação da fermentação na qualidade dos produtos finais	4,78 – 4,85%	Wang; Zeng e Cai (2021)
Effect of Malolactic Fermentation on Volatile Compounds of Merlot <i>Low-alcohol</i> Rose Wine	Uva (<i>Vitis vinifera</i> cv. Merlot)	Explorar os efeitos da fermentação malolática na qualidade do vinho rose <i>low-alcohol</i> produzido com uvas merlot através da otimização de diferentes métodos de inoculação	7%	Xia <i>et al.</i> (2020)
Determination of the oenological properties of yeast strains isolated from spontaneously fermented grape musts obtained from cool climate grape varieties	Uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Determinar as propriedades enológicas de leveduras isoladas de mostos de variedades de uva de clima frio fermentado espontaneamente	0,1 – 14,15%	Cioch-Skoneczny <i>et al.</i> (2020)
Capitalization of sea buckthorn waste by fermentation: Optimization of	Espinheiro marítimo (<i>Hippophae</i>)	Otimizar as condições do processo fermentativo utilizando superfície de	3%	Gâtlan; Gutt e Naghiu (2020)

industrial process of obtaining a novel refreshing drink	<i>rhamnoides</i> L.)	resposta e design Box-Behnken para produzir uma bebida refrescante de baixo teor alcoólico utilizando resíduos de espinheiro marítimo		
<i>Citrus medica</i> and <i>Cinnamomum zeylanicum</i> essential oils as potential biopreservatives against spoilage in low-alcohol wine products	Cidra (<i>Citrus medica</i>) e caneleira-verdadeira (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	Avaliar o potencial industrial dos óleos essenciais de <i>Citrus medica</i> e <i>Cinnamomum zeylanicum</i> aplicados em vinhos de baixo teor alcoólico como agente antimicrobiano natural contra bactérias deteriorantes	≈6%	Mitropoulou <i>et al.</i> (2020)
Functional pomegranate beverage production by fermentation with a novel symbiotic <i>L. paracasei</i> biocatalyst	Romã (<i>Punica granatum</i> L.)	Uso de um biocatalisador simbiótico preparado pela imobilização de <i>Lactobacillus paracasei</i> K5 em farelo de trigo para fermentação de suco de romã utilizando diferentes pHs para o substrato	0,5 – 1%	Mantzourani <i>et al.</i> (2020)
Technology development for the production of self carbonated less alcoholic lemon beverage	Limão siciliano (<i>Citrus limon</i>)	Elaboração e caracterização físico-química e sensorial de uma bebida nutritiva, clarificada e saborosa através da fermentação do suco de limão da variedade Baramasi, conteúdo menos álcool e carbonatado naturalmente	0,803%	Arora e Kaur (2020)
Suitability of the Lebanese “Ace spur” apple variety for cider production using <i>Hanseniaspora</i> sp. Yeast	Maçã (<i>Malus domestica</i> cv. Ace spur e Kermerrien)	Investigar as propriedades físico-químicas e fermentativas de maçãs libanesas e francesas para produção de cidra usando a levedura <i>Hanseniaspora</i> sp.	≈3,8%	Daccache <i>et al.</i> (2020b)
Application of anti-transpirant to control sugar accumulation in grape berries and alcohol degree in wines obtained from thinned and unthinned vines of cv. Falanghina (<i>Vitis vinifera</i> L.)	Uva (<i>Vitis vinifera</i> cv. Falanghina)	Avaliar a eficiência da aplicação de um anti transpirante natural em videiras de uvas Falanghina através medidas fisiológicas das videiras e análises químicas nas uvas e nos vinhos	0,9 – 1,6%	Di Vaio <i>et al.</i> (2020)
Control of the sugar/ethanol conversion rate during moderate	Maçã (<i>Malus domestica</i> cv. Ace spur)	Investigar o efeito do tratamento com campo elétrico pulsado moderado na	Entre 3 e ≈5%	Daccache <i>et al.</i> (2020c)

pulsed electric field-assisted fermentation of <i>Hanseniaspora</i> sp. strain to produce <i>low-alcohol</i> cider		fermentação do suco de maçã utilizando <i>Hanseniaspora</i> sp. como levedura		
--	--	--	--	--

Além disso, essas pesquisas vêm ao encontro dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), que em 2015 propôs aos seus países membros uma nova agenda de desenvolvimento sustentável para os próximos 15 anos, a Agenda 2030 (ONU, 2015). Alguns desses objetivos, em especial os itens 3 (Saúde e Bem Estar), 9 (Indústria, inovação e infraestrutura) e 12 (Consumo e produção responsáveis) podem ser parte da motivação desses cientistas para investigar as propriedades benéficas e oportunidades de inovação na tecnologia de obtenção de fermentados de frutas *low-alcohol*, em especial aqueles produzidos com frutas não convencionais.

Vale destacar que as propriedades bioativas das bebidas com baixo teor alcoólico vêm sendo cada vez mais avaliadas em trabalhos científicos. Huang *et al.* (2022) produziram fermentados de kiwi com valores médios de 5,4% (v/v) de álcool utilizando diferentes técnicas de inoculação de leveduras, sendo que a bebida preparada com a inoculação inicial de *Wickerhamomyces anomalus* seguida de *Saccharomyces cerevisiae* apresentou o maior teor de vitamina C e maior aceitação sensorial. Yang *et al.* (2021) avaliaram os potenciais de bebidas com teores alcoólicos entre 1,3 e 2,7% (v/v) produzidas a partir de diferentes cultivares de morango, onde a bebida com menor teor alcoólico apresentou os maiores teores de antocianinas, fenólicos totais e capacidade antioxidante.

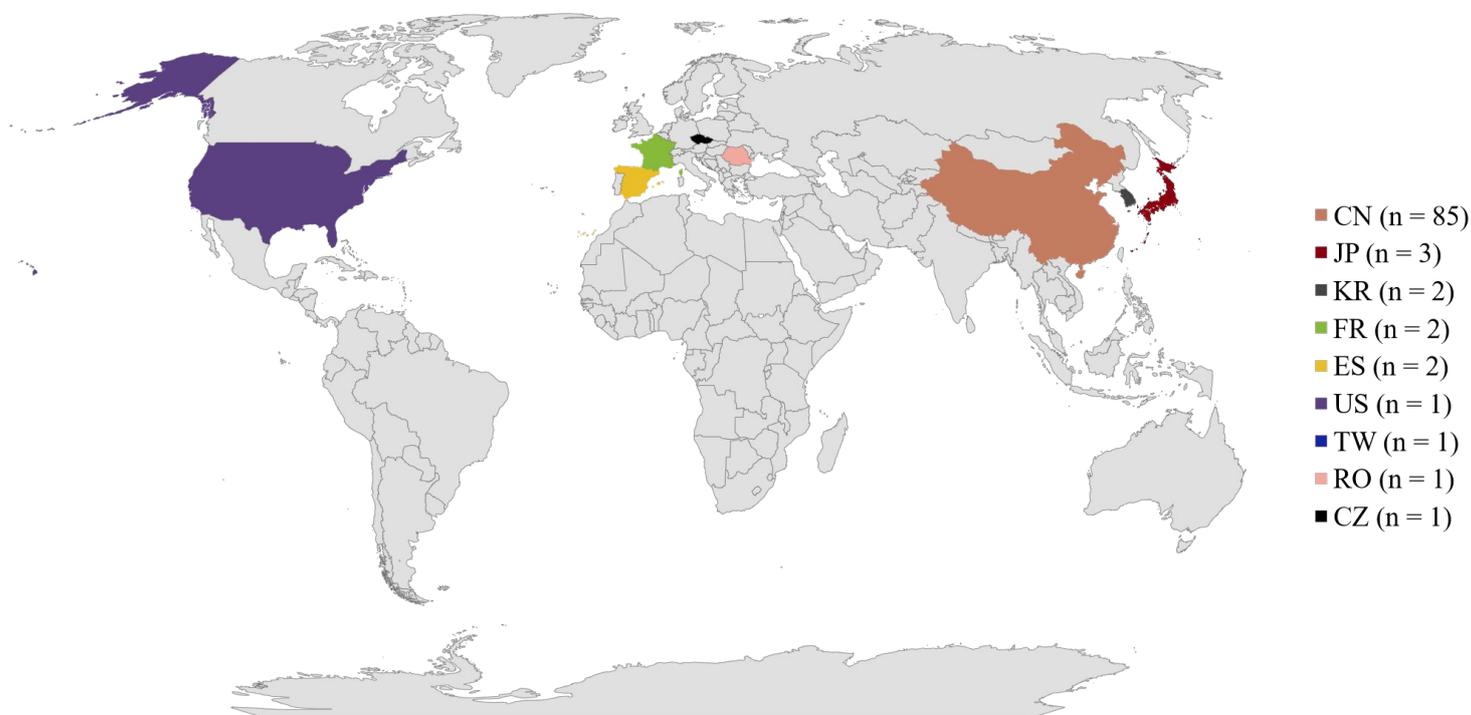
3.2 PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA

3.2.1 Mapeamento de patentes depositadas por país/organização

A Figura 2 apresenta o quantitativo de patentes depositadas por país. Como principal detentor da tecnologia de produção de bebidas de frutas fermentadas com baixo teor alcoólico destaca-se a China, com 85 patentes, seguida do Japão com 3 documentos, enquanto a Coreia do Sul, a França e a Espanha possuem duas patentes cada. Além disso, Estados Unidos, Taiwan, Romênia, e República Tcheca apresentaram uma patente cada, apenas uma patente foi depositada pela Organização Europeia de Patentes (EP). A China ocupa a 12ª posição entre as 132 economias presentes no índice de inovação global de 2021 (WIPO, 2021), e em 2020 ocupava o 2º maior número de *hotspots* em ciência e tecnologia em todo o mundo (WIPO, 2020a). Além disso, em 2019 se tornou a principal fonte de pedidos internacionais de patentes depositados junto à *World Intellectual Property Organization* (WIPO) (WIPO,

2020b). Já o Japão, ocupa a 13ª posição entre as 132 economias presentes no índice de inovação global (WIPO, 2021).

Figura 2 - Quantitativo de patentes depositadas por país.



CN = China; JP = Japão; KR = Coreia do Sul; FR = França; ES = Espanha; US = Estados Unidos; TW = Taiwan; RO = Romênia; CZ = República Tcheca.

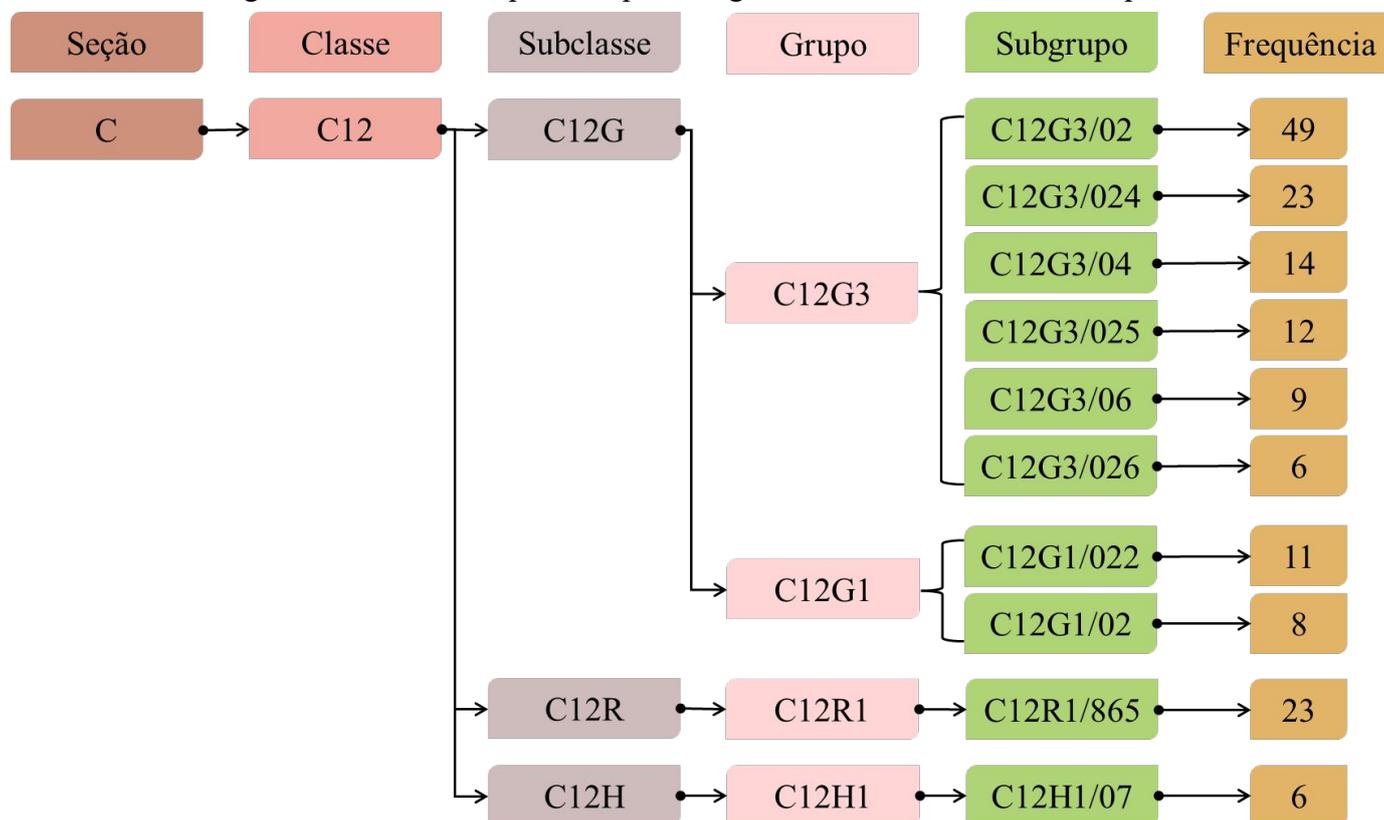
Os dados expostos demonstram que países desenvolvidos e com investimentos adequados possuem um maior número de publicação e solicitação de patentes, fato que contribui para o seu crescimento econômico. Vale destacar ainda que a China lidera o ranking mundial dos países produtores de frutas com uma produção superior a 240 mil toneladas em 2020 (STATISTA, 2022), o que aumenta de forma considerável as alternativas disponíveis no mercado para serem exploradas.

3.2.2 Códigos de classificação internacional de patentes e status de depósito

Segundo a WIPO, os códigos de classificação têm como objetivo estabelecer uma ferramenta de busca eficaz para a recuperação dos documentos de patentes pelos escritórios de propriedade intelectual e demais usuários. Os 99 documentos obtidos no *Espacenet*® apresentaram um total de 75 diferentes códigos da Classificação Internacional de Patentes

(IPC), uma vez que um documento pode possuir mais de um código. Os dez códigos IPC com maior frequência de aparição estão apresentados na Figura 3, e todos fazem parte da seção C – Química; metalurgia.

Figura 3 – Número de patentes por código IPC na base de dados do Espacenet®.



C = química, metalurgia; C12 = bioquímica, cerveja, aguardente, vinho, vinagre, microbiologia, enzimologia, mutação ou engenharia genética; C12G = vinho, preparação, bebidas alcoólicas; preparação de bebidas alcoólicas não contidas nas subclasses C12C ou C12H; C12R = esquema de indexação associado às subclasses C12C – C12Q, relativo a microrganismos; C12H = pasteurização, esterilização, preservação, purificação, clarificação ou envelhecimento de bebidas alcoólicas, métodos para alterar o teor alcoólico de soluções fermentadas ou bebidas alcoólicas; C12G3 = preparação de outras bebidas alcoólicas; C12G1 = preparação de vinho ou espumante; C12R1 = processos usando microrganismos; C12H1 = pasteurização, esterilização, preservação, purificação, clarificação ou envelhecimento de bebidas alcoólicas; C12G3/025 = bebidas com baixo teor alcoólico (métodos para reduzir o teor alcoólico após a fermentação); C12G3/06 = preparação de outras bebidas alcoólicas com ingredientes aromatizantes; C12G3/026 = preparação de outras bebidas alcoólicas com ingredientes que melhoram a saúde; C12G1/022 = preparação de vinho ou espumante por tratamento microbiológico ou enzimático; C12G1/02 = preparação de mosto de uva, tratamento e fermentação; C12H1/07 = separação por filtração.

Os códigos que apresentaram maior frequência foram os do grupo C12G3, com destaque para os subgrupos C12G3/02, o qual se refere a preparação de outras bebidas alcoólicas por fermentação, C12G3/024 e C12G3/04 que englobam a preparação de bebidas alcoólicas de outras frutas que não sejam do gênero *Vitis* e preparação de outras bebidas alcoólicas por mistura, respectivamente. Além disso, o subgrupo C12R1/865, também apresentou uma frequência significativa e refere-se aos processos utilizando *Saccharomyces*

cerevisiae como microrganismo fermentador. É possível observar que os códigos presentes nos documentos estão diretamente relacionados à temática do mapeamento de patentes proposto neste estudo, incluindo não apenas métodos de redução do teor alcoólico, mas também a preparação de bebidas com diferentes leveduras e ingredientes benéficos à saúde.

Com relação ao status desses documentos, observou-se na base de dados do *Espacenet*® que 40,4% dos documentos (n = 40) constam como concedidos, e 59,6% possuem o status de depositados (n = 59). Quando uma patente é concedida significa que a mesma atendeu às condições de patenteabilidade, que é inovadora e possui aplicabilidade industrial, e quando o pedido ainda não foi concedido significa que se encontra em análise e que, desde que não seja abandonado ou retirado, continuará sendo levado em consideração (DECONINCK *et al.*, 2018). A diferença entre documentos depositados e patentes concedidas pode ser justificada pelo tempo de resposta dos órgãos avaliadores, que pode variar de acordo com cada país. O Brasil apresenta um dos prazos mais longos para concessão de patentes, de aproximadamente 11 anos, enquanto países como Estados Unidos e Alemanha possuem prazos de 2,5 e 3 anos, respectivamente (SILVA *et al.*, 2019c). Além disso, é preciso que o depositante mantenha em dia os pagamentos das taxas necessárias para que os documentos continuem ativos nos sistemas dos escritórios responsáveis de cada país.

3.2.3 Inventores e depositantes

Dos 99 documentos de patentes, foram encontrados no total, 338 inventores, dos quais 18 possuem mais de uma patente. Os principais inventores na área de fermentados de frutas *low-alcohol* foram Jiang Wiling e Liu Minghan, que são inventores e depositantes de quatro patentes, enquanto Zhang Jun também se destaca constando como inventor de três patentes.

Quanto aos depositantes foi possível observar que 40% dos documentos de patente foram depositados por indústrias da área de produção de bebidas, já as instituições de ensino e pesquisa foram responsáveis por 38% dos depósitos enquanto que 22% dos depósitos foram realizados por pessoas físicas/inventores independentes, duas patentes foram depositadas por mais de uma instituição, através de parcerias entre instituições de ensino e indústrias.

Entre as indústrias, destacaram-se a *Sino-French Joint Venture Dynasty Winery*, responsável por 4 patentes, duas delas foram publicadas em 2008 e tratam de vinho rose (WANG *et al.*, 2008) e branco (WANG *et al.*, 2008) com teores alcoólicos entre 3 e 7%, sendo utilizada a tecnologia de interrupção da fermentação através da redução da temperatura do processo e adição de dióxido de enxofre. A terceira patente foi publicada em 2014 (JUN *et*

al., 2014) e segundo sua descrição trata-se de um vinho branco doce com baixo teor alcoólico (3 – 5%), com interrupção da fermentação através do rápido resfriamento até 0 °C, e posterior maturação da bebida em barrica de carvalho durante 3 a 18 meses. A patente mais recente da empresa foi publicada em 2015 (JUN *et al.*, 2015) e segue o mesmo princípio da anterior, mas possui aroma aprimorado através da imersão das uvas esmagadas por 6 a 12h para extração dos aromas da casca.

Das 33 instituições de ensino e pesquisa depositantes, 5 são responsáveis por dois documentos cada o *Shanghai Institute of Technology*, a *Beibu Gulf University*, a *Northwest A&F University*, a *Shaanxi Normal University*, e a *Tianjin Agricultural University*.

3.2.4 Perfil de patentes

No Quadro 2 estão apresentadas as principais informações das patentes depositadas nos últimos dois anos (2020 a 2022). Dentre os 14 documentos publicados nesse período, 5 utilizaram a uva e 3 a maçã como matéria-prima para a elaboração dos fermentados, tendo sido observado um comportamento semelhante nos documentos avaliados na prospecção científica. Esse é um resultado esperado uma vez que o vinho, produzido a partir da uva, é uma das bebidas mais consumidas no mundo e os seus consumidores estão cada vez mais alertas sobre os prejuízos que o consumo diário de álcool pode causar à saúde, levando a indústria a buscar alternativas que promovam a redução do teor alcoólico da bebida (JUNIOR *et al.*, 2019). Além disso, apesar da indústria da sidra ser menor que a do vinho, esse resultado demonstra a sua rápida taxa de crescimento, uma vez que a maçã já é tradicionalmente conhecida para produção de sidras e é um dos mercados que mais cresce nos países do Leste Europeu (AICV, 2022).

Segundo a Associação Europeia de Sidra e Vinhos de Frutas (AICV, 2020), a sidra é a bebida alcoólica obtida exclusivamente pela fermentação completa ou parcial de suco de maçã fresco ou concentrado, seu teor alcoólico pode variar entre 1,2 e 8,5% e já existem sidras com baixo teor alcoólico no mercado, variando entre 0,5 e 1,2% (GUINÉ *et al.*, 2021).

Quadro 2 – Documentos de patentes publicados no *Espacenet*® entre os anos de 2020 e 2022 sobre fermentados de frutas *low-alcohol*.

Título	Número da publicação	Tecnologia	Fruta(s)	Teor alcoólico
Preparation method of <i>Morinda citrifolia</i> enzyme fruit wine and morinda citrifolia enzyme fruit wine	CN114395460A	Mistura do fermentado láctico da fruta com vinho de uva desalcoholizado por osmose reversa	<i>Morinda citrifolia</i> e uva	0,5 – 7%
Brewing method of frozen fermented <i>low-alcohol</i> grape wine	CN114958510A	Temperatura de fermentação entre -6 e 0 °C	Uva	1%
<i>Siraitia grosvenorii</i> wine and preparation method thereof	CN114410411A	Concentração dos nutrientes do suco da fruta utilizando resina e nanofiltração, tempo de fermentação de 7 a 15 dias	<i>Siraitia grosvenorii</i>	2 – 5%
Fruit-flavor <i>low-alcohol</i> refreshing apple wine and preparation method thereof	CN113755289A	Utilização de levedura que possui baixa tolerância ao etanol	Maçã Fuji	4 – 5%
Yeast strain with low ethanol yield and high aroma and use thereof	CN113773977A	Cepa de levedura com baixa produção de etanol e aplicação em uma bebida	Kiwi	2,90%
Method for manufacturing of non alcohol wine and <i>low-alcohol</i> wine prepared thereby	KR20220152673A	Redução do teor alcoólico da bebida por destilação à vácuo sem deteriorar a cor e o sabor do fermentado	Preferencialmente uva, framboesa, mirtilo, aronia, romã ou maçã	0 – 10%
Production method of high-resveratrol <i>low-alcohol</i> fermented vitis davidii oral liquid	CN112812913A	Destilação do fermentado para remover álcool e metanol, mistura do destilado com resveratrol e mogrosídeo	Uva (<i>Vitis davidii</i>)	<1%
Fragrance-enhancing <i>Hanseniaspora opuntiae</i> and application thereof in <i>low-alcohol</i> sweet navel orange wine	CN113308388B	Adição de dióxido de enxofre para terminação da fermentação ao atingir o teor alcoólico estipulado	Laranja	7 – 8%
Dynamic brewing method of <i>low-alcohol</i> fruit wine	CN111961553A	Fermentação dinâmica utilizando placas onde a levedura é anexada, o suco de fruta utilizado é colocado em contato com essas placas para se obter o fermentado	O método pode ser aplicado a qualquer fruta, como exemplo os inventores usaram kiwi	4 – 5%

Brewing method of mulberry leaf and malt juice composite <i>low-alcohol</i> fruit wine	CN111394216A	Terminação da fermentação utilizando centrifugação ao atingir o teor alcoólico estipulado	Amora	5 – 7%
Production method of low-sugar <i>low-alcohol</i> mulberry wine	CN112430515A	Destilação a vácuo	Amora	<1 – 4%
Production method for <i>low-alcohol</i> -content yellow-peach wine	CN111363653A	Tempo de fermentação curto (24 – 12h)	Pêssego	4,4 – 5%
Method for continuously producing <i>low-alcohol</i> sweet wine and grape skin-residue fruit juice wine	CN111218358A	Mistura do suco da fruta no fermentado que foi elaborado a partir do líquido presente no resíduo gerado para obtenção do mesmo suco	Uva	3 – 7%
Preparation method of <i>low-alcohol</i> jujube wine and jujube pulp filtering device	CN111471557A	Mistura do suco concentrado de jujuba e do extrato da sua casca no fermentado	Jujuba (<i>Ziziphus jujuba</i>), maracujá e maçã	3 – 5%

Para a grande maioria das bebidas patenteadas recentemente o teor alcoólico também se manteve abaixo de 6%, demonstrando que a área da pesquisa científica e o setor tecnológico vêm apresentando objetivos semelhantes quanto à produção de fermentados de frutas com baixo teor alcoólico. Entretanto, devido à falta de legislações específicas, ainda existem divergências em ambos os setores quanto aos parâmetros que definem qual o limite máximo e mínimo de teor alcoólico na bebida para que a mesma seja considerada *low-alcohol*. Segundo Huang *et al.* (2022) fermentados de frutas que possuem entre 1 e 7% de álcool são classificados como *low-alcohol*. Entretanto, o *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis* de 2021 da Organização Internacional da Vinha e do Vinho faz referência às bebidas *low-alcohol* somente como sendo as que possuem teor alcoólico menor ou igual a 1,5%. Apesar disso, consta nesse mesmo documento um anexo com os parâmetros de validação relativos à medição do teor alcoólico dessas bebidas, onde são citadas amostras contendo até 6,5% de álcool (OIV, 2021).

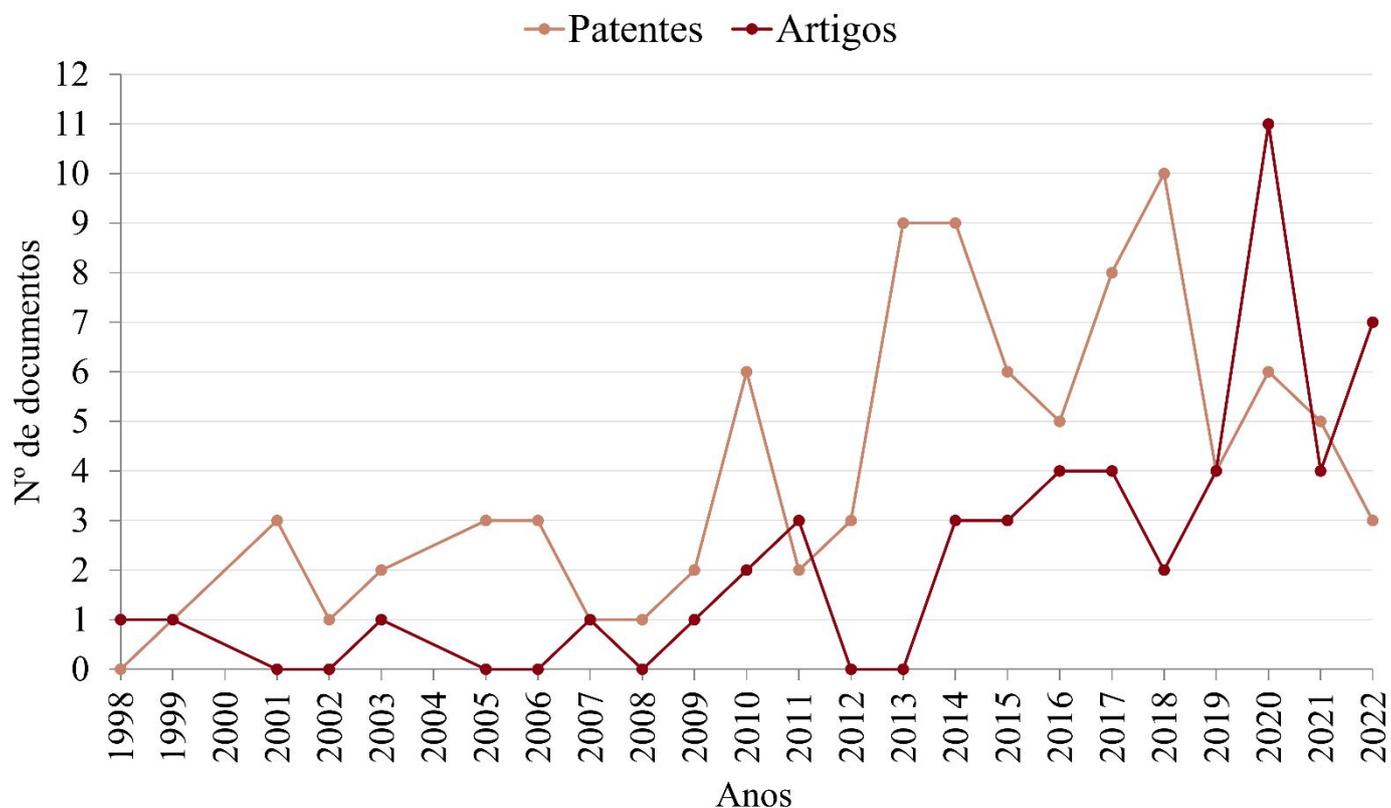
As definições disponíveis e facilmente encontradas nesta temática estão diretamente relacionadas às bebidas consideradas zero álcool ou desalcoholizadas. Segundo o Código de Leis dos Estados Unidos, são consideradas bebidas não alcóolicas as que contêm menos de 0,5% (v/v) de álcool na sua composição (US, 1988). No Brasil, a DIPOV – Divisão de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal menciona que o fermentado de uva desalcoholizado deve ter um teor alcoólico inferior a 0,5% (v/v), sendo submetido a um processo físico adequado para remoção do álcool após a fermentação tradicional.

Dentre as tecnologias utilizadas para a obtenção das bebidas patenteadas nesses documentos, destacam-se a interrupção da fermentação quando o produto atinge o teor alcoólico desejado, a destilação à vácuo, além de técnicas como a diluição, filtração por membranas, fermentações de curta duração ou a baixas temperaturas, assim como a utilização de leveduras não-*Saccharomyces* e leveduras com baixa tolerância ou baixa produção de etanol.

4 EVOLUÇÃO ANUAL DOS ARTIGOS E PATENTES

A evolução anual das publicações de artigos científicos e patentes sobre fermentados de frutas *low-alcohol* está exposta na Figura 4. A principal diferença a ser observada é a maior quantidade de patentes em relação aos artigos científicos. Além disso, enquanto a primeira patente foi publicada em 1973, o primeiro artigo na área data do ano de 1998, apresentando um intervalo de 25 anos, durante o qual foram publicados somente 6 documentos de patentes.

Figura 4 – Evolução anual dos artigos científicos e documentos de patentes na área de fermentados de frutas de baixo teor alcoólico.



É possível observar que os dois primeiros artigos sobre o assunto são do final da década de 90 (1998 e 1999), com um aumento gradual das publicações a partir de 2010, apresentando um número expressivo em 2020 ($n = 11$), provavelmente devido à crescente preocupação da população nos últimos anos em consumir bebidas mais saudáveis, o que estimulou a pesquisa sobre o tema. Por outro lado, em 2021, o número de publicações foi menor, o que pode ser explicado pelos impactos da pandemia de COVID-19 na área da produção científica mundial.

Já as patentes, também apresentaram um aumento significativo a partir de 2010, que pode estar relacionado ao avanço das tecnologias empregadas na produção de bebidas, com consequente aumento do interesse dos diversos setores da sociedade em desenvolver e proteger as tecnologias envolvendo bebidas de frutas com baixo teor alcoólico. Além disso, o alerta lançado em 2010 pela Organização Mundial da Saúde, através de uma resolução que abordava estratégias globais para reduzir o consumo excessivo de álcool (WHO, 2010), pode ter grande influência nesse aumento.

Por outro lado, a diferença na quantidade de patentes em comparação a de publicações científicas pode estar relacionada com o fato de que a tecnologia de fermentação alcoólica já é muito bem difundida na indústria e os produtos gerados por ela são mundialmente conhecidos, facilitando a invenção de novos produtos na área, enquanto as pesquisas científicas visam principalmente a caracterização desses produtos e avaliação dos seus potenciais benefícios à saúde, tópico que vêm ganhando cada vez mais atenção nos últimos anos.

5 PERSPECTIVAS PARA O MERCADO DE BEBIDAS *LOW-ALCOHOL*

O consumo nocivo de álcool é a causa de cerca de 5,3% das mortes anualmente em todo o mundo, o que representa uma média de 3 milhões de pessoas, o impacto negativo que o consumo de álcool pode causar à saúde está associado ao risco de desenvolvimento de transtornos mentais e comportamentais, doenças como cirrose hepática, câncer e doenças cardiovasculares, além do risco de lesões decorrentes de violência e acidentes de trânsito (WHO, 2022a). Por esses e outros motivos torna-se importante o desenvolvimento de fermentados com baixos teores alcoólicos, uma vez que os consumidores têm se preocupado cada vez mais com a saúde, fato evidenciado por dados que mostram uma diminuição no consumo de álcool em todo o mundo entre 2010 e 2019 (WHO, 2022b).

Além disso, os baixos impostos e tarifas relacionados ao teor de álcool reduzido nos fermentados de frutas chamam a atenção do setor comercial (YANG *et al.*, 2021). Isso porque a tributação específica do álcool, isto é, que calcula o valor do imposto com base na quantidade de etanol que uma bebida contém, do ponto de vista da saúde pública é a melhor opção para que os governos possam controlar e reduzir o consumo nocivo de álcool, pois essa medida aplicada em países de alta renda que têm alta prevalência de consumidores de álcool, por exemplo, pode incentivar o consumo de bebidas com baixo teor alcoólico em vez de bebidas com alto teor alcoólico (SORNPAISARN *et al.*, 2017; WHO, 2020).

Vale ressaltar que um dos poucos nichos de bebidas fermentadas com baixo teor alcoólico que já possui um mercado bem estabelecido é o da cerveja. Enquanto os fermentados produzidos a partir de frutas ainda estão em ascensão mundialmente, uma vez que esse tipo de bebida não é encontrada com tanta facilidade no mercado. Outro aspecto está relacionado à possibilidade de exploração de frutas nativas e exóticas, muitas vezes subutilizadas na indústria de bebidas, além de ser uma alternativa viável para contornar os

problemas de perdas pós-colheita, auxiliando na preservação de espécies, e possibilitando a criação de um fonte de renda para pequenos produtores.

Entretanto, durante a execução da pesquisa não foi encontrada uma regulamentação específica a nível mundial para os parâmetros de identidade e qualidade desse tipo de produto, sendo esse um tópico desafiador e que chama atenção, pois dificulta a padronização e comercialização dessas bebidas dentro de parâmetros legais.

6 CONCLUSÃO

Diante do exposto, conclui-se que nos âmbitos científico e tecnológico houve, nos últimos dez anos, um aumento no interesse pelas tecnologias envolvendo a produção de bebidas fermentadas de frutas com baixo teor alcoólico, principalmente devido ao apelo saudável que essas bebidas possuem. O principal país detentor dessas tecnologias e da maior produção científica é a China. O Brasil não possui nenhuma patente depositada e nenhum artigo publicado nessa área, apesar de ser o terceiro país no ranking mundial de produção de frutas, ressaltando a importância do incentivo à pesquisa, inovação e tecnologia, uma vez que o número de depósitos de patentes e de produção científica estão relacionados com desenvolvimento econômico do país.

Entre as principais matérias-primas encontradas nos artigos e nas patentes podem ser citadas frutas já utilizadas tradicionalmente para produção de fermentados alcoólicos como a uva e a maçã. Porém, frutas como kiwi, amora e pera também estavam entre as mais citadas, demonstrando o interesse dos inventores e cientistas em aproveitar frutas não convencionais para trazer inovação ao mercado de bebidas *low-alcohol*.

**CAPÍTULO 3 – INFLUÊNCIA DE TRATAMENTO ENZIMÁTICO ASSISTIDO POR
ULTRASSOM NAS PROPRIEDADES FERMENTATIVAS E NO POTENCIAL
BIOATIVO DO FERMENTADO DE UVAIA (*EUGENIA PYRIFORMIS* CAMBESS)
COM BAIXO TEOR ALCOÓLICO**

RESUMO

Nos últimos anos os fermentados de frutas de baixo teor alcoólico vêm ganhando espaço entre os consumidores e cientistas da área. A uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess), nativa da região Sul do Brasil apresenta grande potencial de aplicação como matéria-prima para esse tipo de bebida, além disso, visando otimizar o processo fermentativo e a qualidade do produto, tratamentos utilizando enzima e ultrassom podem ser aplicados nas etapas que antecedem a fermentação. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de diferentes tratamentos utilizando enzima e ultrassom na composição química do fermentado de uvaia de baixo teor alcoólico, através do acompanhamento da fermentação, da análise de pH, cor, açúcares, ácidos orgânicos, compostos fenólicos totais, individuais e atividade antioxidante dos mostos e fermentados, além de avaliar os efeitos da digestão gastrointestinal *in vitro* nas propriedades bioativas dos fermentados. Os tratamentos com enzima e o enzimático assistido por ultrassom apresentaram maior liberação de CO₂ no primeiro dia de fermentação (2,16 e 2,17g) e maior teor de sólidos solúveis totais nos mostos e fermentados (6 e 5,9 °Brix nos mostos e 3 °Brix em ambos os fermentados). A composição de açúcares e ácidos orgânicos foi fortemente influenciada pelo processo fermentativo. O fermentado tratado com enzima e ultrassom apresentou os maiores teores de ácido málico (1316,92 ± 2,70 mg/100mL), de compostos fenólicos totais (337,03 ± 8,71 mg EAG/L) e atividade antioxidante (73,38 ± 2,78 µM Trolox/100mL para FRAP e 300,90 ± 19,98 para ABTS), além de menor teor alcoólico (3,71%), além de apresentar forte relação positiva com a atividade de inibição do radical ABTS, com flavonoides e ácidos fenólicos como o *p*-cumárico e o ácido gálico. Na digestão *in vitro* os tratamentos com enzima e ultrassom, separadamente, apresentaram menor diminuição dos compostos fenólicos totais, já esses tratamentos de forma combinada aumentaram em 50% a atividade antioxidante (ABTS), e apresentaram teores expressivos de ácido *p*-cumárico na fase intestinal. Este trabalho é pioneiro na elaboração do fermentado de uvaia de baixo teor alcoólico utilizando tratamentos pré-fermentativos com enzima e ultrassom, os quais aplicados simultaneamente otimizaram o processo fermentativo e as características químicas da bebida, trazendo inovação para o mercado e promovendo a valorização das frutas regionais do Sul do Brasil.

Palavras-chave: Uvaia; Fermentação; Enzima; Ultrassom; Baixo teor alcoólico.

1 INTRODUÇÃO

As bebidas alcoólicas têm sido produzidas há milhares de anos, sendo o vinho e a cerveja as mais populares em todo o mundo. No entanto, recentemente tem aumentado a demanda da sociedade e o interesse da indústria pela produção de bebidas obtidas a partir de diferentes substratos (PATIL *et al.*, 2021). Algumas motivações para esse crescente interesse estão relacionadas à oportunidade de aproveitamento dos excedentes das produções agrícolas, a utilização de subprodutos agroindustriais, além da exploração do potencial de matérias-primas subutilizadas pela indústria, como é o caso de frutas exóticas, nativas, e as consideradas não convencionais (LOPES *et al.*, 2019).

Os fermentados alcoólicos de frutas não convencionais estão ficando mais populares entre os consumidores por possuírem aromas únicos e sabores diferenciados, apresentando geralmente um menor teor alcoólico em comparação aos vinhos (MERLINO *et al.*, 2021). Além disso, o interesse por bebidas com baixo teor alcoólico também vem crescendo, uma vez que a população está ficando cada vez mais consciente dos malefícios que o consumo de álcool pode causar à saúde. Assim, alternativas de bebidas com baixo teor alcoólico, também denominadas *low-alcohol*, obtidas por processos fermentativos convencionais e/ou técnicas de desalcoholização, têm despertado o interesse dos consumidores pois contêm naturalmente compostos bioativos e proporcionam vantagens à saúde devido à menor ingestão calórica, menor risco de desenvolvimento de doenças relacionadas ao consumo de álcool, assim como menor risco de envolvimento em acidentes (LIGUORI *et al.*, 2018). Pesquisas científicas nessa área ainda são incipientes, mas alguns trabalhos têm relatado a utilização de diferentes espécies de frutas para a elaboração de fermentado de frutas com baixo teor de álcool, como por exemplo o morango (YANG *et al.*, 2021), o kiwi (HUANG *et al.*, 2022), a laranja (CERRILLO *et al.*, 2019) a maçã e a pera (YANG *et al.*, 2022).

Nesse sentido, o Brasil apresenta grande potencial de elaboração de fermentados de frutas com baixo teor alcoólico, pois apresenta uma elevada diversidade de espécies frutíferas subexploradas (ANUNCIACÃO *et al.*, 2019). A Região Sul do Brasil é detentora de uma grande biodiversidade vegetal (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011), com destaque para o bioma da Mata Atlântica, caracterizado por apresentar uma riqueza de espécies, incluindo diversas frutíferas nativas (CARVALHO; CONTE-JUNIOR, 2021). No entanto, apesar dessa riqueza e do potencial que ela representa, as frutas nativas ainda são pouco conhecidas e utilizadas comercialmente, sendo fundamental intensificar as pesquisas em busca de uma maior valorização desse patrimônio genético e cultural.

Dentre as frutas nativas encontradas nesse bioma, a uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess), pertencente à família Myrtaceae, vem despertando o interesse dos pesquisadores, devido às suas características sensoriais exóticas e potenciais benefícios à saúde (DACOREGGIO *et al.*, 2021; SGANZERLA; SILVA, 2022). Essa fruta tem sido amplamente reconhecida por sua elevada atividade antioxidante, além de quantidades consideráveis de pigmentos, vitaminas, minerais e compostos fenólicos (WANDERLEY *et al.*, 2022a; FARIAS *et al.*, 2020b; NETO; SILVA; DANTAS, 2020; SCHMIDT *et al.*, 2019). Nos últimos anos tem se notado o crescimento de pesquisas que relatam a aplicação da polpa de uvaia no desenvolvimento de novos produtos, como na elaboração de hidroméis (WANDERLEY *et al.*, 2022b), iogurtes zero lactose (BIANCHINI *et al.*, 2020a), na formulação de néctar misto de laranja e uvaia (SILVA *et al.*, 2019b), na elaboração de sorvete de uvaia fortificado com ferro (GIAROLA; PEREIRA; RESENDE, 2015) e na aplicação das cascas e sementes como corantes em produtos de panificação (AVELAR *et al.*, 2019).

Dentro deste contexto, o processo fermentativo torna-se uma alternativa para o aproveitamento da uvaia, pois a partir desse processo bioquímico pode-se prolongar a vida útil do produto, bem como auxiliar na extração de compostos bioativos (SARANRAJ; SIVASAKTHIVELAN; NAVEEN, 2017). Além disso, os frutos de uvaia apresentam um teor médio de sólidos solúveis totais (SST) entre 4,0 e 6,0 °Brix (SGANZERLA *et al.*, 2019), uma condição desejável para a elaboração de fermentado de frutas com baixo teor alcoólico. Algumas estratégias podem ser empregadas na etapa pré-fermentativa a fim de otimizar o processo e melhorar a qualidade do produto, como o tratamento com enzimas pectinolíticas, que auxiliam a extração e a clarificação do mosto, bem como a liberação de compostos fenólicos, importantes para as propriedades funcionais dos fermentados (NINGA *et al.*, 2021; JIANG; LU; LIU, 2020b).

Outro tratamento que vem sendo empregado na etapa pré-fermentativa é o ultrassom, visando melhorar o crescimento das leveduras e a extração de compostos bioativos (YU *et al.*, 2021). No suco de *Berberis amurensis* Rupr., uma espécie presente principalmente na China, o tratamento enzimático foi responsável pela maior liberação de compostos fenólicos enquanto a sonicação provocada pelo ultrassom aumentou a concentração da antocianina majoritária presente no suco em 20%, afetando diretamente a percepção de cor da bebida (RADZIEJEWSKA-KUBZDELA *et al.*, 2020). O uso do ultrassom também se mostrou eficaz no aumento de compostos bioativos e na atividade antioxidante do suco combinado de uva e cenoura logo após o tratamento e durante o armazenamento por 90 dias (NADEEM *et al.*, 2018). Além disso, o tratamento com enzimas pectinolíticas assistido por ultrassom

promoveu o aumento de rendimento, do teor de SST e a clarificação de suco de banana (BORA; HANDIQUE; SIT, 2017).

Assim, neste trabalho hipotetizamos que a utilização de tratamentos pré-fermentativos com pectinase e ultrassom auxilia a condução adequada do processo fermentativo da uvaia, bem como colabora para a extração de compostos fenólicos, podendo aumentar a sua bioacessibilidade e agregando valor a essa fruta nativa brasileira subutilizada. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência do pré-tratamento enzimático com pectinase, assistido por ultrassom, nas propriedades fermentativas e no potencial bioativo de fermentado de uvaia com baixo teor alcoólico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 PROCESSAMENTO DA POLPA DE UVAIA

Os frutos de uvaia foram adquiridos de produtores locais e coletados em fevereiro de 2022 na cidade de Urupema (Santa Catarina, Brasil) (28,09195° S; 49,93676° O). Para obtenção das polpas os frutos foram higienizados com hipoclorito de sódio (100 mg/L) e lavados em água corrente, em seguida as sementes foram separadas manualmente e a fruta foi triturada em uma centrífuga de alimentos (Britânia, Paraná, Brasil) e peneirada. As amostras de uvaia foram então armazenadas em sacos de polietileno e mantidas congeladas (-18 °C) até o momento das análises.

2.2 ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS FERMENTADOS DE UVAIA COM BAIXO TEOR ALCOÓLICO

2.2.1 Preparação dos mostos e condução do processo fermentativo

Os mostos foram elaborados em duplicata em quatro formulações diferentes de acordo com a metodologia proposta por Jiang, Lu e Liu (2020b), com modificações: 1) controle (C) (sem pré-tratamento enzimático e sem ultrassom), 2) com pré-tratamento enzimático e sem ultrassom (E) 3) sem pré-tratamento enzimático e com ultrassom (U), 4) com tratamento enzimático e com ultrassom (EU). Em todos os mostos foi adicionado metabissulfito de potássio (50 mg/L) (Neon Comercial, Suzano, Brasil) e cultura comercial de *Saccharomyces bayanus* (Red Star Premier Blanc, Langerbruggekaai, Bélgica) (1 g/L). O

tratamento enzimático foi realizado com pectinase de *Aspergillus aculeatus* (Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, E.U.A) na concentração de 0,1% (v/v), a 40 °C por 1 hora. O tratamento de ultrassom foi realizado em baixa frequência (25 kHz) (Unique, MaxiClean 1650A, Brasil), também a 40 °C, por 1 hora (DAI *et al.*, 2017) . Ao final dos tratamentos a enzima foi inativada a 97 °C por 30 segundos e resfriada em banho de gelo (LIU *et al.*, 2018; MA *et al.*, 2015). Antes de iniciar a fermentação, uma porção de cada amostra dos mostos foi retirada para análises posteriores, sendo centrifugada a 4000 rpm (1968 g) por 10 minutos, três vezes (Hermle Z 200 A, Wehingen, Alemanha), e filtrada a vácuo com papel filtro quantitativo.

As fermentações para cada tratamento foram conduzidas em duplicata, utilizando fermentadores de vidro em incubadora BOD (TE-371, Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 20°C. A cinética da fermentação foi estimada monitorando diariamente os valores de sólidos solúveis totais (SST), em refratômetro digital (Hanna Instruments HI96801, São Paulo, Brasil), e a quantidade de CO₂ liberada, a partir da pesagem dos fermentadores até massa constante (Yang *et al.*, 2021). Ao final da fermentação os fermentados foram refrigerados e posteriormente receberam o mesmo tratamento dos mostos sendo centrifugados, filtrados e mantidos sob congelamento (-18 °C) até o momento das análises.

2.2.2 Determinação do pH, açúcares e ácidos orgânicos

A avaliação do pH, dos açúcares (glicose, frutose e sacarose) e dos ácidos orgânicos (maleico, malônico, fumárico, tartárico, fórmico, cítrico, málico, glicólico, láctico, glucônico, succínico, glutárico, acético, propriônico) foi realizada tanto nos mostos (antes da fermentação) quanto nos fermentados (após a fermentação).

O pH foi determinado utilizando um potenciômetro (Tec-7, Tecnal, Piracicaba, Brasil). A determinação dos açúcares foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Rizelio *et al.*, (2012), com modificações. As amostras tratadas (centrifugadas e filtradas) foram submetidas a centrifugação novamente no momento da análise a 9,861 g por 10 minutos (MiniSpin® plus). Após a centrifugação, alíquotas do sobrenadante foram diluídas na proporção adequada para cada amostra e então submetidas a análise. Os resultados foram expressos em mg/mL.

Para a determinação dos ácidos orgânicos, as amostras foram diluídas na proporção de 9:1 (v/v) com padrão interno ácido glioxílico (2 mmol/L) e a análise foi realizada de acordo com Brugnerotto *et al.*, (2019). Os resultados foram expressos em mg/100mL. Em

ambas as análises foi utilizado um sistema de eletroforese capilar (modelo 7100, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, E.U.A.), equipado com detector de arranjo de diodos e software HP ChemStation® (rev A.06.01) para aquisição e tratamento dos dados. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.2.3 Análise de cor

A análise de cor dos mostos e dos fermentados de uvaia foi determinada em um colorímetro (Minolta Chroma Meter CR-400, Osaka, Japão), ajustado para operar com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°, previamente calibrado. A escala de cor CIELab foi usada para medir os parâmetros L*, a* e b*. Onde o parâmetro L* é a luminosidade (0 = preto e 100 = incolor), a* mede os tons de verde (-a*) e vermelho (+a*) e b* determina os tons de azul (-b*) e amarelo (+b*). A cromaticidade (C*) indica a saturação global da cor, enquanto o ângulo h* define as tonalidades em avermelhadas, esverdeadas, amareladas e azuladas (PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2012; CANUTO *et al.*, 2010). As leituras foram realizadas em cubeta de vidro, em triplicata.

2.2.4 Quantificação do etanol e demais metabólitos da fermentação

A determinação do teor alcoólico e dos metabólitos da levedura foi realizada somente nas amostras de fermentado através de um cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC-2010 plus (Schimadzu, Japão) acoplado com um detector de ionização de chamas (FID) (LIU *et al.*, 2018). Os compostos analisados foram etanol, metanol, 1-propanol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-butanol, glicerol e acetato de etila, os quais foram quantificados usando curvas de calibração de padrões externos em diferentes concentrações. As amostras foram injetadas, em triplicata, em uma coluna HP-INNOWax (30 m x 0,25mm i.d., 0,25um, Hewlett-Packard, Avondale, PA). As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas para 220 °C e 280 °C, respectivamente. A rampa de aquecimento iniciou com a coluna a 40 °C por seis minutos, seguida de um aumento de 15 °C/min até 240 °C. O gás carreador utilizado foi o hidrogênio a 3 mL/min.

2.2.5 Determinação dos compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro*

As amostras dos mostos e fermentados (centrifugados e filtrados) foram usados como extratos. O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965) em espectrofotômetro UV-VIS (modelo U-1800, Hitachi, Japão). Os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico (EAG) por litro de amostra.

A capacidade antioxidante foi determinada pelos métodos de atividade de captura do radical livre ABTS⁺ (RE *et al.*, 1999) e pelo potencial antioxidante redutor férrico (FRAP) (BENZIE; STRAIN, 1996). Os resultados dos ensaios de ABTS e FRAP foram expressos em μ M equivalente de Trolox (TEAC) por 100 mL de amostra.

2.2.6 Avaliação dos compostos fenólicos individuais

Para quantificação dos polifenóis individuais as amostras de mostos e fermentados já centrifugadas e filtradas foram submetidas novamente a filtração em filtro de seringa de 0,22 μ m com membrana de politetrafluoretileno (PTFE) (UNIFIL), e armazenadas em vials de 2 mL sob refrigeração, para posterior análise.

A análise de polifenóis individuais foi realizada por cromatografia líquida com ionização por eletrospray e espectrometria de massa em tandem (LC-ESI-MS/MS) em um cromatógrafo Agilent 1290 (Agilent Technologies, Wilmington, DE, EUA) acoplado a um espectrômetro de massa com quadrupolo híbrido de armadilha iônica QTRAP 5500 (Sciex, Foster City, CA) equipado com uma fonte de ionização por eletrospray (ESI). A separação dos fenólicos foi realizada em uma coluna VENUSIL C18 (100 mm x 2,1 mm; diâmetro de partícula de 3 μ m; Bona Angela Technologies, Wilmington, DE, EUA) com uma vazão de 300 μ L/min, e com injeção de 5 μ L para todas as soluções (padrão e amostra). A fase móvel foi composta pelo solvente A (água com 0,1% de ácido fórmico) e solvente B (acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico). O gradiente para fase móvel foi programado da seguinte forma: 98% A (v/v) de 0 a 4,0 min, 98-80 A (v/v) de 4,0 a 7,0 min, 80-10% A (v/v) de 7,0 a 14,0 min, 10% A (v/v) de 14,0 a 15,0 min, 10-98% A (v/v) de 15,0 a 17,0 min.

A análise por espectrometria foi realizada no modo Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM) seguindo os seguintes parâmetros: voltagem do spray de íons (IS): 5500 V; cortina de gás: 25 psi; gás nebulizador (GS1) e gás auxiliar (GS2): 55 psi; temperatura da fonte: 400 °C. Nitrogênio foi usado como gás de nebulização (SERAGLIO *et al.*, 2016).

2.2.7 Simulação gastrointestinal *in vitro* e bioacessibilidade dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante

A simulação gastrointestinal *in vitro* foi realizada nos fermentados de uvaia conforme protocolo descrito por Minekus *et al.*, 2014. Consistindo em três fases, denominadas oral, gástrica e intestinal, com uma amostra controle, sem a presença das enzimas α -amilase, pepsina, pancreatina ou sais biliares. No final de cada fase da digestão, as amostras foram coletadas, filtradas e armazenadas para avaliação da capacidade antioxidante e dos compostos fenólicos totais e individuais, de cada fração, conforme descrito nas subseções 2.2.5 e 2.2.6.

O efeito da digestão *in vitro* na composição fenólica dos fermentados de uvaia foi avaliado pelo índice de bioacessibilidade, calculado pela Equação 1 (DANTAS *et al.*, 2019).

$$(1) \quad \text{IB} \quad (\%) \quad = \quad \frac{A}{B} \times 100$$

Onde A é a concentração dos compostos fenólicos totais, individuais e a atividade antioxidante da fase intestinal e B é a concentração respectiva desses parâmetros nos fermentados não digeridos.

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados foi realizada no software STATISTICA versão 7.0 (StatSoft, Inc., São Caetano do Sul, SP). A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para identificar as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras, sendo estas diferenças avaliadas através do teste de *Tukey* e *t* quando adequado.

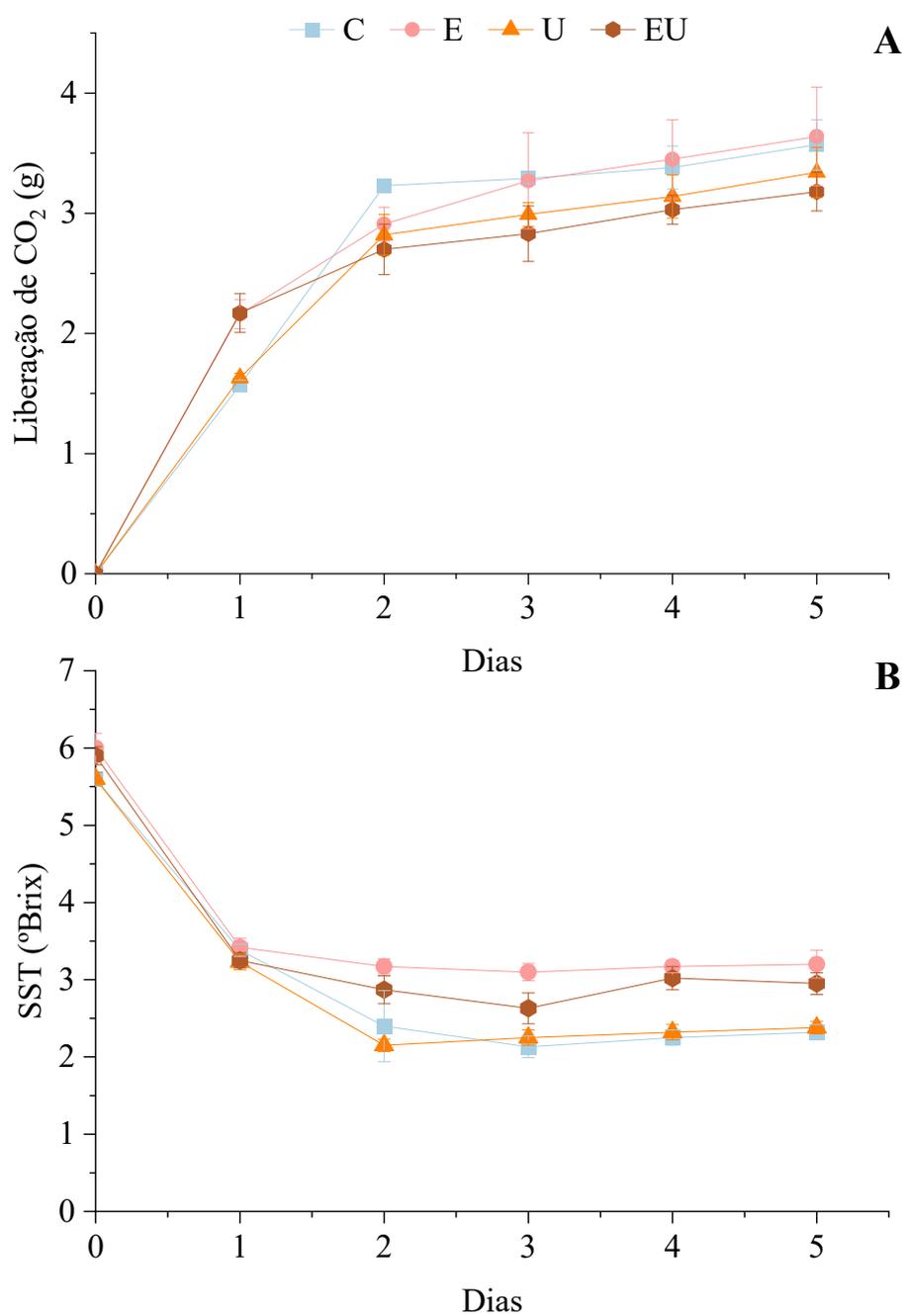
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ACOMPANHAMENTO DO PROCESSO FERMENTATIVO

Os dados da cinética de fermentação da uvaia estão apresentados na Figura 1, através da produção de CO₂ (A) e do teor de sólidos solúveis totais (SST) (B). Foi possível observar

que no primeiro dia de fermentação houve uma grande liberação de CO₂ em todas as amostras, acompanhada de um decréscimo significativo ($p < 0,05$) no teor de SST. As amostras que foram tratadas com pectinase (E e EU) apresentaram um comportamento semelhante para liberação de CO₂, com uma maior ($p < 0,05$) produção no primeiro dia de fermentação (2,16 e 2,17 g, respectivamente), a partir do segundo dia de fermentação não houve diferença ($p > 0,05$) na liberação de CO₂ para todas as amostras.

Figura 1 – Produção de CO₂ (A) e teor de sólidos solúveis totais (B) ao longo dos 5 dias de fermentação da uvaia.



Fonte: Próprio autor (2022). C = fermentado controle (sem tratamento); E = fermentado tratado com enzima; U = fermentado tratado com ultrassom; EU = fermentado tratado com enzima e ultrassom. Dados representados pela média \pm desvio padrão das duplicatas da fermentação (n = 2).

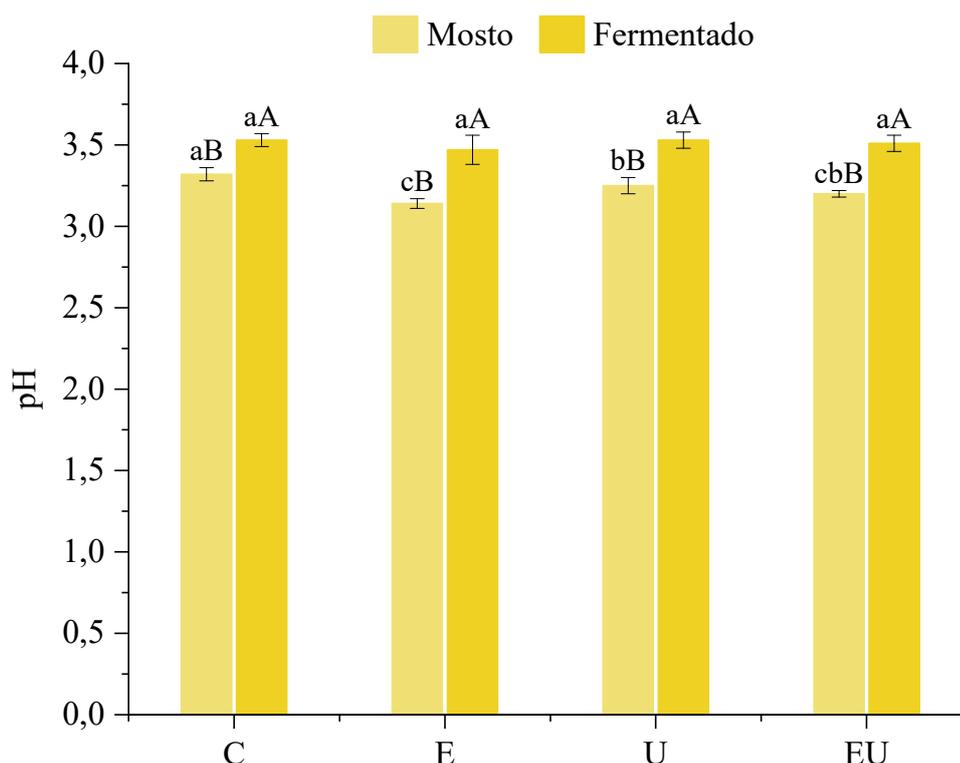
A fermentação foi finalizada no quinto dia de processo, quando tanto a produção de CO₂, quanto o teor de sólidos solúveis totais de todas as amostras encontravam-se estáveis. No dia 0, os mostos de uvaia que foram tratados com a enzima pectinase (E e EU) apresentaram maiores teores de SST (6,0 e 5,9 °Brix, respectivamente) sendo significativamente maior ($p < 0,05$) em comparação com as amostras C e U (5,6 e 5,6 °Brix, respectivamente), comportamento esse que se manteve até o final da fermentação, com uma diminuição de cerca 50% nesses valores: 3,2 e 3,0 °Brix para E e EU, e 2,3 e 2,4 para C e U. Resultado semelhante foi observado por Jiang *et al.* (2020b) em fermentados de pitaya adicionados de pectinase, onde o valor de SST reduziu 42% em 14 dias de fermentação, passando de 20,4 para 8,7 °Brix.

A produção de CO₂ com conseqüente diminuição do teor de SST é um comportamento explicado pelo mecanismo de ação das leveduras em anaerobiose, que metabolizam a fonte de carbono disponível no mosto (frutose, glicose, sacarose) até transformá-la em duas moléculas de piruvato que posteriormente serão convertidas em dois acetaldeídos e dois CO₂ pela ação da enzima piruvato descarboxilase, para então reduzir o acetaldeído a etanol, através da enzima álcool desidrogenase (VENTURINI FILHO, 2016).

3.2 ANÁLISES DE PH, AÇÚCARES E ÁCIDOS ORGÂNICOS

Na Figura 2 estão apresentados os valores de pH dos mostos e fermentados de uvaia. A uvaia é uma fruta considerada ácida, que possui um pH naturalmente baixo, variando entre 2,96 e 3,74 (SILVA *et al.*, 2022). Foi possível observar que entre as amostras de mosto avaliadas, a controle apresentou o maior ($p < 0,05$) valor de pH (3,32) em comparação àquelas tratadas com enzima e/ou ultrassom, enquanto os valores de pH entre os fermentados se mantiveram estatisticamente iguais.

Figura 2 – Valores de pH dos mostos e fermentados de uvaia.



Fonte: Próprio autor (2022). C = amostra controle (sem tratamento); E = amostra tratada com enzima; U = amostra tratada com ultrassom; EU = amostra tratada com enzima e ultrassom. Dados representados pela média \pm desvio padrão das duplicatas da fermentação ($n = 6$). ^{a, b, c} letras minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre tratamentos, para mostos e fermentados separadamente. ^{A, B} letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre mosto e fermentado para cada tratamento.

Por outro lado, ao longo da fermentação foi observado um leve aumento do pH para todas as amostras ($p < 0,05$), com valores médios finais em torno de 3,51. De acordo com Saranraj, Sivasakthivelan e Naveen, (2017) o pH afeta diretamente a estabilidade das bebidas fermentadas, sendo que valores de pH abaixo de 3,5 inibem o crescimento da maioria dos microrganismos no meio, favorecendo apenas o desenvolvimento de culturas fermentativas.

Quanto a composição de açúcares dos mostos e fermentados (Tabela 1), independente dos tratamentos realizados nos mostos, foram observados valores mais expressivos para a sacarose, seguidos da frutose e glicose, respectivamente. Um perfil de açúcares diferente foi observado por Wanderley *et al.* (2022a) em polpas de uvaia que apresentavam como açúcar majoritário a frutose. Diferentes composições em açúcares

também foram encontradas em seis diferentes acessos de uvaia, sendo que três variedades possuíam a sacarose como açúcar majoritário enquanto as outras três apresentaram a frutose como o açúcar predominante. (SILVA *et al.*, 2019a). De acordo com Jawad *et al.* (2020), a variação dos teores de açúcares em frutas da mesma espécie, pode estar relacionada com os estágios de maturação dos frutos, local de cultivo, além de condições ambientais e fitohormônios.

Tabela 1 – Teor de açúcares individuais nos mostos e fermentados de uvaia (mg/mL).

Amostra	Frutose	Glicose	Sacarose	
Mosto	C	25,44 ± 1,33 ^a	17,54 ± 0,65 ^a	51,09 ± 3,32 ^{ab}
	E	27,67 ± 2,01 ^a	17,72 ± 1,60 ^{aA}	43,22 ± 4,45 ^b
	U	27,07 ± 2,57 ^a	19,03 ± 1,83 ^a	54,84 ± 4,88 ^a
	EU	27,77 ± 3,63 ^a	18,28 ± 1,50 ^{aA}	44,98 ± 3,56 ^b
Fermentado	C	N.D	N.D	<0,022*
	E	N.D	8,02 ± 0,74 ^{ab}	N.D
	U	N.D	N.D	<0,022*
	EU	N.D	7,25 ± 0,99 ^{ab}	N.D

Fonte: Próprio autor (2022). C = amostra controle (sem tratamento); E = amostra tratada com enzima; U = amostra tratada com ultrassom; EU = amostra tratada com enzima e ultrassom. Dados representados pela média ± desvio padrão das duplicatas da fermentação (n = 6). ^{a, b} diferentes letras minúsculas representam diferença significativa (p < 0,05) entre os tratamentos. ^{A, B} diferentes letras maiúsculas representam diferença significativa (p < 0,05) entre mostos e fermentados. *Limite de detecção do método. N.D = não detectado.

Os valores de glicose e frutose não variaram entre os tratamentos dos mostos de uvaia. No entanto, para a amostra tratada com ultrassom observou-se um maior valor para a sacarose, além disso, foi possível constatar em todas as amostras, que tanto a frutose quanto a sacarose foram consumidas por completo durante a fermentação, enquanto valores residuais de glicose foram detectados nos fermentados que receberam o tratamento enzimático (EF e EUF). Resultado esse que está de acordo com o exposto anteriormente, uma vez que ambas as amostras apresentaram um teor de SST mais expressivo. Assim, de acordo com Ozyilmaz e Gunay (2023) o aumento da concentração de açúcares redutores em bebidas se dá devido a degradação enzimática, que envolve a clivagem dos substratos utilizados pela pectinase, nesse caso a pectina, presente na parede celular das plantas.

Além disso, segundo Venturini Filho (2016), para que a sacarose seja metabolizada pela levedura é necessário que ela produza a enzima invertase para ocorrer a hidrólise desse açúcar e a liberação de uma molécula de glicose e uma de frutose no meio. Em uma pesquisa

conduzida por Satora *et al.* (2018) foi observado que a levedura *Saccharomyces bayanus* (mesma empregada neste estudo) consumiu toda a frutose presente em mostos de maçã, restando traços de glicose e sacarose no meio. Segundo Kelanne *et al.* (2020), as diferenças na preferência pelo consumo de glicose ou frutose são resultantes de diferentes expressões gênicas entre as cepas de leveduras e suas espécies.

Os resultados dos ácidos orgânicos alifáticos estão apresentados na Tabela 2, dos 14 ácidos investigados 10 foram identificados nas amostras de mosto e fermentado. Observa-se que o ácido málico foi o majoritário em todas as amostras, uma vez que esse ácido é relatado como majoritário em frutos de uvaia (WANDERLEY *et al.*, 2022a; SILVA *et al.*, 2019a). Além disso, o mosto tratado com enzima apresentou quantidades significativamente maiores (2252,28 mg/100mL) de ácido málico. Já para os fermentados, o tratamento realizado com enzima e ultrassom foi o que apresentou maior ($p < 0,05$) concentração de ácido málico (1316,92 mg/100mL). De acordo com Li *et al.* (2021) e Marques *et al.* (2020) este ácido apresenta potenciais benefícios à saúde, como a regulação do pH urinário, proteção do sistema cardiovascular, e inibição da enzima α -glicosidase, além de promover a qualidade sensorial, estabilidade física, bioquímica e microbiana aos fermentados alcoólicos de fruta.

Em relação aos teores de ácido cítrico, observou-se que o tratamento enzimático, e o tratamento enzimático com ultrassom contribuíram para o aumento ($p < 0,05$) deste ácido nos mostos. No entanto, o teor de ácido cítrico na amostra de fermentado com o tratamento enzimático reduziu significativamente ($p < 0,05$), resultados semelhantes foram observados em fermentados de kiwi (HUANG *et al.*, 2022). Esse resultado relaciona-se ao fato de que o ácido cítrico pode ser metabolizado durante a fermentação, e conseqüentemente, sua concentração pode variar após o processo fermentativo (YE; YUE; YUAN, 2014).

Também foi possível observar que o ácido glicólico foi detectado apenas nas amostras (mostos e fermentados) com tratamento enzimático, o que sugere que a enzima pectinase auxiliou na liberação deste ácido no meio. Por outro lado, o ácido succínico e o acético foram quantificados após a fermentação da uvaia, com valores mais expressivos ($p < 0,05$) na amostra de fermentado submetida ao tratamento com pectinase e ultrassom. O ácido succínico é um metabólito formado pelas leveduras durante o processo fermentativo, sendo que a sua formação está relacionada com a transformação do ácido málico e decomposição de aminoácidos (YE; YUE; YUAN, 2014). Já o ácido acético é um metabólito fermentativo produzido durante a síntese do etanol e apresenta uma forte relação com a temperatura de fermentação, uma vez que há relatos de maior formação de ácido acético em vinhos fermentados em temperaturas superior a 15 °C (DU *et al.*, 2022). No entanto, os teores de

ácido acético encontrados nos fermentados de uvaia foram inferiores aos relatados em outros fermentados de frutas (LU *et al.*, 2017; WEI *et al.*, 2020).

Ácidos orgânicos (mg/100mL)	Mostos				Fermentados			
	C	E	U	EU	C	E	U	EU
Maleico	N.D	N.D	N.D	N.D	10,07 ± 0,48 ^b	15,57 ± 0,52 ^a	N.D	13,75 ± 0,86 ^a
Tartárico	10,11 ± 0,08 ^{ba}	14,43 ± 0,41 ^a	N.D	8,98 ± 0,22 ^{cb}	9,30 ± 0,25 ^{ba}	<LOQ	N.D	14,51 ± 0,01 ^{aa}
Fórmico	3,26 ± 0,18 ^{aa}	2,92 ± 0,08 ^{aa}	N.D	3,33 ± 0,17 ^{aa}	2,11 ± 0,07 ^{bb}	3,06 ± 0,17 ^{aa}	N.D	2,88 ± 0,08 ^{aa}
Cítrico	8,44 ± 0,04 ^{ba}	12,87 ± 0,01 ^a	N.D	12,81 ± 0,02 ^{aa}	8,73 ± 0,41 ^{aa}	<LOQ	N.D	11,50 ± 0,71 ^{ba}
Málico	1790,37 ± 18,34 ^{ba}	2252,28 ± 77,18 ^{aa}	1072,84 ± 10,16 ^{db}	1543,39 ± 23,14 ^{ca}	1176,06 ± 9,95 ^{bb}	1209,22 ± 38,26 ^{bb}	1167,71 ± 10,5 ^{ba}	1316,92 ± 2,70 ^{ab}
Glicólico	N.D	32,54 ± 0,16 ^{aa}	N.D	32,60 ± 1,10 ^{ab}	N.D	32,70 ± 0,34 ^{ba}	N.D	36,70 ± 0,09 ^{aa}
Lático	1,82 ± 0,03 ^B	<LOQ	N.D	<LOQ	3,95 ± 0,13 ^A	<LOQ	N.D	<LOQ
Glucônico	5,65 ± 0,06 ^B	<LOQ	N.D	<LOQ	7,49 ± 0,10 ^A	<LOQ	N.D	<LOQ
Succínico	N.D	<LOQ	N.D	<LOQ	26,23 ± 1,06 ^b	26,77 ± 1,57 ^b	24,26 ± 0,95 ^b	36,09 ± 0,24 ^a
Acético	N.D	<LOQ	N.D	1,39 ± 0,03 ^B	10,44 ± 0,57 ^b	12,62 ± 0,71 ^b	10,99 ± 0,33 ^b	15,47 ± 0,52 ^{aa}

Tabela 2 – Ácidos orgânicos alifáticos identificados no mosto e no fermentado de uvaia (mg/100mL).

Fonte: Próprio autor (2022). C = amostra controle (sem tratamento); E = amostra tratada com enzima; U = amostra tratada com ultrassom; EU = amostra tratada com enzima e ultrassom. Dados representados pela média ± desvio padrão das duplicatas da fermentação (n = 6). ^{a, b, c} diferentes letras minúsculas representam diferença significativa (p < 0,05) entre os tratamentos. ^{A, B} diferentes letras maiúsculas representam diferença significativa (p < 0,05) entre mostos e fermentados. N.D = não detectado. <LOQ = abaixo do limite de quantificação do método.

3.3 ANÁLISE DE COR

Os resultados relacionados aos parâmetros de cor dos mostos e dos fermentados de uvaia estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros de cor correspondentes aos diferentes tratamentos do mosto e do fermentado de uvaia.

Amostra	L*	a*	b*	C*	h	
Mosto	C	48,00 ± 0,52 ^{ab}	5,98 ± 0,23 ^{aA}	35,90 ± 0,51 ^{aA}	36,06 ± 0,68 ^{aA}	80,55 ± 0,27 ^{bB}
	E	49,12 ± 0,44 ^{ab}	5,92 ± 0,08 ^{aA}	37,26 ± 0,69 ^{aA}	37,13 ± 0,69 ^{aA}	80,95 ± 0,11 ^{bB}
	U	49,47 ± 1,69 ^{ab}	6,01 ± 0,26 ^{aA}	37,79 ± 2,99 ^{aA}	38,26 ± 2,98 ^{aA}	80,94 ± 0,44 ^{bB}
	EU	49,19 ± 0,38 ^{ab}	5,42 ± 0,09 ^{bA}	36,78 ± 0,23 ^{aA}	37,17 ± 0,23 ^{aA}	81,62 ± 0,08 ^{ab}
Fermentad o	C	57,53 ± 0,55 ^{bcA}	-1,61 ± 0,09 ^{bB}	6,95 ± 0,04 ^{ab}	7,14 ± 0,04 ^{bB}	103,06 ± 0,68 ^{cA}
	E	58,10 ± 0,38 ^{abA}	-1,56 ± 0,06 ^{bB}	4,64 ± 0,30 ^{cB}	4,91 ± 0,28 ^{dB}	108,35 ± 0,40 ^{aA}
	U	57,04 ± 0,29 ^{cA}	-1,94 ± 0,08 ^{ab}	7,23 ± 0,23 ^{ab}	7,48 ± 0,23 ^{ab}	105,02 ± 0,46 ^{bA}
	EU	58,39 ± 0,27 ^{aA}	-1,90 ± 0,08 ^{ab}	5,27 ± 0,15 ^{bB}	5,60 ± 0,17 ^{cB}	109,81 ± 0,50 ^{aA}

Fonte: Próprio autor (2022). C = amostra controle (sem tratamento); E = amostra tratada com enzima; U = amostra tratada com ultrassom; EU = amostra tratada com enzima e ultrassom. Dados representados pela média ± desvio padrão das duplicatas da fermentação (n = 6). ^{a, b, c} diferentes letras minúsculas representam diferença significativa (p < 0,05) entre os tratamentos. ^{A, B} diferentes letras maiúsculas representam diferença significativa (p < 0,05) entre mostos e fermentados.

Foi possível observar que não houve diferença significativa para o parâmetro luminosidade (L*) entre os mostos avaliados (p > 0,05). Já para os fermentados de uvaia, as amostras tratadas com enzima (E e EU) apresentaram maior luminosidade (p < 0,05), indicando uma coloração mais clara (L > 50), provavelmente devido a utilização da pectinase que age como um importante agente de clarificação (KHARAZMI; TAHERI-KAFRANI; SOOZANIPOUR, 2020), além das etapas de centrifugação e filtração empregadas nas bebidas ao final do processo fermentativo.

Quanto ao parâmetro a*, as amostras de mosto apresentaram uma tendência à cor vermelha maior em relação aos fermentados (p < 0,05) uma vez que as amostras dos fermentados possuíam valores de a* negativos, indicando uma coloração tendendo para o verde. O mesmo comportamento foi observado para os parâmetros b* e C*, onde os mostos apresentaram maior tendência ao amarelo e maior saturação de cor, respectivamente (p <

0,05), sendo que os fermentados que tiveram tratamento enzimático (E e EU) obtiveram os menores valores ($p < 0,05$) para ambos os parâmetros.

O ângulo hue (h^*) é considerado um atributo qualitativo da cor que leva em conta os valores de a^* e b^* , e está relacionado com as tonalidades de cor como avermelhado, amarelado, esverdeado etc. (CÖMERT; MOGOL; GÖKMEN, 2020). Para o ângulo hue, as amostras de mosto apresentaram um valor em torno de 80° , mais próximo do amarelo, enquanto os fermentados apresentaram ângulos por volta de 100° , ficando entre o amarelado e o esverdeado.

3.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR ALCOÓLICO E METABÓLITOS DA FERMENTAÇÃO

A amostra controle e a tratada com enzima apresentaram valores de etanol semelhantes, 4,01 e 4,05% respectivamente. Já a amostra tratada com ultrassom apresentou 3,82% de etanol, enquanto a tratada com enzima e ultrassom 3,71%. No entanto, não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos ($p > 0,05$). A legislação brasileira, através da instrução normativa Nº 34, de 29 de novembro de 2012, estabelece os parâmetros legais para fermentado de fruta, e determina que fermentados de frutas devem ter um teor alcoólico entre 4 e 14% (BRASIL, 2012). Assim, a partir dos resultados obtidos neste estudo, as amostras de fermentado de uvaia controle (C), e tratada com enzima (E) estariam contempladas nesta legislação. Vale destacar, que a legislação brasileira carece de normativas relacionadas às bebidas de fruta *low-alcohol*, uma vez que as normativas publicadas tratam somente de bebidas não alcóolicas ou desalcooolizadas (BRASIL, 2009), determinando que esse tipo de produto deve possuir um teor de álcool menor que 0,5% (v/v). O mesmo limite se aplica aos Estados Unidos, onde, segundo o U.S Code, são consideradas bebidas não alcóolicas as que contêm menos de 0,5% (v/v) de álcool na sua composição.

Além disso, a nível global, as legislações ainda não apresentam uma padronização clara e concisa quanto ao teor alcoólico das bebidas denominadas *low-alcohol*. O *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis* de 2021 da Organização Internacional da Vinha e do Vinho, por exemplo, faz referência às bebidas *low-alcohol* somente como sendo as que possuem teor alcoólico menor ou igual a 1,5%, entretanto, este mesmo documento possui um anexo com os parâmetros de validação relativos à medição do teor alcoólico dessas bebidas, onde são citadas amostras contendo até 6,5% de álcool (OIV, 2021).

Algumas pesquisas vêm explorando diferentes técnicas e matérias-primas para a elaboração de fermentados de fruta com baixo teor alcoólico. Huang *et al.* (2022) elaboraram um fermentado de kiwi utilizando diferentes técnicas de inoculação das leveduras e mesmo realizando um ajuste no teor de sólidos solúveis totais no mosto, obtiveram uma bebida com teor alcoólico médio de 5,4%. Por outro lado, Yang *et al.* (2022) utilizaram cepas de leveduras *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces* na elaboração de fermentados a partir da mistura dos sucos de maçã e pera e obtiveram um teor alcoólico médio de 6,5%. Já Yang *et al.* (2021) também utilizaram cepas de leveduras *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces* na fermentação de três variedades de morango e obtiveram fermentados com teor alcoólico em torno de 2,2%.

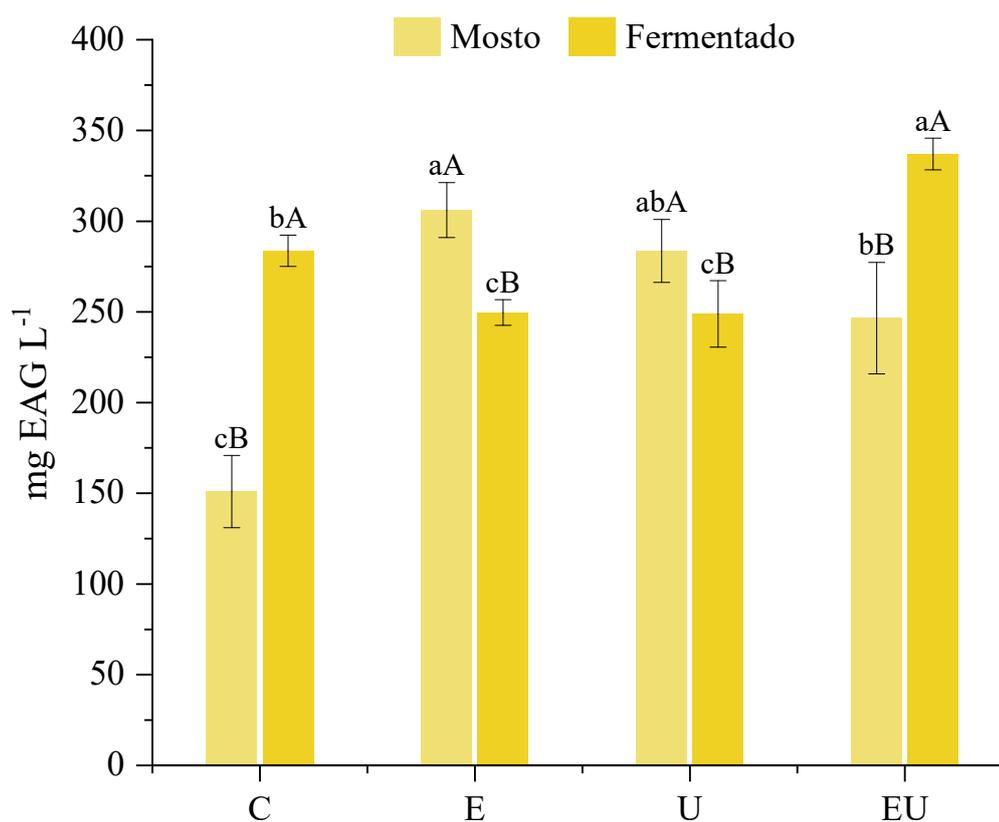
Assim, observa-se que existe uma grande variação no teor alcoólico encontrado nos trabalhos científicos sobre bebidas *low-alcohol*, dependentes no teor de sólidos solúveis iniciais no mosto e das cepas microbianas utilizadas, sendo que os valores obtidos para os fermentados de uvaia estão dentro da média relatada por esses estudos. Vale ressaltar que, em comparação aos fermentados de frutas tradicionais, como os vinhos elaborados a partir de uvas, que apresentam teores alcoólicos médios entre 12 e 14%, as demais bebidas que apresentam valores de etanol abaixo desta faixa tendem a serem chamadas de *low-alcohol*. No entanto, devem ser ampliadas as discussões sobre o conceito e o limite destes valores, a fim de criar uma padronização global para as bebidas deste nicho de mercado que está em constante expansão.

Quanto aos compostos metanol, 1-propanol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-butanol, glicerol e acetato de etila, estes não foram quantificados nas amostras de fermentado de uvaia (LQ = 1%).

3.5 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

Na Figura 3 estão apresentados os teores de compostos fenólicos totais (CFT) para as amostras de mosto e fermentado de uvaia. Todas as amostras avaliadas apresentaram valores de CFT variando entre 150,98 e 283,63 mg EAG/L para os mostos e entre 248,83 e 337,03 mg EAG/L para os fermentados de uvaia, revelando valores superiores aos observados no estudo conduzido por Ma *et al.* (2022) em fermentado alcoólico de figo, que encontraram teores de 169,12 (mg EAG/L) na polpa a ser fermentada, e de 282,58 (mg EAG/L) para a bebida. Assim como Ho *et al.* (2020), que encontraram teores de 132,43 (mg EAG/L) no suco de graviola e 116,58 (mg EAG/L) no fermentado.

Figura 3 – Compostos fenólicos totais dos mostos e fermentados de uvaia.



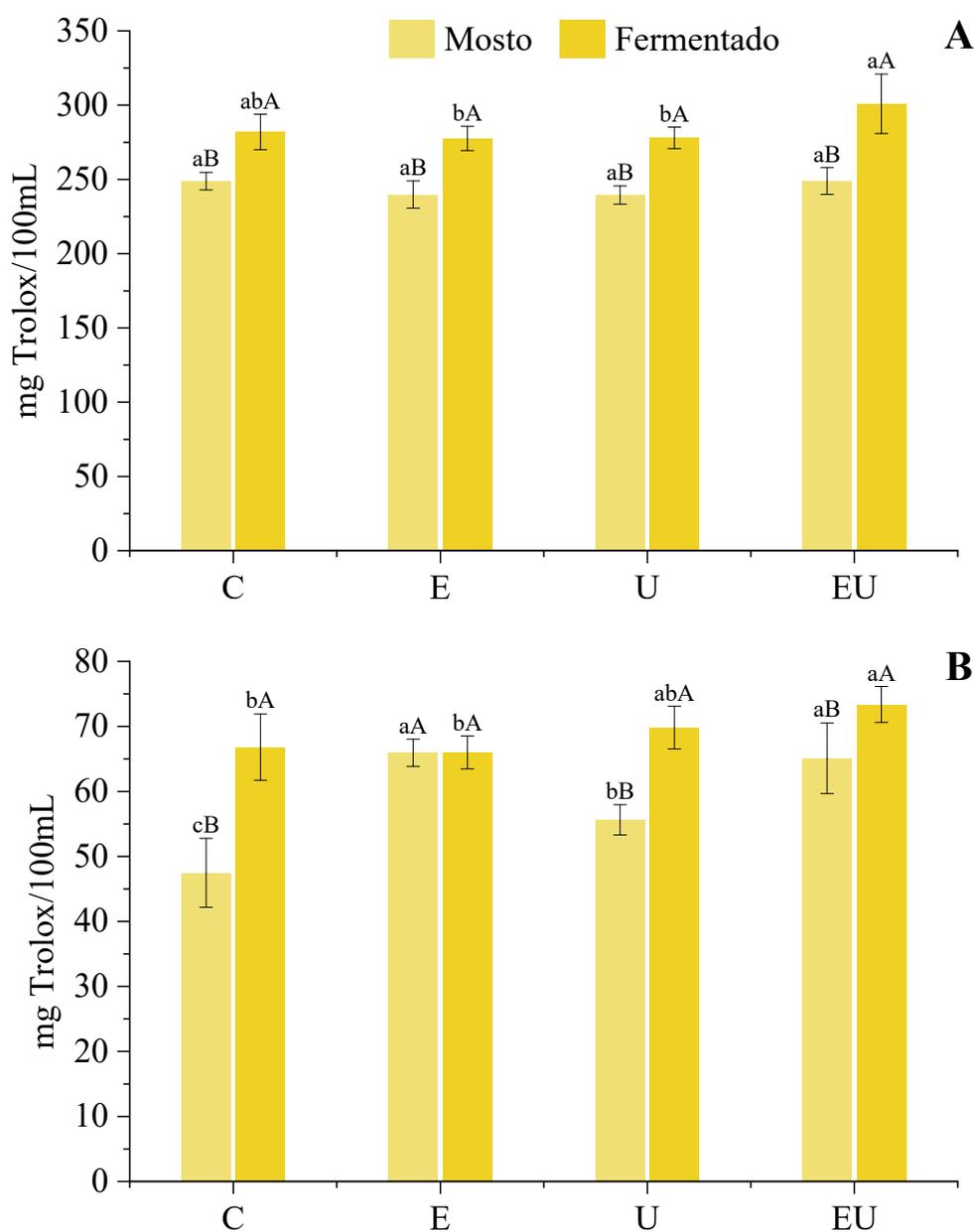
Fonte: Próprio autor (2022). C = amostra controle (sem tratamento); E = amostra tratada com enzima; U = amostra tratada com ultrassom; EU = amostra tratada com enzima e ultrassom. Dados representados pela média \pm desvio padrão das duplicatas da fermentação (n = 6). ^{a, b, c} letras minúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre tratamentos. A, B letras maiúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre mosto e fermentado.

Nos tratamentos controle (C) e utilizando enzima e ultrassom (EU) houve um aumento significativo dos compostos fenólicos totais ao longo da fermentação ($p < 0,05$), passando de 150,98 (mg EAG/L) no mosto C para 283,69 (mg EAG/L) no fermentado C, e de 246,54 (mg EAG/L) no mosto EU para 337,03 (mg EAG/L) no fermentado EU, que apresentou os maiores valores ao final da fermentação ($p < 0,05$), em comparação às demais amostras. Sendo os resultados semelhantes aos encontrados por Jiang *et al.* (2020b) em fermentado de pitaya vermelha tratado com pectinase, que ao 14º dia de fermentação continha

302,82 (mg EAG/L); e superiores aos teores encontrados por Souza *et al.*, 2022 para o fermentado de araçá-boi (em média 220,21 mg de EAG/L).

Fenômeno semelhante foi relatado por Tchabo *et al.* (2015), que ao realizar o tratamento do mosto de amora (*Morus nigra*) com enzima pectinolítica e ultrassom observaram uma alta correlação entre os tratamentos e o aumento de compostos fenólicos. Já na Figura 4 estão expostos os resultados referentes às análises de atividade antioxidante pelos métodos de FRAP (A) e ABTS (B).

Figura 4 – Atividade antioxidante dos mostos e fermentados de uvaia pelos métodos de ABTS (A) e FRAP (B).



Fonte: Próprio autor (2022). C = amostra controle (sem tratamento); E = amostra tratada com enzima; U = amostra tratada com ultrassom; EU = amostra tratada com enzima e ultrassom. Dados representados pela média \pm desvio padrão das duplicatas da fermentação (n = 6). a, b, c letras minúsculas representam diferença estatística (p < 0,05) entre tratamentos. ^{A,B} letras maiúsculas representam diferença estatística (p < 0,05) entre mosto e fermentado.

Observou-se um aumento significativo entre os mostos e os fermentados para grande parte dos tratamentos em ambos os métodos de capacidade antioxidante avaliados (p < 0,05). O tratamento com enzima e ultrassom se destacou apresentando os maiores teores de inibição do íon F^+ (73,38 μ M Trolox/100mL) e de sequestro do radical $ABTS^+$ (300,90 μ M Trolox/100mL). Para $ABTS$ esses resultados são diferentes do observado por Li *et al.* (2020b) onde houve um decréscimo no potencial de sequestro do radical $ABTS^+$ quando utilizada a frequência de 20 kHz e potências de ultrassom maiores que 270W no fermentado de mirtilo, porém para a capacidade de redução do íon férrico os mesmos autores também observaram um aumento relacionado ao tempo de tratamento com ultrassom. Já se sabe que o ultrassom pode ser um grande contribuinte para a ativação da atividade enzimática (MA; CAI; LIU, 2020), o que pode ter tido como consequência a liberação de compostos diferentes dos fenólicos mas que aumentaram a capacidade antioxidante dos fermentados de uvaia com baixo teor alcoólico.

Em processamentos utilizando o ultrassom, a frequência e a potência se tornam dois fatores importantes, no ultrassom de baixa frequência (20 kHz) e alta intensidade (>1W) as cavidades são expandidas mais rapidamente causando aumento na temperatura e na pressão do meio devido a cavitação gerada o que favorece muitas reações durante o processamento de alimentos (YU *et al.*, 2021).

3.6 COMPOSIÇÃO FENÓLICA INDIVIDUAL

Um total de quinze compostos foram identificados na análise por *LC-ESI-MS/MS* nos mostos e fermentados de uvaia, dentre eles ácidos hidroxibenzóicos, ácidos hidroxicinâmicos e flavonoides. Vale ressaltar que até o presente momento, nenhum estudo avaliou o perfil fenólico de fermentados de uvaia. O ácido gálico e as cumarinas foram os compostos majoritários encontrados em todos os mostos e não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos (p > 0,05), em seguida foram encontrados os flavonoides isoquercetina, catequina e epicatequina, com destaque para os mostos tratados com ultrassom (MU e MEU) (p < 0,05).

Dentre os ácidos hidroxibenzóicos, o ácido gálico foi encontrado em todos os mostos e apresentou um aumento significativo da sua concentração ao longo da fermentação ($p < 0,05$), variando de 1956,40 $\mu\text{g/L}$ no fermentado tratado com enzima, até 2361,48 $\mu\text{g/L}$ no fermentado tratado com ultrassom. Já os ácidos siríngico e benzóico foram encontrados somente nas amostras de fermentado de uvaia, o que pode indicar que houve a produção e/ou liberação desses compostos durante a fermentação (LEONARD *et al.*, 2021).

Segundo Silva *et al.* (2022) vários outros trabalhos envolvendo a uvaia relatam o ácido gálico como o composto majoritário, e grande parte do potencial anti-inflamatório da uvaia está atrelado a este ácido o qual também possui grande capacidade antioxidante sendo um dos compostos fenólicos mais abundantes no reino vegetal (KAHKESHANI *et al.*, 2019).

As cumarinas por sua vez compreendem uma classe de metabólitos secundários amplamente distribuídos no reino vegetal e possuem grande contribuição para prevenção e tratamento de doenças pois possuem um amplo espectro de atividades biológicas como capacidade anticoagulante, anticâncer e antineurodegenerativa (FRANCO *et al.*, 2021).

A isoquercetina é uma das principais formas de glicosídeo da quercetina, um dos flavonóis naturais mais encontrados na natureza (VALENTOVÁ *et al.*, 2014), e que já foi identificada na polpa de uvaia, assim como a catequina e a epicatequina (WANDERLEY *et al.*, 2022a). Sabe-se que o tratamento com ultrassom em mostos de frutas pode promover e otimizar a atividade enzimática (YU *et al.*, 2021), podendo também resultar em uma maior liberação de compostos fenólicos através das bolhas de cavitação que geram efeitos mecânicos e térmicos nas paredes das células vegetais (YUSOFF *et al.*, 2022).

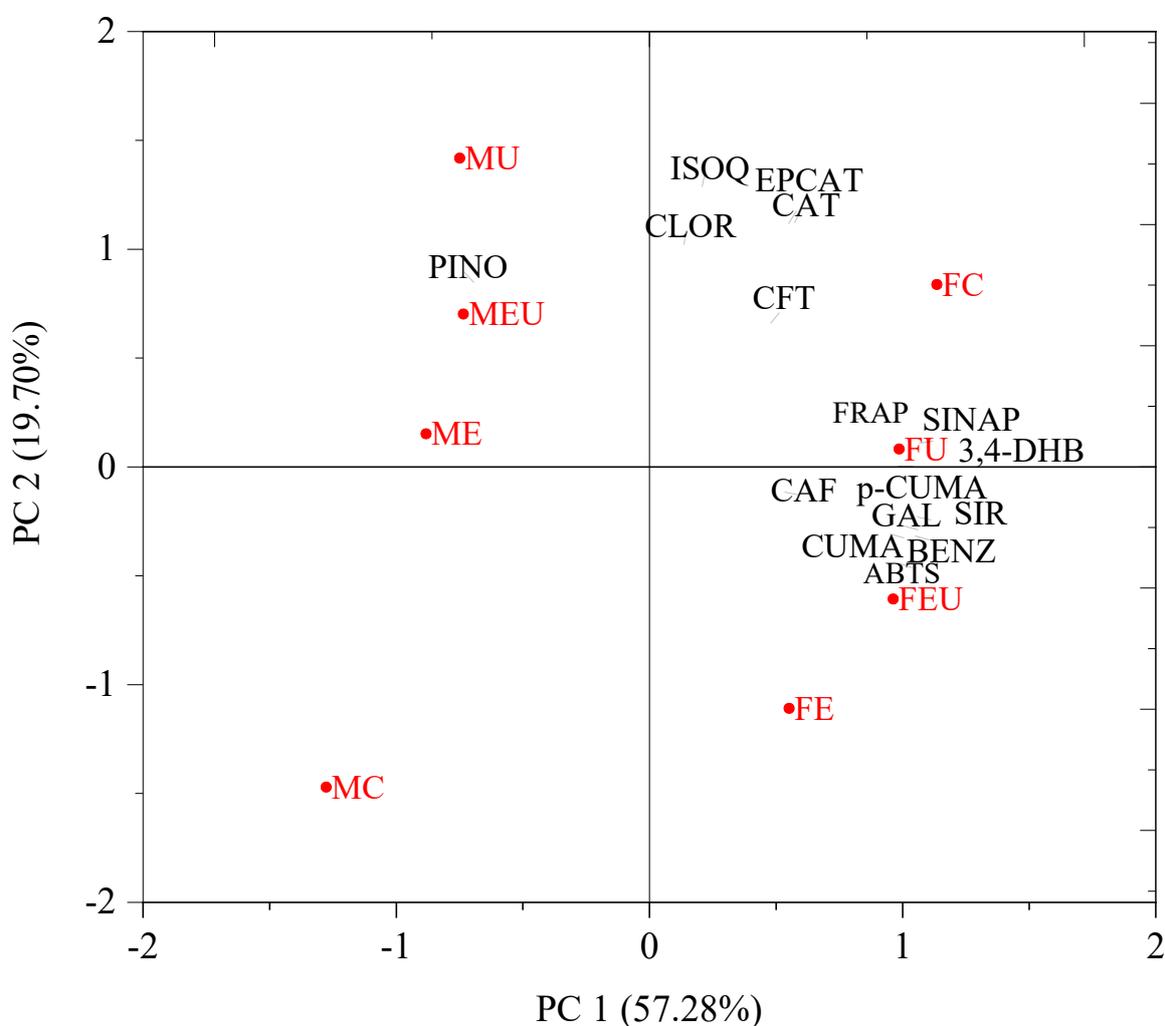
A pinocembrina foi encontrada majoritariamente nos mostos tratados com pectinase (ME, MEU), indicando que estes tratamentos foram efetivos para a sua extração. No entanto, após a fermentação os valores deste composto ficaram abaixo do limite de quantificação do método, o que indica que a pinocembrina pode ter sido consumida durante o processo fermentativo ou transformada em outra substância. Este tipo de flavanona, naturalmente encontrado em frutas, nozes, sementes, especiarias, flores, chás e vinhos, tem sido identificado em diferentes fontes, principalmente nos gêneros da família Piperaceae. Esse composto também tem sido investigado por suas características antibacterianas e antioxidativas através da inibição do crescimento bacteriano e da indução à lise dessas células, além da sua atividade neuroprotetora, aliviando lesões isquêmicas e melhorando a cognição (RASUL *et al.*, 2013).

Para o grupo dos ácidos hidroxicinâmicos foram constatados valores superiores para os ácidos p-cumárico e sináptico para todas as amostras de fermentados de uvaia, revelando

um efeito positivo do processo fermentativo nestes compostos fenólicos. O ácido cafeico foi identificado apenas nas amostras de fermentado controle e com pectinase.

As distinções existentes no perfil fenólico, no teor de polifenóis totais e na atividade antioxidante das amostras de mostos e fermentados de uvaia podem ser observadas na análise de componentes principais (APC) (Figura 5), constituída por dois componentes (PC1 e PC2) que explicam 76,98% da variabilidade dos dados. Sendo que o PC1 explicou a maior variabilidade dos dados (57,28%) enquanto o PC2 explicou 19,70% da dispersão total.

Figura 5 – Análise de componentes principais do perfil fenólico, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das amostras de mostos e fermentados de uvaia.



Fonte: Próprio autor (2022). M = mostos; F = fermentados; C = amostra controle (sem tratamento); E = amostra tratada com enzima; U = amostra tratada com ultrassom; EU = amostra tratada com enzima e ultrassom. 3,4-DHB = ácido 3,4-dihidroxibenzóico; BENZ = ácido benzóico; SIR = ácido siríngico; CAF = ácido cafeico; CLOR = ácido clorogênico; p-CUMA = ácido p-cumárico; SINAP = ácido sináptico; CAT = catequina; EPCAT = epicatequina; ISOQ = isoquercetina; PINO = pinocembrina; GAL = ácido gálico; CUMA = cumarina.

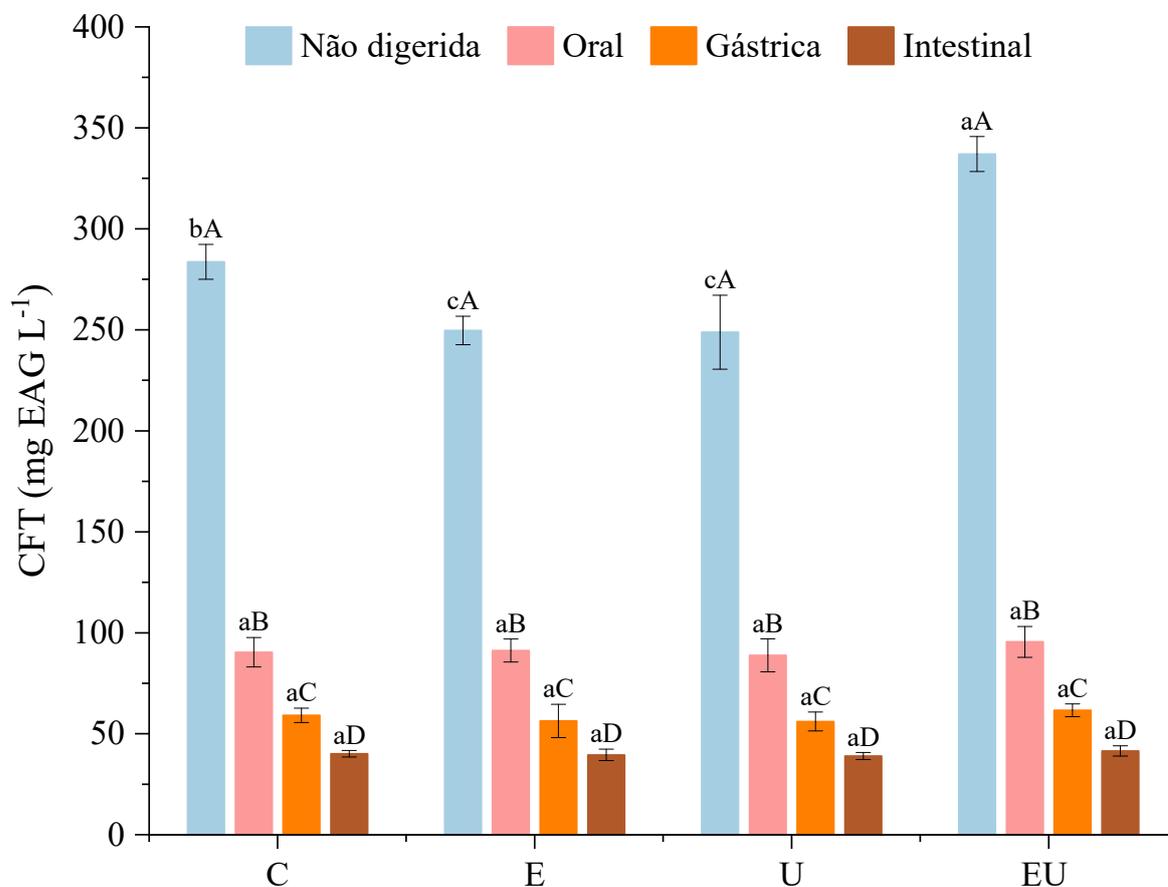
Houve uma clara separação entre as amostras de mostos e fermentados, observa-se que entre as amostras de mosto, somente a controle não apresentou associação com nenhuma variável enquanto os demais tratamentos apresentaram uma forte associação somente com a pinocembrina, uma vez que esse composto só estava presente nessas amostras. Os fermentados controle e tratado com ultrassom apresentaram associação com a atividade antioxidante (FRAP) e com a composição fenólica total, além do ácido sináptico e clorogênico, da isoquercetina, epicatequina e catequina, os fermentados tratados com enzima e com enzima e ultrassom apresentaram uma forte associação com a atividade antioxidante (ABTS), também com o ácido gálico, ácido sináptico, cumarina e com os ácidos 3,4-dihidroxibenzóico, cafeico, p-cumárico, siríngico e benzóico.

A análise multivariada mostrou que houve modificações no perfil fenólico das amostras de mosto para as de fermentado, revelando que tanto o processo fermentativo quanto os tratamentos aplicados nas amostras possuem influência na composição final da bebida.

3.7 BIOACCESSIBILIDADE *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DOS FENÓLICOS INDIVIDUAIS DOS FERMENTADOS DE UVAIA

Na Figura 6 estão apresentados os dados referentes ao teor de compostos fenólicos totais durante as três fases da digestão.

Figura 6 – Compostos fenólicos totais nas amostras de fermentados de uvaia ao longo das fases da digestão *in vitro*.



Fonte: Próprio autor (2022). C = fermentado controle; E = fermentado tratado com enzima; U = fermentado tratado com ultrassom; EU = fermentado tratado com enzima e ultrassom. Dados representados pela média \pm desvio padrão das duplicatas da digestão (n = 6). ^{a, b, c} letras minúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre tratamentos. ^{A, B, C, D} letras maiúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre fases da digestão.

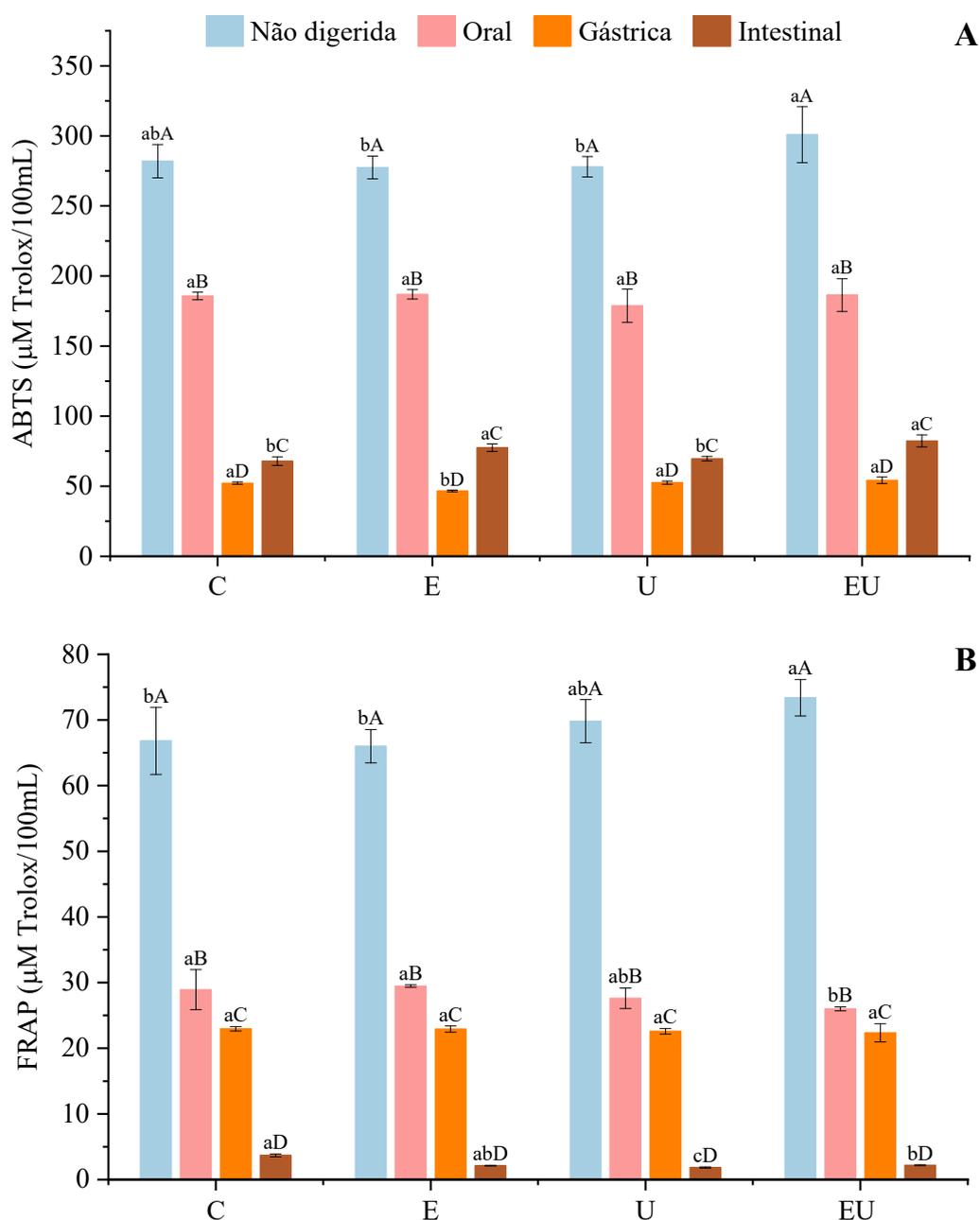
O processo digestivo causou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) no teor de compostos fenólicos totais em todos os tratamentos (85% para amostra C, 84% para amostra E, 83% para amostra U e 87% para amostra EU). Comportamento semelhante foi observado por Celep *et al.* (2015) em bebidas fermentadas turcas, elaboradas com diferentes frutas (mirtilo, amora preta, cereja e uva), que apresentaram uma redução de até 66% no teor de fenólicos totais, após a digestão. Essa redução pode estar relacionada às mudanças de pH no meio digestivo combinadas com as enzimas presentes no ambiente gastrointestinal que provocam a desprotonação desses compostos, os quais são sensíveis a essas condições e acabam sendo degradados ou transformados em estruturas instáveis que estão sujeitas a hidrólise (DANTAS *et al.*, 2019).

Os índices de bioacessibilidade das amostras C, E, U e EU para CFT foram 14,13%, 15,84%, 15,49% e 12,31%, respectivamente. Percebe-se

que separadamente os tratamentos com enzima (E) e ultrassom (U) foram mais eficazes para aumentar a fração bioacessível dos compostos fenólicos do que quando usados de forma combinada. Esses valores foram superiores aos encontrados para polpas de araçá (9,60%), de jaboticaba (12,84%) e de pitanga (12,17%) (STAFUSSA *et al.*, 2021).

A capacidade antioxidante avaliada a partir dos métodos de inibição do íon férrico (FRAP) e de captura do radical ABTS estão apresentados na Figura 7, A e B respectivamente. Nota-se que a digestão provocou comportamentos distintos nos resultados de cada método, pois enquanto houve um decréscimo na atividade de inibição do íon férrico ao longo da digestão ($p < 0,05$), a capacidade de captura do radical ABTS apresentou uma diminuição entre a fase oral e gástrica, mas com um aumento significativo ($p < 0,05$) na fase intestinal (30% para amostra C, 66% para amostra E, 32% para amostra U e 51% para amostra EU). Comportamento semelhante foi observado por Farias *et al.* (2021) em extratos da fração comestível da uvaia (polpa e casca), onde houve um aumento de 72% na atividade de captura do radical ABTS entre a fase gástrica e intestinal.

Figura 7 – Capacidade antioxidante através dos métodos FRAP (A) e ABTS (B) dos fermentados de uvaia ao longo da digestão.



Fonte: Próprio autor (2022). C = fermentado controle; E = fermentado tratado com enzima; U = fermentado tratado com ultrassom; EU = fermentado tratado com enzima e ultrassom. Dados representados pela média \pm desvio padrão das duplicatas da digestão (n = 6). ^{a, b, c} letras minúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre tratamentos. ^{A, B, C, D} letras maiúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre fases da digestão.

O aumento observado na atividade antioxidante sob condições intestinais tem sido atribuído a desprotonação das porções hidroxila presentes nos anéis aromáticos dos compostos fenólicos (CÔMERT; GÖKMEN, 2022).

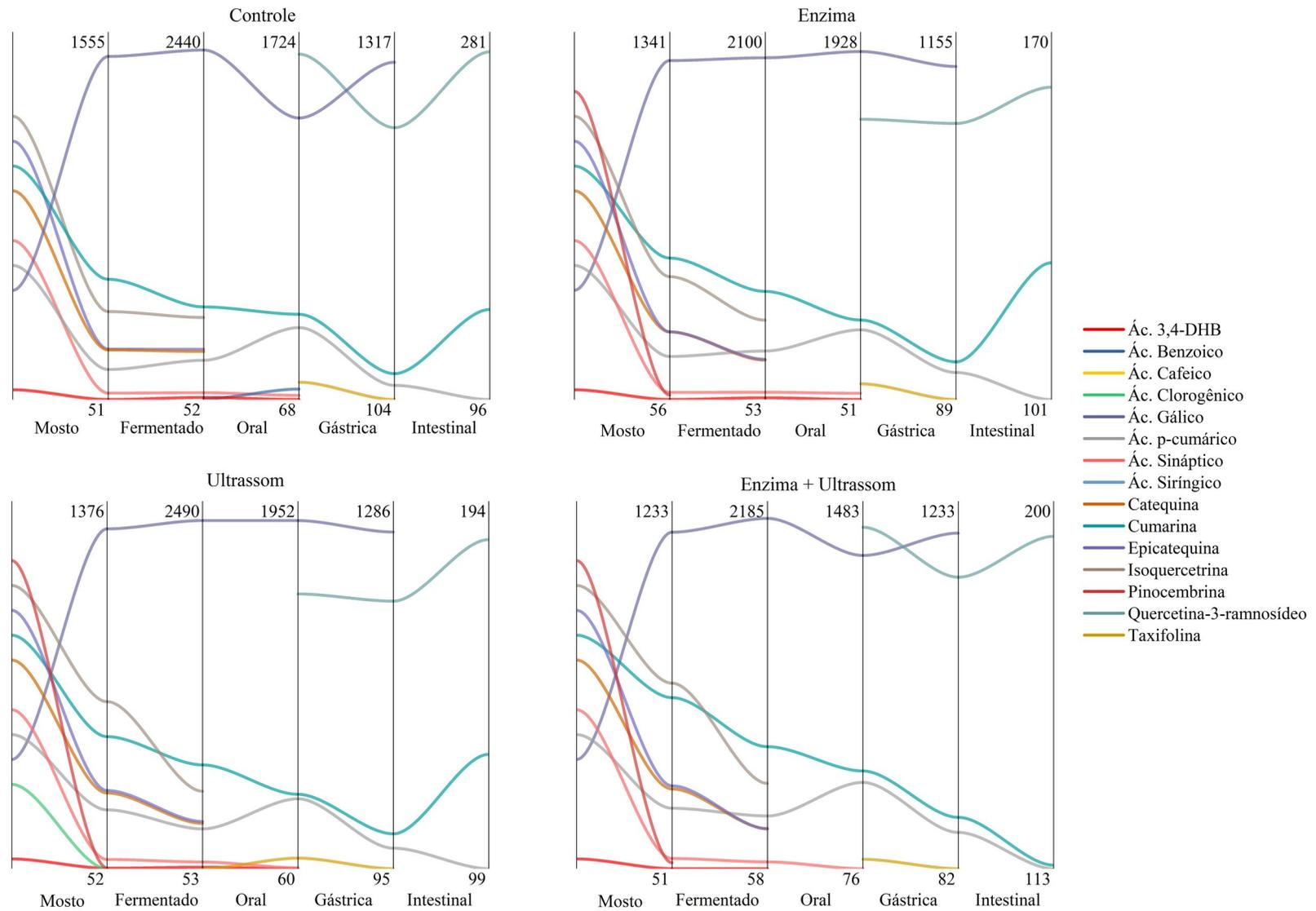
Estes resultados podem estar relacionados ao fato de que os compostos fenólicos existem de diferentes formas (formas livres, conjugadas e vinculadas) e cada metodologia para atividade antioxidante age sequestrando algumas dessas formas. Além disso, supõe-se que na matriz alimentar aqui avaliada a atividade antioxidante pelo método FRAP estaria mais ligada aos compostos fenólicos, uma vez que a diminuição destes resultou em menores valores de inibição do íon férrico, já a capacidade de captura do radical ABTS poderia estar ligada a outros compostos que não os fenólicos, que podem ser formados durante o processo digestivo (BARAK *et al.*, 2019).

A Figura 8 mostra a evolução do perfil fenólico entre os mostos, os fermentados e ao longo das três fases da digestão *in vitro*. Vários compostos fenólicos foram identificados, incluindo ácidos hidroxicinâmicos, hidroxibenzoicos e flavonoides. Enquanto 15 compostos foram encontrados nas amostras não digeridas (fermentados), as transformações ocorridas ao longo das fases da digestão (oral, gástrica e intestinal) resultaram em três compostos quantificados na fase intestinal.

Os três compostos presentes na fase intestinal da digestão em todas as amostras foram o ácido *p*-cumárico, a quercetina-3-ramnosídeo e a cumarina, destacando-se significativamente ($p < 0,05$) o ácido *p*-cumárico na amostra tratada com enzima e ultrassom. Nesta mesma amostra o índice de bioacessibilidade do ácido *p*-cumárico foi de 31,22%, valor este maior do que o encontrado em bebidas a base de suco de frutas submetidas a diferentes processamentos (em média 14,9%) (RODRÍGUEZ-ROQUE *et al.*, 2015). Além da atividade antioxidante, outras atividades biológicas do ácido *p*-cumárico envolvem o potencial antimicrobiano e antidiabético, esse ácido também já apresentou potencial antitumoral contra células de diversos tipos de câncer, tanto em estudos *in vitro* quanto *in vivo* (PEI *et al.*, 2015).

A quercetina-3-ramnosídeo estava presente em maiores quantidades na fase intestinal da amostra controle ($p < 0,05$), entretanto vale destacar que esse composto não apresentou diminuição significativa para nenhum tratamento até a fase gástrica ($p < 0,05$). Este comportamento pode ser justificado pelo fato que os compostos fenólicos tendem a ser mais estáveis em pH ácido (KETNAWA *et al.*, 2022). Além disso, apesar de não ter sido quantificada (<LQ) nas amostras não digeridas a presença da quercetina-3-ramnosídeo pode ser justificada por ser um glicosídeo derivado da quercetina, a qual foi detectada nas amostras não digeridas e nas fases da digestão também (<LQ), demonstrando que a digestão causou uma transformação na estrutura molecular deste composto (INADA *et al.*, 2020).

Figura 8 – Compostos fenólicos individuais nas amostras de mostos, dos fermentados de uvaia e ao longo das fases da digestão *in vitro*.

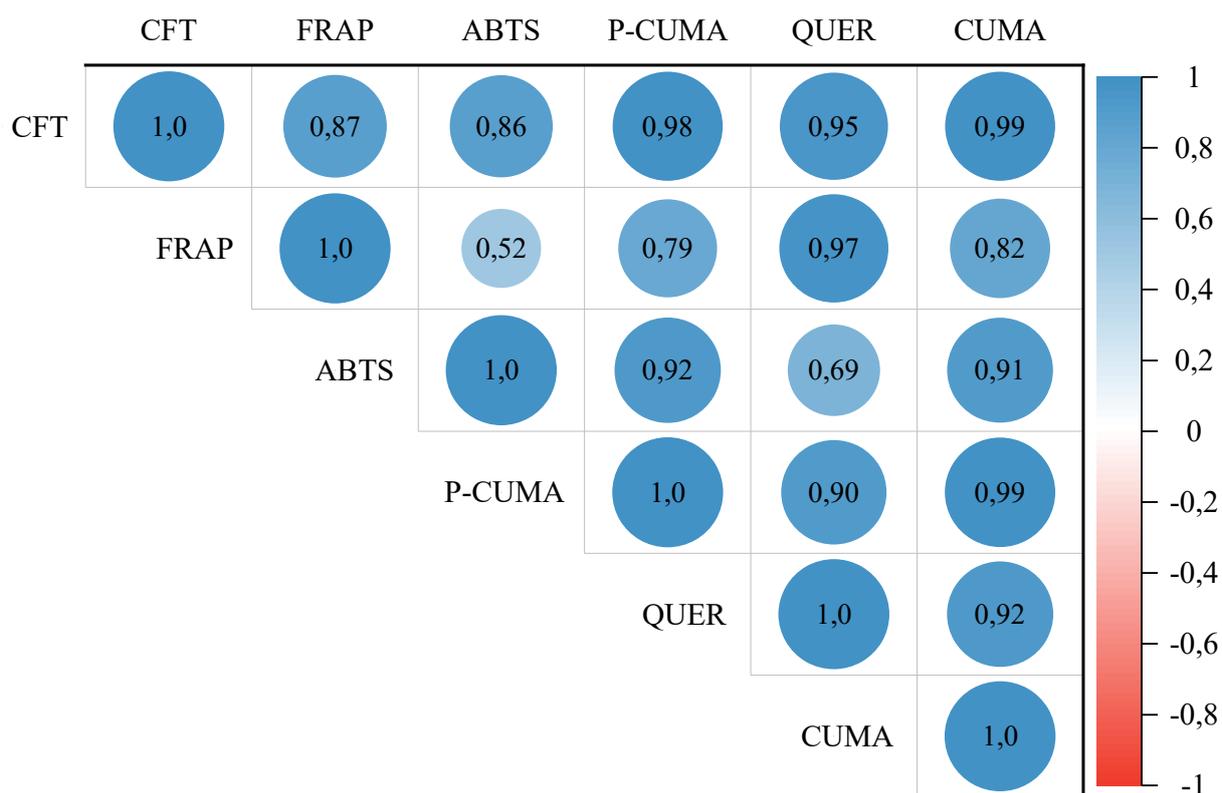


Para a cumarina, as amostras C, E, U e EU não apresentaram diferença significativa entre si na fase intestinal ($p > 0,05$), com índices de bioacessibilidade de 21,65%; 19,35%; 17,33% e 14,95% respectivamente.

Portanto, embora havendo muitas mudanças no perfil fenólico dos fermentados de uvaia ao longo da digestão percebe-se que para os compostos presentes na fase intestinal destacam-se os tratamentos com enzima assistido por ultrassom e o controle, pois apresentaram maiores teores ($p < 0,05$) do ácido *p*-cumárico e da quercetina-3-ramnosídeo, respectivamente, sendo responsáveis por aumentarem a funcionalidade da bebida e a entrega desses compostos no organismo.

De acordo com Sun *et al.* (2020), ao longo do processo digestivo ocorrem naturalmente mudanças no meio, como aumento e diminuição do pH, além da ação de enzimas que afetam a concentração dos compostos fenólicos, fazendo com que uma menor quantidade deles chegue ao final da digestão. Entretanto, mesmo com essas mudanças, ainda podemos relacionar esses compostos a atividades importantes no nosso metabolismo, como a atividade antioxidante. Assim, na Figura 9 são mostrados os coeficientes de correlação de Pearson entre os fenólicos totais, a atividade antioxidante, o ácido *p*-cumárico, a quercetina-3-ramnosídeo e a cumarina ao longo da digestão *in vitro*.

Figura 9 – Coeficientes de correlação de Pearson entre os compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e fenólicos individuais presentes na fase intestinal.



Fonte: Próprio autor (2022). CFT = compostos fenólicos totais; P-CUMA = ácido *p*-cumárico; CUMA = cumarina; QUER = quercetina-3-ramnosídeo.

Todas as outras correlações entre compostos e atividade antioxidante são estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Estes resultados demonstram uma forte relação positiva entre esses compostos e as atividades antioxidantes, com destaque para a correlação do ácido *p*-cumárico com ABTS (0,92) e da quercetina-3-ramnosídeo com FRAP (0,97).

4 CONCLUSÃO

Este trabalho é pioneiro na elaboração de um fermentado alcoólico de uvaia com baixo teor alcoólico utilizando diferentes tratamentos pré-fermentativos. Os tratamentos somente com enzima e o enzimático assistido por ultrassom destacaram-se por influenciar positivamente as propriedades fermentativas e bioativas do fermentado de uvaia, apresentando maior liberação de CO₂ no início da fermentação e aumento significativo no teor de sólidos solúveis totais tanto dos mostos quanto dos fermentados. A composição de ácidos orgânicos e açúcares foram influenciadas pelo processo fermentativo sendo que o tratamento enzimático assistido por ultrassom apresentou o maior teor de ácido málico, enquanto o ácido glicólico estava presente somente nessa amostra e na tratada com enzima. Além disso o tratamento enzimático assistido por ultrassom resultou em uma bebida com o menor teor alcoólico, o maior teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (ABTS e FRAP) entre todas as amostras. A fermentação foi eficaz em otimizar a composição fenólica individual dos fermentados, sendo que as amostras tratadas com enzima e enzima e ultrassom apresentaram maior associação com a atividade antioxidante (ABTS) e com ácidos como o *p*-cumárico e os flavonoides.

Para a digestão *in vitro* as amostras tratadas com enzima e ultrassom de forma separada apresentaram uma menor diminuição no teor de compostos fenólicos totais, com um maior índice de bioacessibilidade. A amostra tratada com enzima assistida por ultrassom apresentou um aumento de mais de 50% para atividade antioxidante (ABTS) na fase intestinal, além de um maior teor do ácido *p*-cumárico na mesma fase, que apresentou forte correlação com a inibição do radical ABTS ao longo de toda a digestão. Portanto, pode-se concluir que tanto o processo fermentativo, quanto o tratamento enzimático assistido por ultrassom contribuíram fortemente para otimização das características químicas do

fermentado de uvaia de baixo teor alcoólico, promovendo a valorização dessa fruta ainda subexplorada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo relatou pela primeira vez a elaboração de um fermentado de uvaia de baixo teor alcoólico, utilizando diferentes tratamentos pré-fermentativos com enzima e ultrassom, analisando suas propriedades fermentativas e bioativas, além da sua simulação gastrointestinal.

O capítulo 1 relacionado a revisão bibliográfica, tratou sobre as principais etapas de elaboração de um fermentado alcoólico de fruta com ênfase no potencial de aplicação da uvaia, e quais os tratamentos que podem ser realizados na etapa pré-fermentativa e como a bebida é afetada por eles. Além disso, um panorama sobre os fermentados de baixo teor alcoólico também foi apresentado, demonstrando o quanto esse recente nicho de mercado é promissor vêm chamando de cientistas e consumidores.

Na prospecção científica e tecnológica apresentada no capítulo 2 fica claro como o interesse pelos fermentados de fruta com baixo teor alcoólico aumentou nos últimos dez anos, sendo a China a principal produtora científica nesse ramo e principal detentora desse tipo de tecnologia. Apesar de ainda não existir um consenso sobre qual o teor de etanol necessário para que a bebida seja considerada de baixo teor alcoólico, os dados expostos nesse capítulo demonstram que esses produtos podem trazer inovação para o mercado de bebidas uma vez que utilizam frutas como o kiwi, a amora e a pera.

No capítulo 3, a influência de diferentes tratamentos pré-fermentativos no fermentado de uvaia de baixo teor alcoólico foi avaliada e demonstrou que o tratamento enzimático assistido por ultrassom possui o maior potencial de otimização das propriedades funcionais, bioativas e antioxidantes não só da bebida, mas também durante a sua digestão *in vitro*. Sendo assim, este estudo demonstrou que a fermentação é uma alternativa viável na elaboração de uma bebida potencialmente funcional, de baixo teor alcoólico, e produzida a partir de uma matéria-prima atualmente pouco conhecida e valorizada, proporcionando inovação de mercado e agregando valor a produtos regionais.

REFERÊNCIAS

- AICV - The European Cider and Fruit Wine Association. European Cider Trends, 2020. 10p.
- AICV - The European Cider and Fruit Wine Association. European Cider Trends, 2022. 12p.
- ANUNCIACÃO, P. C. *et al.* Identification and quantification of the native carotenoid composition in fruits from the Brazilian Amazon by HPLC–DAD–APCI/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 83, e103296, 2019.
- ARORA, R.; KAUR, S. Technology development for the production of self carbonated less alcoholic lemon beverage. **Plant Archives**, v. 20, n. 2, p. 2481-2486, 2020.
- AVELAR, M. H. M. *et al.* A byproduct of uvaia (*Eugenia pyriformis*) processing as a natural source for coloring sugar hard-panning confections. **Journal of Food Process Engineering**, v. 42, n. 7, 12 nov. 2019.
- AY, M. *et al.* Quercetin. In: **Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity**. Elsevier Inc., p. 447–452. 2016.

BARAK, T. H. *et al.* Influence of in vitro human digestion on the bioavailability of phenolic content and antioxidant activity of *Viburnum opulus* L. (*European cranberry*) fruit extracts. **Industrial Crops & Products**, v. 131, p. 62 – 69, 2019.

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, p. 70–76, 15 jul. 1996.

BIANCHINI, C. B. *et al.* Incorporation of uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) pulp in yogurt: A promising application in the lactose-free dairy product market. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 10, p. e14892, 24 jul. 2020a.

BIANCHINI, C. B. **Potencial da polpa de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) como ingrediente com alegação de propriedades funcionais em iogurte sem lactose.** 2020. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020b.

BOEIRA, L. S. *et al.* Chemical and sensorial characterization of a novel alcoholic beverage produced with native açai (*Euterpe precatoria*) from different regions of the Amazonas state. **LWT - Food Science and Technology**, v. 117, p. 108632, 2020.

BORA, S. J.; HANDIQUE, J.; SIT, N. Effect of ultrasound and enzymatic pre-treatment on yield and properties of banana juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 37, p. 445–451, 1 jul. 2017.

BRASIL. Decreto Nº 6.871, de 04 de junho de 2009. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, Brasília, DF, 5 jun. 2009.

BRASIL. Instrução normativa Nº 34, de 9 de novembro de 2012. Complementa os padrões de identidade e qualidade para as bebidas fermentadas. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, Brasília, DF, 9 nov. 2012

BRASIL. Lei Nº 7.678, de 8 de novembro de 1988. Dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF.

BRASIL. Resolução RDC nº 243, de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre os requisitos para composição, qualidade, segurança e rotulagem dos suplementos alimentares e para atualização das listas de nutrientes, substâncias bioativas, enzimas e probióticos, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar destes produtos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, 27 jul. 2018. n. 144, Seção 1, p. 100.

BRUGNEROTTO, P. *et al.* A capillary electrophoresis method to determine aliphatic organic acids in bracatinga honeydew honey and floral honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 82, p. 103243, 1 set. 2019.

BUCHER, T.; DEROOVER, K.; STOCKLEY, C. *Low-alcohol wine: A narrative review on consumer perception and behaviour.* **Beverages**. MDPI AG, 1 dez. 2018.

ČAKAR, U. *et al.* Fruit as a substrate for a wine: A case study of selected berry and drupe fruit wines. **Scientia Horticulturae**, v. 244, p. 42–49, 26 jan. 2019.

CALANI, L. *et al.* Ultra-HPLC-MSn (poly)phenolic profiling and chemometric analysis of juices from ancient *Punica granatum* L. cultivars: A nontargeted approach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 23, p. 5600–5609, 12 jun. 2013.

CANUTO, G. A. B. *et al.* Caracterização físico-química de polpas de frutos da amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196–1205, dez. 2010.

CARVALHO, A. P. A. DE; CONTE-JUNIOR, C. A. Health benefits of phytochemicals from Brazilian native foods and plants: Antioxidant, antimicrobial, anti-cancer, and risk factors of metabolic/endocrine disorders control. **Trends in Food Science and Technology**, v. 111, p. 534–548, 1 maio 2021.

CASTELLO, F. *et al.* Absorption, metabolism, and excretion of orange juice (poly)phenols in humans: The effect of a controlled alcoholic fermentation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 695, 30 nov. 2020.

CELEP, E. *et al.* Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioavailability of phenolic components and the antioxidant potentials of some Turkish fruit wines. **Food Research International**, v. 78, p. 209–215, 1 dez. 2015.

CERRILLO, I. *et al.* Effect of alcoholic fermentation on the carotenoid composition and provitamin A content of orange juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 842-849, 2014.

CERRILLO, I. *et al.* Effect of daily intake of a *low-alcohol* orange beverage on cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic humans. **Food Research International**, v. 116, p. 168–174, 1 fev. 2019.

CIOCH-SKONECZNY, M. *et al.* Determination of the oenological properties of yeast strains isolated from spontaneously fermented grape musts obtained from cool climate grape varieties. **European Food Research and Technology**, v. 246, n. 11, p. 2299–2307, 1 nov. 2020.

CLAUS, H.; MOJSOV, K. Enzymes for wine fermentation: Current and perspective applications. **Fermentation**. MDPI AG, 9 jul. 2018.

CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Effect of food combinations and their co-digestion on total antioxidant capacity under simulated gastrointestinal conditions. **Current Research in Food Science**, v. 5, p. 414–422, 1 jan. 2022.

CÖMERT, E. D.; MOGOL, B. A.; GÖKMEN, V. Relationship between color and antioxidant capacity of fruits and vegetables. **Current Research in Food Science**, v. 2, p. 1–10, 1 jun. 2020.

CORADIN, L; SIMINSKI, A; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**, Brasília: MMA, 2011. 934p.

CUNZHI, Z. *et al.* **Method for continuously producing low-alcohol sweet wine and grape skin-residue fruit juice wine**. Depositante: Ningxia Polytechnic Univ. CN n. 111218358. Depósito: 21 fev. 2020. Concessão: 2 jun. 2020.

DACCACHE, M, A. *et al.* Control of the sugar/ethanol conversion rate during moderate pulsed electric field-assisted fermentation of a *Hanseniaspora sp.* strain to produce low-alcohol cider. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 59, 1 jan. 2020c.

DACCACHE, M. AL *et al.* Suitability of the Lebanese “Ace spur” apple variety for cider production using *Hanseniaspora sp.* Yeast. **Fermentation**, v. 6, n. 1, 2020b.

DACCACHE, M. *et al.* Ultrasound-assisted fermentation for cider production from Lebanese apples. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 63, p. 104952, maio 2020a.

DACOREGGIO, M. V. *et al.* A Comprehensive Review of *Eugenia pyriformis* Cambess: Reported Bioactivities and Health Effects. **Food Reviews International**, 2021.

DAI, C. *et al.* Effects of low-intensity ultrasound on the growth, cell membrane permeability and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 36, p. 191–197, 1 maio 2017.

DANTAS, A. M. *et al.* Bioaccessibility of phenolic compounds in native and exotic frozen pulps explored in Brazil using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier. **Food Chemistry**, v. 274, p. 202–214, 2019.

DECONINCK, N. *et al.* Innovative harvesting processes for microalgae biomass production: A perspective from patent literature. **Algal Research**, v. 31, p. 469–477, 1 abr. 2018.

DI VAIO, C. *et al.* Application of anti-transpirant to control sugar accumulation in grape berries and alcohol degree in wines obtained from thinned and unthinned vines of cv. Falanghina (*Vitis vinifera* L.). **Agronomy**, v. 10, n. 3, 2020.

DIPOV – Divisão de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal – Anexo à norma interna DIPOV nº 01/2019. Consolidação das Normas de Bebidas, Fermentado Acético, Vinho e Derivados da Uva e do Vinho.

DIVOL, B; TOIT, M DU; DUCKITT, E. Surviving in the presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 95, n. 3, p. 601-13, jun. 2012.

DU, Q. *et al.* Effect of low temperature on the shaping of yeast-derived metabolite compositions during wine fermentation. **Food Research International**, v. 162, 1 dez. 2022.

DUARTE, W. F. *et al.* Characterization of different fruit wines made from cacao, cupuassu, gabirola, jaboticaba and umbu. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 10, p. 1564–1572, dez. 2010.

DURAZZINI, A. M. S. *et al.* *Eugenia pyriformis* Cambess: a species of the Myrtaceae family with bioactive essential oil. **Natural Product Research**, 2019.

ERHU, Li *et al.* **Dynamic brewing method of low-alcohol fruit wine**. Depositante: Univ Huazhong Agricultural. CN n. 11961553. Depósito: 30 jul. 2020. Concessão: 20 nov. 2020.

ESCUADERO-LÓPEZ, B. *et al.* Effect of Acute Intake of Fermented Orange Juice on Fasting and Postprandial Glucose Metabolism, Plasma Lipids and Antioxidant Status in **Healthy Human**. **Foods**, v. 11, n. 9, 1 maio 2022.

FARIAS, D. DE P. *et al.* A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. **Food Chemistry**, v. 306, p. 125630, 15 fev. 2020a.

FARIAS, D. DE P. *et al.* Distribution of nutrients and functional potential in fractions of *Eugenia pyriformis*: An underutilized native Brazilian fruit. **Food Research International**, v. 137, 1 nov. 2020b.

FARIAS, D. DE P. *et al.* Effect of in vitro digestion on the bioaccessibility and bioactivity of phenolic compounds in fractions of *Eugenia pyriformis* fruit. **Food Research International**, v. 150, 2021.

FRANCO, D. *et al.* A importância das cumarinas para a química medicinal e o desenvolvimento de compostos bioativos nos últimos anos. **Química Nova**, v. 44, p. 180-197, fev. 2021. Sociedade Brasileira de Química (SBQ).

FREITAS, T. *et al.* Prospective Study on Microencapsulation of Oils and Its Application in Foodstuffs. *Recent patents on nanotechnology*, v. 16, n. 3, p. 219–234, 23 abr. 2022.

FREITAS, T. P. *et al.* Aroma and soluble solid contents of the uvaia - a native Atlantic rainforest fruit - are negatively affected by early harvest. **Journal of Food Biochemistry**, v. 43, n. 7, 1 jul. 2019.

FREITAS, Thais Pádua. Pós-colheita de uvaia: caracterização de acessos e estádios de maturação. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.

FUCHS, F. D.; FUCHS, S. C. The Effect of Alcohol on Blood Pressure and Hypertension. **Current Hypertension Reports**, v. 23, n. 42, p. 3, 2021.

GAMBACORTA, G. *et al.* Impact of ultrasounds on the extraction of polyphenols during winemaking of red grapes cultivars from southern Italy. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 43, p. 54–59, 1 out. 2017.

GÂTLAN, A. M.; GUTT, G.; NAGHIU, A. Capitalization of sea buckthorn waste by fermentation: Optimization of industrial process of obtaining a novel refreshing drink. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 8, 1 ago. 2020.

GHAFOOR, K. *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 11, p. 4988-94, jun. 2009.

GIACON, G. Viveiro Ciprest. < <https://ciprest.blogspot.com/2019/11/uvaia-ou-orvalha-eugenia-pyriformis.html>>

GIAROLA, T, M, DE O; PEREIRA, C, G; RESENDE, J, V DE. Fortification with iron chelate and substitution of sucrose by sucralose in light uvaia sherbet (*Eugenia pyriformis* Cambess): physical, chemical and sensory characteristics. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 9, p. 5522-5533, set. 2015.

GOULAS, V.; HADJISOLOMOU, A. Dynamic changes in targeted phenolic compounds and antioxidant potency of carob fruit (*Ceratonia siliqua* L.) products during in vitro digestion. **LWT**, v. 101, p. 269–275, 1 mar. 2019.

GRANATO, D. *et al.* Functional Foods: Product Development, Technological Trends, Efficacy Testing, and Safety. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 11, p. 93–118, 2020.

GUENGGUI, Liu *et al.* **Siraitia grosvenorii wine and preparation method thereof**. Depositante: Liu Guenggui. CN n. 114410411. Depósito: 11 jan. 2022. Concessão: 29 abr. 2022.

GUERRINI, S. *et al.* Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Starmerella bacillaris* on the physicochemical and sensory characteristics of sparkling pear cider (Perry). **European Food Research and Technology**, v. 1, p. 1–12, 15 set. 2022.

GUINÉ, R. P. F. *et al.* Apple fermented products: An overview of technology, properties and health effects. **Processes**. MDPI AG, 1 fev. 2021.

GUO, J. *et al.* Effects of enzymatic hydrolysis on the chemical constituents in jujube alcoholic beverage fermented with *Torulaspora delbrueckii*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 97, p. 617–623, 1 nov. 2018.

GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E. P. *et al.* Review: Dietary phenolic compounds, health benefits and bioaccessibility. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 66, n. 2, p. 87–100, 2016.

HAMINIUK, C. W. I. *et al.* Extraction and quantification of phenolic acids and flavonols from *Eugenia pyriformis* using different solvents. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2862–2866, 24 jun. 2012.

HO, C. W. *et al.* Alcoholic fermentation of soursop (*Annona muricata*) juice via an alternative fermentation technique. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 3, p. 1012–1021, 1 fev. 2020.

HUANG, J. *et al.* Effect of inoculation method on the quality and nutritional characteristics of *low-alcohol* kiwi wine. **LWT**, v. 156, p. 113049, 15 fev. 2022.

HUTKINS, R. W. **Microbiology and Technology of Fermented Foods**. 1. ed. Blackwell Publishing, Iowa, 2006. 475p.

INADA, K. O. P. *et al.* Bioaccessibility of phenolic compounds of jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) peel and seed after simulated gastrointestinal digestion and gut microbiota fermentation. **Journal of Functional Foods**, v. 67, p. 103851, 1 abr. 2020.

International Wine and Spirit Research (IWSR). No- and *Low-alcohol* in Key Global Markets Reaches Almost US\$10 Billion in Value, 2021 <<https://www.theiwsr.com/no-and-low-alcohol-in-key-global-markets-reaches-almost-us10-billion-in-value/>>

JACOMINO, A. P. *et al.* Uvaia — *Eugenia pyriformis* Cambess In: **Exotic Fruits Reference Guide**. Elsevier, 2018. p. 435–438.

JAWAD, U. M. *et al.* Expression pattern of sugars and organic acids regulatory genes during watermelon fruit development. **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109102, 30 abr. 2020.

JIANG, X.; LU, Y.; LIU, S. Q. Effects of Different Yeasts on Physicochemical and Oenological Properties of Red Dragon Fruit Wine Fermented with *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii* and *Lachancea thermotolerans*. **Microorganisms** 2020, Vol. 8, Page 315, v. 8, n. 3, p. 315, 25 fev. 2020a.

JIANG, X.; LU, Y.; LIU, S. Q. Effects of pectinase treatment on the physicochemical and oenological properties of red dragon fruit wine fermented with *Torulaspora delbrueckii*. **LWT**, v. 132, p. 109929, 1 out. 2020b.

JUN, Zhang *et al.* **Rose fragrance low alcohol sweet white grape wine and its brewing process**. Depositante: Sino French Joint Venture Dynasty Winery Ltd. CN n. 103484285. Depósito: 30 set. 2013. Concessão: 1 jan. 2014.

JUNGUANG, Hao *et al.* **Brewing method of mulberry leaf and malt juice composite low-alcohol fruit wine**. Depositante: Univ Beibu Gulf. CN n. 111394216. Depósito: 22 maio 2020. Concessão: 10 jul. 2020.

JUNIOR, W. J. F. L. *et al.* Potential use of *Starmerella bacillaris* as fermentation starter for the production of *low-alcohol* beverages obtained from unripe grapes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 303, p. 1–8, 16 ago. 2019.

JUO, Zhang *et al.* **Fruit fragrance enriched muscat hamburg low-alcohol grape wine and brewing process thereof**. Depositante: Sino French Joint Venture Dynasty Winery Ltd. CN n. 104388230. Depósito: 2 dez. 2014. Concessão: 4 mar. 2015.

KAHKESHANI, N *et al.* Pharmacological effects of gallic acid in health and disease: a mechanistic review. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 22, n. 3, p. 225-237, mar. 2019. Mashhad University of Medical Sciences.

KELANNE, N *et al.* Phenolic compound profiles in alcoholic black currant beverages produced by fermentation with *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, p. 10128-10141, 2020.

KETNAWA, S. *et al.* Changes in bioactive compounds and antioxidant activity of plant-based foods by gastrointestinal digestion: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 17, p. 4684–4705, 2022.

KHARAZMI, S.; TAHERI-KAFRANI, A.; SOOZANIPOUR, A. Efficient immobilization of pectinase on trichlorotriazine-functionalized polyethylene glycol-grafted magnetic nanoparticles: A stable and robust nanobiocatalyst for fruit juice clarification. **Food Chemistry**, v. 325, p. 126890, 30 set. 2020.

KIST, B B. *et al.* **Anuário brasileiro de Horti&Fruti** 2021, Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2021. 104p. ISSN 2107-0897.

LANDETE, J. M. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. **Food Research International**, v. 44, p. 1150–1160, 1 jun. 2011.

LAPUENTE, L. *et al.* Ultrasound treatment of crushed grapes: Effect on the must and red wine polysaccharide composition. **Food Chemistry**, v. 356, p. 129669, 15 set. 2021.

LE, T. T. H.; LE, N. L. Antioxidant capacities and betacyanin lc-ms profile of red-fleshed dragon fruit juice (*Hylocereus polyrhizus*) extracted by ultrasound-assisted enzymatic treatment and optimized by response surface methodology. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 3, p. e15217, 1 mar. 2021.

LEONARD, W. *et al.* Fermentation transforms the phenolic profiles and bioactivities of plant-based foods. **Biotechnology Advances**, v. 49, p. 107763, 1 jul. 2021.

LI, H. *et al.* Comparison of fermentation behaviors and properties of raspberry wines by spontaneous and controlled alcoholic fermentations. **Food Research International**, v. 128, p. 108801, 2020a.

LI, S. *et al.* Enhancing antioxidant activity and fragrant profile of low-ethanol kiwi wine via sequential culture of indigenous *Zygosaccharomyces rouxii* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Bioscience**, p. 102210, 18 nov. 2023.

LI, X. *et al.* The impact of ultrasonic treatment on blueberry wine anthocyanin color and its In-vitro anti-oxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 333, p. 127455, 15 dez. 2020b.

LI, Y. *et al.* Effects of Genetic Background and Altitude on Sugars, Malic Acid and Ascorbic Acid in Fruits of Wild and Cultivated Apples (*Malus* sp.). **Foods**, v. 10, 2021.

LIANG, H. *et al.* Effect of Fermentation Strategy on the Quality and Aroma Characteristics of Yellow Peach Wines. **Fermentation**, v. 8, n. 11, p. 604, 4 nov. 2022.

LIGUORI, L. *et al.* Production of *Low-alcohol* Beverages: Current Status and perspectives. Em: **Food Processing for Increased Quality and Consumption**. Academic Press, 2018. p. 347–382.

LIHUA, C. *et al.* **Production method for low-alcohol-content yellow-peach wine**. Depositante: Shangai Inst Tech. CN n. 111363653. Depósito: 8 maio 2020. Concessão: 3 jul. 2020.

LIMA, U. A. *et al.* **Biotecnologia Industrial**. Processos fermentados e enzimáticos. 1. ed. São Paulo: Blucher, 2001, v. 3, 593 p.

LIN, X. *et al.* Improved flavor profiles of red pitaya (*Hylocereus lemairei*) wine by controlling the inoculations of *Saccharomyces bayanus* and *Metschnikowia agaves* and the fermentation temperature. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 12, p. 4469-4480, dez. 2020.

LIN, Y. *et al.* Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. **Biomass and Bioenergy**, v. 47, p. 395-401, 2012.

LIU, S. *et al.* Chemical composition of bilberry wine fermented with non-*Saccharomyces* yeasts (*Torulaspora delbrueckii* and *Schizosaccharomyces pombe*) and *Saccharomyces cerevisiae* in pure, sequential and mixed fermentations. **Food Chemistry**, v. 266, p. 262–274, 2018.

- LOPES, A. C. A. *et al.* New alcoholic fermented beverages-potentials and challenges. Em: **Fermented Beverages: Volume 5. The Science of Beverages**. Elsevier, 2019. p. 577–603.
- LORENZO, J. M. *et al.* Polyphenols: Bioaccessibility and bioavailability of bioactive components. Em: **Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds**, p. 309-332, 2019.
- LU, Y. *et al.* The effects of co- and sequential inoculation of *Torulaspora delbrueckii* and *Pichia kluyveri* on chemical compositions of durian wine. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 21, p. 7853–7863, 1 nov. 2017.
- LUZÓN-QUINTANA, L. M.; CASTRO, R.; DURÁN-GUERRERO, E. Biotechnological Processes in Fruit Vinegar Production. **Foods**, v. 10, 2021.
- MA, J. *et al.* The quality change of fig wine fermented by RV171 yeast during the six-month aging process. **LWT**, v. 166, 15 ago. 2022.
- MA, S. *et al.* Juice Clarification with Pectinase Reduces Yeast Assimilable Nitrogen in Apple Juice without Affecting the Polyphenol Composition in Cider. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 11, p. 2772–2781, 1 nov. 2018.
- MA, X. *et al.* Properties and structures of commercial polygalacturonase with ultrasound treatment: role of ultrasound in enzyme activation. **RSC Adv.**, v. 5, p. 107591-107600, 2015.
- MA, X.; CAI, J.; LIU, D. Ultrasound for pectinase modification: an investigation into potential mechanisms. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 12, p. 4636–4642, 24 set. 2020.
- MANTZOURANI, I. *et al.* Functional pomegranate beverage production by fermentation with a novel synbiotic *L. paracasei* biocatalyst. **Food Chemistry**, v. 308, p. 125658, 5 mar. 2020.
- MARATHE, S. J. *et al.* Improvements in the extraction of bioactive compounds by enzymes. **Current Opinion in Food Science**, v. 25, p. 62–72, 1 fev. 2019.
- MARQUES, C. *et al.* Full physicochemical characterization of malic acid: Emphasis in the potential as food ingredient and application in pectin gels. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 12, p. 9118–9129, 1 dez. 2020.
- MARSIT, S.; DEQUIN, S. Diversity and adaptive evolution of *Saccharomyces* wine yeast: a review. **FEMS yeast research**, 1 nov. 2015.
- MAS, A. *et al.* **Microbiology of Fermented Foods**. 2 ed. Glasgow: Blackie Academic and professional, 2015. v. 1.
- MEHLOMAKULU, N. N. *et al.* Screening Non-*Saccharomyces* Yeasts as Low Ethanol Producing Starter Cultures. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 42, n. 1, p. 56–66, 2021.
- MERLINO, V. M. *et al.* Is the Consumer Ready for Innovative Fruit Wines? Perception and Acceptability of Young Consumers. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1545, 4 jul. 2021.

MINEKUS, M. *et al.* A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. **Food & Function**, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 28 maio 2014.

MITROPOULOU, G. *et al.* *Citrus medica* and *Cinnamomum zeylanicum* Essential Oils as Potential Biopreservatives against Spoilage in *Low-alcohol* Wine Products. **Foods**, v. 9, n. 5, 1 maio 2020.

MIYAZAWA, Tamara Miranda. **Compostos voláteis da uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess)**. 2009. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo, 2009.

NADEEM, M. *et al.* Effect of ultrasound and chemical treatment on total phenol, flavonoids and antioxidant properties on carrot-grape juice blend during storage. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 45, p. 1–6, 1 jul. 2018.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NETO, J. R. C.; SILVA, S. DE M.; DANTAS, R. L. Attributes of quality, bioactive compounds and antioxidant activity of uvaia fruit during maturation. **Agrarian** (Dourados, Brazil), v. 13, n. 49, p. 269–308, 2020.

NINGA, K. A. *et al.* Pectinase hydrolysis of guava pulp: effect on the physicochemical characteristics of its juice. **Heliyon**, v. 7, n. 10, p. e08141, out. 2021.

NUTT, D. *et al.* Alcohol and the Brain. **Nutrients**, v. 13, n. 3938, 2021.

OIV – International Organisation of Vine and Wine. **Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis**, 2021. <https://www.oiv.int/public/medias/7907/oiv-voll-compendium-of-international-methods-of-analysis.pdf>

OLIVEIRA, E. R. *et al.* Bioactive composition and sensory evaluation of blended jambolan (*Syzygium cumini*) and sugarcane alcoholic fermented beverages. **Journal of Institute of Brewing**, v. 122, p. 719-728, 2016.

Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO). **Statistical Yearbook 2021 – World Food and Agriculture**. Rome, 2021. 368p.

OZYILMAZ, G.; GUNAY, E. Clarification of apple, grape and pear juices by co-immobilized amylase, pectinase and cellulase. **Food Chemistry**, v. 398, p. 133900, 1 jan. 2023.

PARAPOULI, M. *et al.* *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. **AIMS Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 1-31, 11 fev. 2020.

PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A. J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology** 2012 6:1, v. 6, n. 1, p. 36–60, 11 maio 2012.

PATIL, P. S. *et al.* Production, optimization, and characterization of sugarcane (*Saccharum officinarum*)–papaya (*Carica papaya*) wine using *Saccharomyces cerevisiae*. **Environmental Technology and Innovation**, v. 21, 1 fev. 2021.

PAULINE, M. *et al.* Production technique and sensory evaluation of traditional alcoholic beverage based maize and banana. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 10, p. 11-15, 2017.

PEI, K. *et al.* p-Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. **J Sci Food Agric**, v. 96, p. 2952-2962, 2015.

PEREIRA, M. C. *et al.* Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 12, p. 3061–3067, 28 mar. 2012.

PÉREZ-PORRAS, P. *et al.* Using high-power ultrasounds in red winemaking: Effect of operating conditions on wine physico-chemical and chromatic characteristics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 138, p. 110645, 1 mar. 2021.

PHAM, D. T. *et al.* Influence of partial dealcoholization on the composition and sensory properties of Cabernet Sauvignon wines. **Food Chemistry**, v. 325, p. 126869, 30 set. 2020.

RADZIEJEWSKA-KUBZDELA, E. *et al.* Effect of ultrasound, heating and enzymatic pre-treatment on bioactive compounds in juice from *Berberis amurensis* Rupr. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 63, 1 maio 2020.

RAMADAN, M. F.; MOERSEL, J. T. Impact of enzymatic treatment on chemical composition, physicochemical properties and radical scavenging activity of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 3, p. 452–460, fev. 2007.

RASUL, A. *et al.* Pinocembrin: A novel natural compound with versatile pharmacological and biological activities. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

RE, R. *et al.* Antioxidant Activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231–1237, 1999.

RIZELIO, V. M. *et al.* Development of a fast capillary electrophoresis method for determination of carbohydrates in honey samples. **Talanta**, v. 93, p. 62–66, 15 maio 2012.

RODRIGUES, L. M. *et al.* Uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) residue as a source of antioxidants: An approach to ecofriendly extraction. **LWT - Food Science and Technology**, v. 138, p. 110785, 2021.

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J. *et al.* Impact of food matrix and processing on the in vitro bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 33–43, 1 abr. 2015.

RONG, Yin *et al.* **Preparation method of low-alcohol jujube wine and jujube pulp filtering device**. Depositante: Pomology Inst Shanxi Academy Agricultural Sciences. CN n. 111471557. Depósito: 15 abr. 2020. Concessão: 31 jul. 2020.

SANTOS, R. T. S. E *et al.* Estudo Prospectivo de Documentos de Patentes Relacionados à Produção de Bebidas Alcoólicas Fermentadas de Frutas. **Cadernos de Prospecção**, v. 14, n. 1, p. 242–254, 2021b.

SANTOS, R. T. S. *et al.* Physicochemical characterization, bioactive compounds, in vitro antioxidant activity, sensory profile and consumer acceptability of fermented alcoholic beverage obtained from Caatinga passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.). **LWT**, v. 148, p. 111714, 1 ago. 2021a.

SARANRAJ, P.; SIVASAKTHIVELAN, P.; NAVEEN, M. Fermentation of fruit wine and its quality analysis: A review. **Australian Journal of Science and Technology**, v. 1, n. 2, p. 85–97, 2017.

SARTORI, G. V. *et al.* Characterization of a Fermented Feijoa Beverage. **International Journal of Agriculture and Natural Resources**, v. 47, n. 1, p. 35–45, 2020.

SCHIASSI, M. C. E. V. *et al.* Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. **Food Chemistry**, v. 245, p. 305–311, 15 abr. 2018.

SCHMIDT, H. DE O. *et al.* Vitamin and bioactive compound diversity of seven fruit species from south Brazil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 7, p. 3307–3317, 1 maio 2019.

SERAGLIO, S. K. T. *et al.* Development and validation of a LC-ESI-MS/MS method for the determination of phenolic compounds in honeydew honeys with the diluted-and-shoot approach. **Food Research International**, v. 87, p. 60–67, 1 set. 2016.

SGANZERLA, W. G. *et al.* Geographical discrimination of uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) by principal component analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 15, p. 6778–6787, 1 dez. 2019.

SGANZERLA, W. G. *et al.* Nutritional, physicochemical and antimicrobial properties of uvaia pulp (*Eugenia pyriformis* Cambess). **Communications in Plant Sciences**, 2018.

SGANZERLA, W. G. *et al.* Variability in the molecular, phenological, and physicochemical characteristics of uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess - Myrtaceae) accessions from the Brazilian Atlantic rainforest. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 35, 2021.

SGANZERLA, W. G.; SILVA, A. P. G. Uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess – Myrtaceae): An overview from the origin to recent developments in the food industry – A bibliometric analysis. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 10, p. 100369, 1 dez. 2022.

SILVA, A. P. G. DA *et al.* Chemical composition, bioactive compounds, and perspectives for the industrial formulation of health products from uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess – Myrtaceae): A comprehensive review. **Journal of Food Composition and Analysis**, p. 104500, mar. 2022.

SILVA, A. P. G. *et al.* Chemical composition, nutritional value and bioactive compounds in six uvaia accessions. **Food Chemistry**, v. 294, p. 547–556, 1 out. 2019a.

SILVA, C. V. *et al.* Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess - Myrtaceae). *Revista Brasil. Bot.*, v. 26, n. 2, p. 213 – 221, jun. 2003.

SILVA, N. A. DA *et al.* Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 22, p. 5072–5084, 4 jun. 2014.

SILVA, O. R. *et al.* Análise comparativa do processo de patente brasileiro considerando as variáveis tempo e custo de concessão dos pedidos comparative analysis of the brazilian patent process considering the variables time and cost of order granting. **Contabilidade, Atuária, Finanças & Informação**, Cafí. v. 2, n. 2, p. 211-225, 2019c.

SILVA, T. K. *et al.* Physicochemical and microbiological stability of mixed nectar of orange and uvaia. Physicochemical and microbiological stability of mixed nectar of orange and uvaia. **Ciência Rural**, v. 49, n. 7, 2019b.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 50, p. 144–158, 1965.

SOBOWALE, S. S.; OMOSEBI, O. M.; ANIMASHAUN, O. H. Characterization of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyces wine using date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit extracts as a substitute for granulated sugar. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 11, 1 nov. 2021.

SOO, K. S. *et al.* **Method for manufacturing of non alcohol wine and low alcohol wine prepared thereby**. Depositante: Korea Food Res Inst. KR n. 20220152673. Depósito: 10 maio 2021. Concessão: 17 nov. 2022.

SORNPAISARN, B. *et al.* Resource tool on alcohol taxation and pricing policies. Geneva: **World Health Organization**. 2017.

SOUZA, A. C. L. *et al.* Alcoholic beverages from araçá-boi fruit: quantification of antioxidant compounds by NMR ERETIC2. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 12, p. 4733–4738, 1 dez. 2020.

SOUZA, A. M. *et al.* Chemical Composition and In Vitro Antimicrobial Activity of the Essential Oil Obtained from *Eugenia pyriformis* Cambess (Myrtaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, 2021.

SOUZA, P. L. L. *et al.* Evaluation of sensory and antioxidant properties of araçá-boi wines as an effect of yeast type, must filtration and fermentation temperature. **Chemical Papers**, v. 76, n. 6, p. 3531–3540, 1 jun. 2022.

STAFUSSA, A. P. *et al.* Bioactivity and bioaccessibility of phenolic compounds from Brazilian fruit purees. **Future Foods**, v. 4, p. 100066, 1 dez. 2021.

STATISTA, 2022 – Major producers of fresh fruit worldwide 2020. **Leading producers of fresh fruit worldwide in 2020 (in million metric tons)**. <<https://www.statista.com/statistics/279164/global-top-producers-of-selected-fresh-fruit-worldwide/>>

SUN, X. *et al.* Letting wine polyphenols functional: Estimation of wine polyphenols bioaccessibility under different drinking amount and drinking patterns. **Food Research International**, v. 127, 1 jan. 2020.

SWAMI, S. B.; THAKOR, N. J.; DIVATE, A. D. Fruit Wine Production: A Review. **Journal of Food Research and Technology**, v. 3, n. 3, p. 93-100, 2014.

TARKO, T.; DUDA-CHODAK, A.; SOSZKA, A. Changes in phenolic compounds and antioxidant activity of fruit musts and fruit wines during simulated digestion. **Molecules**, v. 25, n. 3, 1 dez. 2020.

TCHABO, W. *et al.* Ultrasound-assisted enzymatic extraction (UAEE) of phytochemical compounds from mulberry (*Morus nigra*) must and optimization study using response surface methodology. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 214–225, 1 jan. 2015.

TIANLONG, Wang *et al.* **Preparation method of morinda citrifolia enzyme fruit wine and morinda citrifolia enzyme fruit wine**. Depositante: Jilin Engineering Technology Teaching Univ. CN n. 114395460. Depósito: 12 fev. 2022. Concessão: 26 abr. 2020.

ONU- the United Nations, 2015. Transforming our world: the 2030 agenda for sustainable development. < <https://sdgs.un.org/sites/default/files/publications/21252030%20Agenda%20for%20Sustainable%20Development%20web.pdf>>

UNITED STATES. U.S Code, Title 27, § 214 - Definitions. Nov. 18, 1988 Alcoholic Beverage Labeling Act of 1988.

VALENTOVÁ, K. *et al.* Isoquercitrin: Pharmacology, toxicology, and metabolism. **Food and Chemical Toxicology**, v. 68, p. 267–282, 1 jun. 2014.

VALIM, F. DE P. *et al.* Production of Star Fruit Alcoholic Fermented Beverage. **Indian Journal of Microbiology**, v. 56, n. 4, p. 476–481, 1 dez. 2016.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2016. v. 1, 575p.

WANDERLEY, B. R. DA S. M. *et al.* Phenolic profiling, organic acids and sugars composition of feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret) and uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) from the southern Brazilian highlands. **Ciência Rural**, v. 52, n. 12, 2022a.

WANDERLEY, B. R. DA S. M. *et al.* How native and exotic Brazilian fruits affect the profile of organic acids and the yeast performance during the mead fermentation process? **JSFA reports**, v. 2, n. 4, p. 161–167, abr. 2022b.

WANG, Shusheng *et al.* **Rose fragrance low alcohol bubbling pink grape wine and its brewing process**. Depositante: Sino French Joint Venture Dynasty Winery. CN n. 100402637. Depósito: 29 mar. 2006. Concessão: 16 jul. 2008.

WANG, S. *et al.* **Rose fragrance low alcohol bubbling white grape wine and its brewing process**. Depositante: Sino French Joint Venture Wangchao Grape Brewing Co. Ltd. CN n. 100436573. Depósito: 29 mar. 2006. Concessão: 26 nov. 2008.

WANG, Y.; ZENG, X. A.; CAI, J. L. Preparation of *Low-alcohol* Pineapple Wine by Different Methods of Terminating Fermentation. **Modern Food Science and Technology**, v. 37, n. 3, 20 mar. 2021.

WEI, J. *et al.* Assessment of chemical composition and sensorial properties of ciders fermented with different non-*Saccharomyces* yeasts in pure and mixed fermentations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 318, p. 108471, 2 abr. 2020.

WHO – World Health Organization, 2010. **Global strategy to reduce the harmful use of alcohol**. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241599931>.

WHO – World Health Organization, 2022a. **Alcohol**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/alcohol>

WHO – World Health Organization, 2022b. **World Health Statistics 2022 – Monitoring health for the SDGs**.

WHO – World Health Organization. **Alcohol pricing in the WHO European Region – Update report on the evidence and recommended policy actions**. 2020. 36p

WIE, Liu *et al.* **Fragrance-enhancing *Hanseniaspora opuntiae* and application thereof in low-alcohol sweet navel orange wine**. Depositante: Hunan Agricultural Product Proc Institute. CN n. 113308388. Depósito: 28 maio 2021. Concessão: 27 ago. 2021.

WIPO – World Intellectual Property Organization, 2020a. **Global Innovation Index**. Disponível em: https://www.wipo.int/export/sites/www/pressroom/pt/documents/pr_2020_848.pdf.

WIPO – World Intellectual Property Organization, 2020b. **Global Innovation Index**. Disponível em: https://www.wipo.int/edocs/pubdocs/en/wipo_pub_gii_2020/jp.pdf.

WIPO – World Intellectual Property Organization, 2021. **Global Innovation Index**. 2021. Disponível em: https://www.wipo.int/edocs/pubdocs/pt/wipo_pub_gii_2021_exec.pdf

XIA, Z. *et al.* Effect of Malolactic Fermentation on Volatile Compounds of Merlot *Low-alcohol* Rose Wine. **Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery**, v. 51, n. 11, p. 338–348, 2020.

YAHIA, E. M. **Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health**. 2. ed. Mexico: Willey Blackwell, 2018.

YAN, Z. *et al.* **Yeast strain with low ethanol yield and high aroma and use thereof**. Depositante: Univ Guizhou Medical. CN n. 113773977. Depósito: 16 out. 2021. Concessão: 10 dez. 2021.

YANG, W. *et al.* Chemical composition, sensory profile and antioxidant capacity of *low-alcohol* strawberry beverages fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 149, p. 111910, 1 set. 2021.

YANG, X. *et al.* Enhancement of the aroma in *low-alcohol* apple-blended pear wine mixed fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces* yeasts. **LWT**, v. 155, 1 fev. 2022.

YAPING, H. *et al.* **Production method of high-resveratrol low-alcohol fermented vitis davidii oral liquid.** Depositante: Hunan Junqi Liquor Ind Co. Ltd. CN n. 112812913. Depósito: 19 fev. 2021. Concessão: 18 maio 2021.

YE, M.; YUE, T.; YUAN, Y. Evolution of polyphenols and organic acids during the fermentation of apple cider. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 14, p. 2951–2957, 1 nov. 2014.

YU, Z. *et al.* Potential use of ultrasound to promote fermentation, maturation, and properties of fermented foods: A review. **Food Chemistry**, v. 357, p. 129805, 30 set. 2021.

YUAN, L. *et al.* Optimization of fermentation conditions for fermented green jujube wine and its quality analysis during winemaking. **Journal of Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 288–299, 1 jan. 2022.

YUSOFF, I. M. *et al.* A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. **Food Research International**, v. 157, p. 111268, 1 jul. 2022.

YUXIA, Sun *et al.* **Fruit-flavor low-alcohol refreshing apple wine and preparation method thereof.** Depositante: Shangdong Acad Of Grape. CN n. 113755289. Depósito: 30 set. 2021. Concessão: 7 dez. 2021.

ZANWAR, A. A. *et al.* Antioxidant Role of Catechin in Health and Disease. Em: **Polyphenols in Human Health and Disease.** Elsevier Inc., 2013b. v. 1p. 267–271.

ZANWAR, A. A. *et al.* Role of Gallic Acid in Cardiovascular Disorders. Em: **Polyphenols in Human Health and Disease.** Elsevier Inc., 2013a. v. 2p. 1045–1047.

ZHENGLYU, L. *et al.* **Production method of low-sugar low-alcohol mulberry wine.** Depositante: Guangxi Yishengyuan Ecological Agriculture Co. Ltd. CN n. 112430515. Depósito: 16 out. 2020. Concessão: 02 mar. 2021.

ZHULAN, H. *et al.* **Brewing method of frozen fermented low-alcohol grape wine.** Depositante: Univ Guiyang. CN n. 114958510. Depósito: 11 jul. 2022. Concessão: 30 ago. 2022.