

Determinação de metanol e etanol na produção de fermentado artesanal de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*)

PIRES, Juliana Angelo
TEIXEIRA, Natália Navarro
GOMES, Winston Pinheiro Claro

Resumo

O consumo de bebidas alcoólicas vem aumentando ao longo dos anos, e assim, cada vez mais, o padrão de qualidade das mesmas necessita de mais rigor. As análises dos parâmetros físico-químicos são responsáveis pelo controle de qualidade e identidade, podendo revelar fraudes, adulterações ou utilização de matérias-primas de má qualidade que podem elevar metabólitos tóxicos oriundos do processo fermentativo. Desta forma, este trabalho objetivou avaliar a possibilidade da fermentação de dois processos distintos para produção de fermentado artesanal de jaboticaba, comparando e quantificando os teores de etanol e metanol em ambos os processos. As jaboticabas foram colhidas, transportadas e higienizadas com solução sanitizante. No Processo 1 (P1) foi realizado o esmagamento para a ruptura das bagas e produção do mosto. Este mosto foi tratado com metabissulfito de sódio e posteriormente foi adicionado leveduras comerciais da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Para o processo 2 (P2) as frutas foram mantidas em sua integridade e foi adicionado açúcar com pequena quantidade de água, metabissulfito e a mesma levedura de P1. A fermentação foi considerada encerrada após a estabilização do valor de sólidos solúveis, sendo para P1 24Brix iniciais e 5Brix finais e para P2 45Brix iniciais e 24Brix finais. Posteriormente, a parte sólida foi separada da bebida. Posteriormente o fermentado foi centrifugado e envazado em frascos âmbar. Para quantificação dos teores de etanol e metanol foi realizada análise em cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama e extração por *headspace* (*Headspace - Gas Chromatography - Flame Ionization Detector*). Os resultados obtidos para o teor alcoólico estão em consonância com o que estabelece a legislação vigente para fermentados de jaboticabas, entretanto P1 apresentou maior quantidade de etanol que P2. Quanto aos teores de metanol apresentaram abaixo do limite máximo de toxicidade nos dois processos, sendo que P2 apresentou menor valor relativo ao P1. Portanto, foi possível produzir um fermentado artesanal de jaboticaba com teores de etanol conforme exigido pela legislação e com teores de metanol dentro dos limites tolerados pelo organismo humano, comprovando que a quantidade de pectina na jaboticaba não é suficiente para ter um fermentado com alto teor de metanol.

Palavras-chave: Jaboticaba. Fermentado artesanal. Cromatografia gasosa.

Abstract

The consumption of alcoholic beverages has been increasing over the years, and so the quality standard of them needs more rigor. Analyzes of physical-chemical parameters are responsible for quality and identity control, and may reveal fraud, adulteration or use of poor-quality raw materials that can elevate toxic metabolites from the fermentation process. This work aimed to evaluate the possibility of fermentation of two different processes for the production of artisanal fermented of jaboticaba, comparing and quantifying the levels of ethanol and methanol in both processes. The jaboticabas were harvested, transported and sanitized with a sanitizing solution. In Process 1 (P1), crushing was carried out to break the berries and produce the must. This must was treated with sodium metabisulfite and later commercial yeasts of the species *Saccharomyces cerevisiae* were added. For process 2 (P2) the fruits were kept in their integrity and sugar with a small amount of water, metabisulfite and the same yeast as P1 was added. The fermentation was considered finished after the stabilization of the soluble solids value, being for initial P1 24Brix and final 5Brix and for P2 45Brix initial and final 24Brix. Afterwards the solid part was separated from the drink. Subsequently, the fermented wine was centrifuged and filled in amber bottles. To quantify the ethanol and methanol levels, gas chromatography analysis with flame ionization detection and headspace extraction

(Headspace - Gas Chromatography - Flame Ionization Detector) was performed. The results obtained for the alcoholic content are in line with what is established in the current legislation for fermented of jaboticaba, however P1 presented a greater quantity of ethanol than P2. As for methanol content, presented below the maximum toxicity limit in both processes, and P2 presenting a lower value relative to P1. Therefore, it was possible to produce an artisanal fermented of jaboticaba with levels of ethanol as required by law and with levels of methanol within the limits tolerated by the human body, proving that the amount of pectin in the jaboticaba is not sufficient to have a fermentate with a high content of methanol.

Keywords: *Jaboticaba*. Handmade fermented. Gas chromatography.

Resumen

El consumo de bebidas alcohólicas viene creciendo desde hace los años, y cada día más se necesitan estándares de calidad más estrictos. El análisis de dos parámetros físico-químicos son responsables del control de calidad e identidad, pueden revelar fraude, adulteración o el uso de materias primas de calidad inferior que pueden generar metabolitos tóxicos en el proceso de fermentación. Así, este trabajo tiene como objetivo validar la posibilidad de fermentación de dos procesos diferentes para la producción de fermentado de jaboticaba artesanal, comparando y cuantificando el contenido de etanol y metanol en ambos procesos. Las jaboticabas se recolectaron, transportaron y desinfectaron como solución desinfectante. En el proceso No. 1 (P1) se realizó aplastamiento para romper las bayas y producir el mosto. Este mosto se trató con metabisulfito de sodio y posteriormente se añadieron levaduras comerciales de la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Para el proceso 2 (P2) los frutos se mantuvieron completamente y se añadió azúcar con una pequeña cantidad de agua, metabisulfito y la misma levadura que P1. La fermentación se consideró finalizada después de la estabilización del valor de sólidos solubles, siendo para P1 24 Brix inicial y 5 Brix final y para P2 45 Brix inicial y 24 Brix final. Posteriormente, la parte sólida se separó de la bebida. Posteriormente el fermentado, se centrifugó y se almacenó en botellas de color ámbar. Para la cuantificación de dos niveles de etanol y metanol, se realizó un análisis por cromatografía de gases con detección de ionización de llama y extracción por headspace (*Headspace - Gas Chromatography - Flame Ionization Detector*). Los resultados obtenidos para el contenido de alcohol están de acuerdo con la legislación vigente para fermentado de jaboticaba artesanal, sin embargo, P1 tiene mayor cantidad de etanol que P2. Acerca del contenido del metanol se presentaron debajo del límite máximo de toxicidad en los dos procesos, teniendo P2 un valor menor en relación a P1. Por tanto, fue posible producir fermentado de jaboticaba artesanal con el contenido de etanol como exige la legislación y dentro de dos límites tolerados por el cuerpo humano, comprobando que la cantidad de pectina en la jaboticaba no es suficiente para ser fermentada con un alto contenido de metanol.

Palabras clave: *Jaboticaba*. Fermentado hecho a mano. Cromatografía de gases.

INTRODUÇÃO

Segundo o relatório da *World Health Organization* (WHO), cerca de 2,3 bilhões de pessoas são consumidoras de bebidas alcólicas, sendo que no Brasil, cerca de 40% da população consumiu álcool nos últimos dois anos. Além disso, existe um progressivo aumento na demanda por alimentos identificados de "*comfort food*", que se trata de alimentos que possuem apelo emocional e nostálgico, e que sujeita aos alimentos que são elaborados de maneira artesanal. Logo, bebidas artesanais são amostras típicas dessa classe de alimentos (WANSINK, CHENEY & CHAN, 2003; WHO, 2018).

Entre as bebidas alcoólicas mais consumidas estão as fermentadas, que no Brasil representa cerca de 65% do consumo de álcool *per capita*, podendo ser destacados os fermentados de frutas. No Brasil a definição para fermentado de fruta é: “fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica de 4 a 14% (v/v), a 20°C, obtida pela fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura de uma única espécie, do respectivo suco integral ou concentrado, ou polpa, que poderá nestes casos, ser adicionado de água”, obedecendo assim a legislação vigente (BRASIL, 2009; WHO, 2018; BRASIL, 2019).

Além de estabelecer mínimo e máximo de graduação alcoólica do fermentado de jabuticaba, a Norma operacional nº 1, de 24 de janeiro de 2019 estabelece os valor mínimo de 30 mEq L⁻¹ para acidez fixa, valor máximo de 20 mEq L⁻¹ para acidez volátil e para acidez total mínimo e máximo de 50 e 130 mEq L⁻¹ respectivamente, além de estabelecer valor máximo de anidro sulfuroso de 0,35 g L⁻¹, chaptalização com açúcar da fruta tendo valor máximo de 50% e também valor máximo para cloretos totais de 0,5 g L⁻¹, já para extrato seco reduzido o valor mínimo e de 7 g L⁻¹ e ausência de edulcorantes. Caso o fermentado seja gaseificado o valor mínimo e máximo para Pressão atmosférica a 20° C é de 2 e 3 respectivamente. E se o fermentado for seco a quantidade de açúcar deve ter valor máximo de ≤ 3 g L⁻¹ e se for doce ou suave o valor mínimo e de > 3 g L⁻¹ de açúcar (BRASIL, 2019).

A jabuticaba é uma fruta tropical, tipicamente brasileira, sendo originária da região centro-sul. Popularmente apreciada por suas características sensoriais *in natura*, e pela utilização em produtos processados como geleias, licores e bebidas fermentadas. Como a jabuticaba é uma fruta com características físico-químicas parecidas com as uvas, possui bioativos, como taninos, compostos fenólicos e antocianinas presentes em suas cascas, porém em maior quantidade, e presença de açúcares fermentescíveis, sendo passível de fermentação e de produção de um bom fermentado (CORAZZA; RODRIGUES & NOZAZI, 2001; GUEDES, 2009; SASSO; CITADIN & DANNER, 2010; FORTES, 2012; MACHADO *et al.*, 2013).

No entanto, as jabuticabas possuem teores consideráveis de pectinas, que são utilizadas durante o crescimento e desenvolvimento da fruta ou quando ocorre danos mecânicos na parede celular da fruta, desta forma promovendo a desmetilesterificação da pectina pelas enzimas pectinametilesterase (PME) e promovendo a formação do metanol (ASCHARI *et al.*, 2006; DOROKHOV *et al.*, 2015).

Avaliar o teor de metanol, que é um composto volátil tóxico, é de supra importância já que é uma substância neurotóxica para o ser humano, agindo no sistema nervoso, causa acidose metabólica, cegueira, instabilidade cardiovascular ou até mesmo morte. A ingestão acima de 25 mL pode causar cegueira e até ser fatal ao ser humano (PEREIRA & ANDRADE, 1998; PAINE & DAVAN, 2001; SEQUEIRA, 2018)

Este trabalho teve como objetivo produzir fermentado seco de jabuticaba artesanal de duas maneiras distintas, verificar e comparar o teor alcoólico, além disso determinar o teor de metanol, devido a pectina presente nas jabuticabas, utilizando-se da análise por cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama e extração por *headspace* (*Headspace - Gas Chromatography - Flame Ionization Detector*).

1 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no laboratório de Alimentos e de Cromatografia, da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba “Deputado Roque Trevisan”, na cidade de Piracicaba/SP.

Para a produção do fermentado de jabuticaba, foram colhidos os frutos (*Myrciaria jabuticaba* (Vell) Berg, jabuticaba sabará) em jabuticabeira da cidade de Piracicaba, ao final do mês de outubro, e foram armazenadas em recipiente plástico para serem transportadas até o laboratório.

Realizou-se a seleção dos melhores frutos, excluindo os mais verdes e os que estavam em estado de senescência. Posteriormente os frutos foram devidamente higienizados em solução sanitizante de Ácido Peracético PAC 200, sendo utilizada uma solução à 0,5%.

Foram realizados dois procedimentos distintos para a fabricação do vinho, sendo amostra P1, no qual as jabuticabas foram esmagadas para o rompimento das cascas que foi realizado manualmente, e amostra P2 onde as frutas não sofreram ruptura da casca, sendo colocadas inteira no fermentador. Em ambos os casos as jabuticabas foram devidamente higienizadas com sanitizante Ácido Peracético PAC 200 sendo preparada uma solução à 1%.

Para obtenção dos fermentados, foram utilizadas 10 kg de jabuticabas em cada fermentador. No Processo 1 (P1) foram adicionados 0,4 g de metabissulfato de sódio para

aproximadamente 5 L de mosto, para controle bacteriano, e 83 g de leveduras espécie *Saccharomyces cerevisiae* do tipo *Fleischmann*, adquiridas em estabelecimento local. Posteriormente foi feita a correção da quantidade de sólidos solúveis com adição de sacarose até atingir 20 °Brix (FORTES, 2012).

Para o Processo 2 (P2) foi realizada uma adaptação do método de Fortes (2012), sendo assim, foi adicionado 1 L de água com 0,1 g de metabissulfito dissolvido e 166 g da mesma levedura utilizada -no processo P1, e 1 kg de açúcar para que o líquido da jabuticaba fosse transportado por osmose para o meio extremamente açucarado, tendo 49 °Brix.

As cascas das jabuticabas permaneceram em contato com o mosto durante toda a fermentação alcoólica, que durou aproximadamente sete dias (FORTES, 2012).

A remontagem, ou seja, mergulhar a parte sólida que sobe à superfície, foi feita 1 vez ao dia, para evitar avinagrar no P1, e no P2 foi realizada apenas uma movimentação dos frutos trazendo os de baixo para cima (GUERRA *et al.*, 2009).

A descuba foi feita de acordo com a metodologia de Guerra *et al.* (2009), separando cascas e bagaços (parte sólida) do líquido, ao abrir o dispositivo de saída existente no recipiente fermentativo. As amostras, ainda turvas devido a quantidade de fermento existente, foram centrifugadas em centrífuga de bancada do tipo refrigerada.

Após a centrifugação, os vinhos foram envasados em garrafas de vidro de 100 mL de cor âmbar, devidamente esterilizadas.

Para a determinação metanol e etanol utilizou-se como base a metodologia de Lutz (2008), Brasil (2012) e Gomes, Yoshinaga e Bortoleto (2020), com um cromatógrafo gasoso da marca *PerkinElmer*, modelo Clarus 600, e detector de ionização de chama (*Flame Ionization Detector* - FID). Utilizou-se uma coluna capilar *PerkinElmer* modelo Elite-WAX com dimensões de 30 m x 0,25 mm x 0,5 µm. O gás de arraste empregado foi nitrogênio à uma vazão de $1,20 \text{ mL min}^{-1}$, do hidrogênio foi 45 mL min^{-1} e do ar sintético foi 450 mL min^{-1} , todos com alto grau de pureza (99,999%). O volume de injeção da amostra foi de 500 µL a uma velocidade de 250 µL s^{-1} , empregando-se o “split” de 18:1. A temperatura inicial do forno foi de 45°C, seguida por uma rampa de aquecimento de taxa de 9°C min^{-1} , até 153°C, permanecendo nesta temperatura por 1,5 min. O tempo total de corrida foi de 15 min. O injetor foi operado à 150°C e o detector a 300°C. As amostras foram incubadas no forno do amostrador para utilização da extração por *Headspace*, a 80°C por 5 min com agitação de 500 rpm, no amostrador automático da marca *Combipal*, modelo *CTC Analytics, Pal System*, com forno para *Headspace*, equipado no cromatógrafo.

Para os padrões foram utilizados etanol e metanol (LiChrosolv® Merck). As soluções padrões de metanol foram preparadas com concentrações entre 15 a 800,0 mg L⁻¹, apresentando a seguinte equação $y = 15,66 + 3,0563x$, com coeficiente de determinação $R^2 = 0,9966$. As soluções padrões de etanol foram preparadas com as concentrações entre 1 a 15 % (v/v), resultando na equação $y = -2.921,5 + 17.497x$ com coeficiente de determinação $R^2 = 0,9992$.

2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas análises por cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama e extração por *headspace* (*Headspace - Gas Chromatography - Flame Ionization Detector*), no fermentado artesanal de jabuticaba estão expostos na Tabela 1. Em relação ao teor alcoólico, ambos os fermentados de jabuticabas apresentaram valores dentro dos limites estabelecidos pela Norma Operacional nº 1, de 24 de janeiro de 2019 (BRASIL, 2019). Demonstrando que neste quesito ambos os processos permitem obter um produto com teor alcoólico adequado. Além disso, ambos os processos apresentaram pH variando entre 3,0 e 4,0, o que segundo Hashizume (2008) é ideal, já que nesta faixa de pH a chances de contaminações bacterianas são menores.

Tabela 1 - Valores encontrados para os parâmetros de sólidos solúveis, pH, teor de metanol e teor de etanol na amostra P1 e amostra P2 dos fermentados de jabuticaba

Amostras	°Brix inicial	°Brix final	pH inicial	pH final	Teor de metanol (mg 100 mL ⁻¹)	Teor de etanol (% (v/v))
P1	20	5	3,37	3,36	4,96 ± 0,04	10,58 ± 0,19
P2	45	24	3,37	3,03	3,91 ± 0,01	8,80 ± 0,12

Fonte: Autores.

No entanto P1 apresentou maior teor de etanol que P2, essa diferença se deve a concentração do substrato, pois conforme mostrado na Tabela 1, o P2 possui uma quantidade maior de açúcar, para que ocorresse o efeito osmótico, deixando o meio externo mais concentrado que o meio interno da fruta. Contudo no caminho metabólico das leveduras há o que se chama de região de saturação, ao ser extrapolada o substrato passa a ter efeito inibitório, causando desativação de enzimas essenciais a fermentação, ou seja, a rota metabólica do microrganismo é alterada e a produção de etanol diminui (THATIPAMALA, ROHAI & HILL, 1992).

Aguirre (2006) elaborou dois fermentados de jabuticaba que apresentaram o teor alcoólico de 12 e 12,5% (v/v), Pires (2018) elaborou um fermentado que apresentou o teor alcoólico de 11% (v/v), assim o presente trabalho apresenta valor semelhante para P1, somente P2 apresentou valor inferior.

Como parâmetro analítico para o teor de metanol foi utilizado o que Norma Operacional nº 1, de 24 de janeiro de 2019, estabelece para vinho de mesa, pois a legislação não estabelece um parâmetro analítico para metanol em fermentado de jabuticaba, e as frutas (uva e jabuticaba) possuem características similares e o preparo das duas bebidas é o mesmo (BRASIL, 2019). Desta forma estabeleceu como nível aceitável para o fermentado de jabuticaba, o valor máximo de 400 mg L⁻¹ de metanol presente na bebida. Assim podendo averiguar que os valores encontrados estão abaixo dos limites máximos apresentados pela legislação.

Colaborando com o trabalho de Souza (2015) que elaborou um fermentado de jabuticaba que apresentou um teor de metanol de 1,27 mg por 100 mL de bebida e Campolina (2018) que elaborou alguns fermentados de jabuticaba que tiveram teores variando de 49,0 a 113,7 mg por 100 mL de bebida. A variação apresentada nos trabalhos, pode ser devido à quantidade de pectina presente na matriz, que apresenta 611,09 mg 100 g⁻¹ de pectina, que pode variar de acordo com a espécie, grau de maturação, processo de produção e outros fatores, já que o metanol produzido na bebida é oriundo da desmetilesterificação da pectina e não das leveduras durante o processo fermentativo. Segundo Miranda (2019) 30% da parede celular jabuticaba é composta de pectina. O maior teor de metanol da amostra P1 em relação a amostra P2 é justificado devido ao fato que neste processo ocorre o esmagamento da jabuticaba, para que haja o rompimento da casca, esse dano mecânico na parede celular promove desmetilesterificação da pectina pelas enzimas pectinametilesterase (PME), resultando na produção de metanol (PEINADO *et al.*, 2004; CABAROGLU, 2005; DOROKHOV *et al.*, 2015; SOUZA, 2015; BOESSO, 2017; CAMPOLINA, 2018).

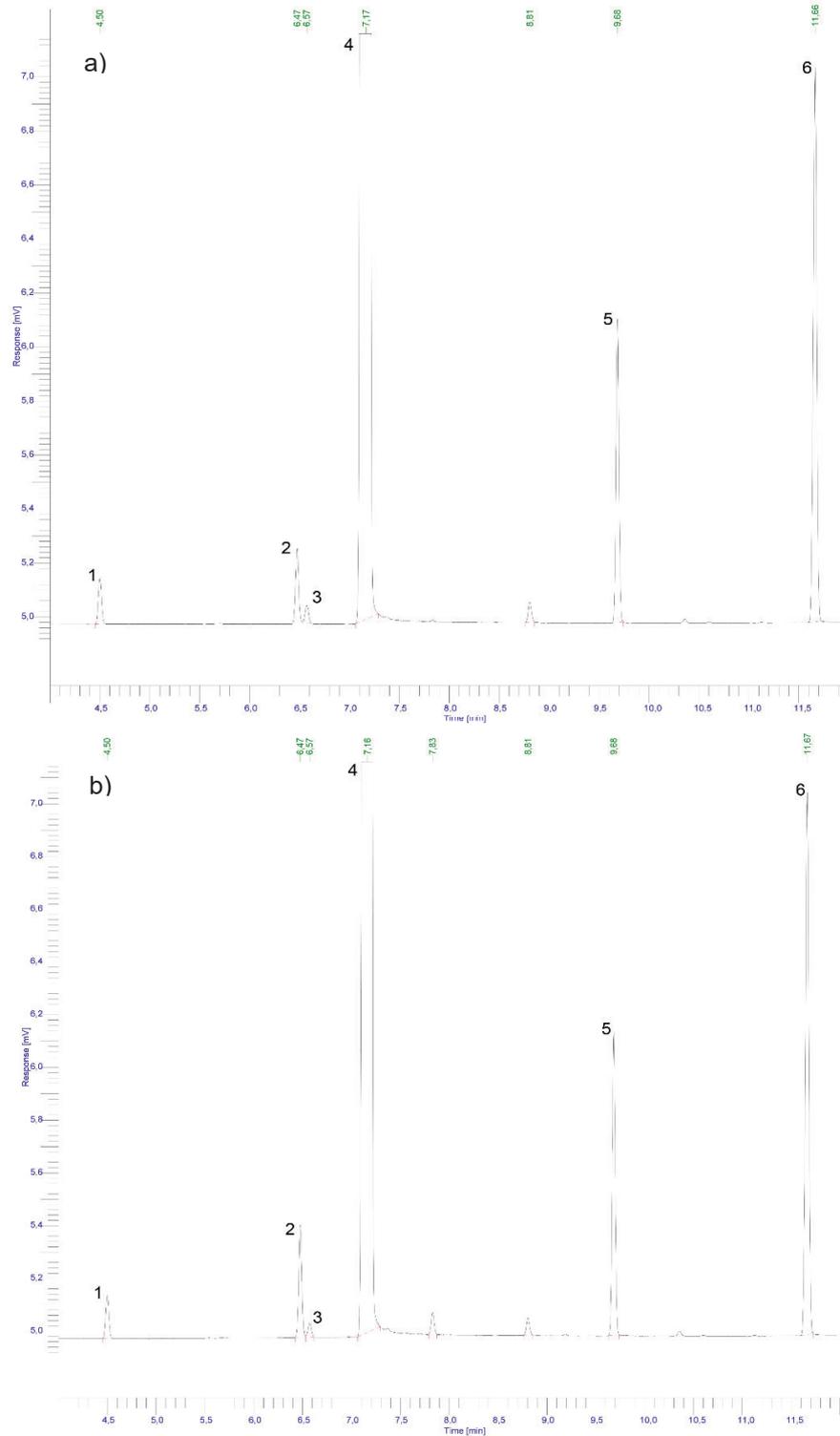
A importância da quantificação de metanol na fermentação alcoólica ocorre pois a pectina presente nas frutas, é uma substância da família dos oligo e polissacarídeos, e possui como estrutura um homolímero 1→4 ácido galacturônico, com graus variáveis de grupos carboxilas metil esterificados, que quando fermentadas, sofrem desmetoxilação por ação da enzima pectinesterase, formando o metanol (VORAGEN *et al.*, 1995; PEREIRA *et al.*, 2003; WILLATS, KNOX & MIKKELSEN, 2006; UENOJO & PASTORE, 2007; VORAGEN *et al.*, 2009).

Metanol é um composto tóxico a ingestão acima de 25 mL pode causar cegueira e até ser fatal ao ser humano. A metabolização do metanol pelo organismo é lenta, desta forma seu efeito é

considerado acumulativo e os produtos gerados da sua metabolização, como formaldeído e ácido fórmico, também são tóxicos. Este álcool tem aparecido em várias situações de intoxicação associados ao consumo de bebidas alcólicas adulteradas, assim apresentando teores elevados de metanol, essa adulteração acontece devido o metanol ser mais barato que o etanol (PEREIRA & ANDRADE, 1998; PAINE & DAVAN, 2001; SEQUEIRA, 2018).

Na análise qualitativa, identificou-se a presença das seguintes espécies químicas: acetaldeído, acetato de etila, metanol, etanol, isobutanol e isoamílico, com os respectivos tempos de retenção: 4,50; 6,47; 6,57; 7,16; 9,68 e 11,67 minutos. Conforme pode-se observar nos cromatogramas apresentados na Figura 1.

Figura 1 – Cromatogramas do fermentados de jabuticabas. a) Amostra P1; b) Amostra P2. Espécies químicas: 1) Acetaldeído, 2) Acetato de Etila, 3) Metanol, 4) Etanol, 5) Isobutanol e 6) iso-Amílico



Fonte: Autores.

Pelos cromatogramas pode-se observar que o perfil de componentes voláteis em ambas as amostras são similares, demonstrando que independente do processo não ocorre a presença de espécies químicas diferentes, porém deve ser realizado maiores estudos para quantificar esses componentes, pois como mencionado por Soares (2001) vários tipos de erros, como erros sistemáticos, erros aleatórios e erros devido a matriz usada para o preparo do padrão ser diferente da matriz da amostra, podem aparecer durante a elaboração da curva analítica. E esse estudo é de grande importância para associar a quantidade das espécies químicas com a qualidade da bebida e o processo de produção, já que esses compostos estão associados a qualidade do *bouquet* de bebidas fermentadas, onde em baixas concentrações, aproximadamente $0,3 \text{ g L}^{-1}$ ou valor inferior, estão relacionados com a complexidade do *bouquet* da bebida fermentada e concentrações superiores, acima de $0,3 \text{ g L}^{-1}$, irão camuflar o *bouquet* da bebida fermentada (JACKSON, 2020).

CONCLUSÃO

Através deste trabalho foi possível comprovar a produção de fermentado artesanal de jabuticaba, com teor alcoólico exigido pelo padrão de qualidade e identidade estabelecido pela legislação vigente, com teor de metanol em nível baixo que não afeta a saúde do ser humano, podendo ser consumido sem o risco de intoxicação por este componente.

Também se comprovou que a quantidade de pectina na jabuticaba não é suficiente para ter um fermentado artesanal de jabuticaba com alto teor de metanol e que a quantidade de substrato fermentescível interferiu na produção de etanol durante a fermentação, demonstrando que em quantidades superiores de substrato fermentescível a região de saturação será atingida e a produção de etanol será menor.

Entretanto são necessários estudos futuros dos outros padrões físico-químicos exigidos pela atual legislação brasileira, além da quantificação dos componentes voláteis para verificação da influência na qualidade final do fermentado artesanal de jabuticaba.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Tecnologia de Piracicaba "Deputado Roque Trevisan", Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza.

REFERÊNCIAS

AGUIRRE, L. H. L. *Desarrollo de um vino de jaboticaba (Myrciaria cauliflora) em la Escuela Agrícola Panamericana*. 2006. 41 f. Projeto especial (Título de Engenheiro em agroindústria) - *Zamorano Carrera de Agroindustria*, Honduras, 2006.

ASCHARI, D. P. R. *et al.* Obtenção de farinhas mistas pré-gelatinizadas a partir de arroz e bagaço de jaboticaba: efeito das variáveis de extrusão nas propriedades de pasta. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 1, 2006.

BOESSO, F. F. *Protocolo de produção, aceitabilidade e qualidade nutricional de geleia convencional e light de jaboticaba*. 2017. Tese (Doutorado), Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP - Campus de Botucatu, Botucatu, São Paulo.

BRASIL. *Portaria nº 229*, de 25 de outubro de 1988. Ministro de Estado da Agricultura. Disponível em:

http://www2.agricultura.rs.gov.br/uploads/126989498929.03_enol_p_229_88_mapa.doc+&cd=3&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br. Acesso em: 20 mai. 2020.

BRASIL. *Decreto nº 6.871 de 2009*, Ministério de Estado da Agricultura.net. São Paulo. Disponível em <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=247520>. Acesso em: 15 jun. 2020.

BRASIL. *Instrução Normativa 34 de 29 de outubro de 2012*. Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento. Net. São Paulo. Disponível em <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=247520>. Acesso em: 15 jun. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA). *Norma operacional nº 1, de 24 de janeiro de 2019*. Norma interna DIPOV/SDA nº 01, de 24 de janeiro de 2019. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, ISSN 1111-1111, Ano 3, n. 1.22, 30 jan. 2019.

CABAROGLU, T. Methanol contents of Turkish varietal wines and effect of processing. *Food Control, Guildford*, v. 16, n. 2, p. 177-181, 2005.

CAMPOLINA, G. A. *Elaboração de fermentados alcoólicos de jaboticaba conduzidos com leveduras livres e imobilizadas*. 2018. 117 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

CORAZZA, M. L.; RODRIGUES, D. G.; NOZAKI, J. Preparação e Caracterização do vinho de laranja. *Quim. Nova*, v.24, n. 4., p. 449-452, 2001.

DOROKHOV, Y. L. *et al.* Metabolic Methanol: Molecular Pathways and Physiological Roles. *Physiological reviews*, 95, p. 603–644. 2015.

FORTES, G. A. C. *Análise multiparimétrica da qualidade dos frutos, mostos e vinhos de jaboticaba*. 2012, fl. 62. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

GOMES, W. P. C.; YOSHINAGA, F.; BORTOLETO, G. G. Determinação de Álcoois em Bebidas Comerciais por Cromatografia Gasosa e Amostragem por *Headspace*. *Bioenergia em Revista: Diálogos*, v. 10, n. 1, p. 111-124, 2020. Disponível em:

<http://www.fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/view/371/373782>. Acesso em 09.08.20.

GUEDES, M. N. S. *Diversidade de acessos de jaboticabeira sabará em diamantina por meio de caracterização biométrica e físico-química dos frutos e fisiológica das sementes*. 2009. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Jequitinhonha, Diamantina, 2009.

GUERRA, C. C. *et al.* *Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos*. Documento n. 48, Bento Gonçalves, jun. 2009.

HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E. *et al.* (coordenadores), *Biotecnologia Industrial*. Biotecnologia na produção de alimentos, São Paulo: Blücher, v. 4, p. 21-68, 2008.

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

JACKSON, R. S. *Wine Science: Principles and Applications*. *Academic Press*, 5. ed., 2020.

MIRANDA, Bruna Melo. *Extração de bioativos da casca de jaboticaba: pectina e antocianinas*. Goiânia, 2019. Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, como exigência para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fl 100.

PAINE A.; DAVAN A. D. Defining a tolerable concentration of methanol in alcoholic drinks. *Human & Experimental Toxicology*, v. 20, n. 11, p. 563-568, 2001.

PEINADO, R. A. *et al.* Gas chromatographic quantification of major volatile compounds and polyols in wine by direct injection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 52, n. 21, p. 6389-6393, 2004.

PEREIRA, P. A. de P.; ANDRADE, J. B. de. Fontes, Reatividade e Quantificação de Metanol e Etanol na Atmosfera. *Química Nova*, v. 21, n. 6, São Paulo, nov./dez. 1998.

PEREIRA, N. E. *et al.* Compostos secundários em cachaças produzidas no estado de Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 27, n. 5, out. 2003.

PIRES, J. A. *Efeito da radiação gama (⁶⁰Co) em fermentado de jaboticaba, tipo vinho tinto*. 2018. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

SASSO, S. A. Z.; CITADIN, I.; DANNER, M. A. Propagação de Jaboticabeira por estaquia. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 2, p. 577-583, jun. 2010.

SEQUEIRA, A. S. da S. *Desenvolvimento de uma membrana de fibras para conversão enzimática de CO₂*. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, f. 85, 2018.

SOARES, L. M. V. Como obter resultados confiáveis em cromatografia. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 60, n. 1, p. 79-84, 2001.

SOUZA, A. C. de. *Utilização de cagaíta, jabuticaba e pitaya na elaboração de fermentado alcoólico e vinagre*. 2015. 139 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras: UFLA, 2015.

THATIPAMALA, R.; ROHAI, S.; HILL, G. A. Effects of high product and substrate inhibition on the kinetics in biomass and products yields during ethanol batch fermentation. *Biotechnol. Bioeng.*, v. 40, n. 2, p. 289-297, 1992.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 388-394, 2007.

VORAGEN, A. G. J. *et al.* Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Struct Chem*, v. 20, p. 263-275, 2009.

VORAGEN, A. G. J. *et al.* Pectins. In: STEPHEN A. M. (ed). *Food polysaccharides and their applications*. Marcel Dekker, New York, p. 287-339, 1995.

WANSINK, B.; CHENEY, M. M.; CHAN, N. Exploring comfort food preferences across age and gender. *Elsevier: Physiology & Behavior*, 79(4-5), p. 739-747. 2003.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, v. 17, p. 97-104, 2006.

World Health Organization (WHO). Global status report on alcohol and health 2018. Geneva: *World Health Organization*, 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

1 PIRES, Juliana Angelo é Doutoranda do Programa de Ciências e Tecnologia de Alimentos, pela Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" ESALQ/USP. Possui Mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear Aplicada (2018), com foco no efeito da radiação gama (Co60) em bebidas alcoólicas, pelo Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares (IPEN/USP). Possui graduação em Tecnologia de Biocombustíveis (2011) e em Tecnologia em Agroindústria (2015) e Tecnologia em Alimentos (2018) todas pela Faculdade de Tecnologia Dep. Roque Trevisan - FATEC em Piracicaba. Tendo experiência na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, com ênfase em tecnologia das bebidas fermentadas e destiladas, estudando métodos de envelhecimento.

2 TEIXEIRA, Natalia Navarro é Mestranda do programa de Ciências, na área Química na Agricultura e no Ambiente, no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP). Graduanda no curso de Ciências do Alimentos pela Escola Superior de Agronomia "Luiz de Queiroz" ESALQ/USP. Atualmente é estagiária do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE) em Química Analítica Quantitativa na Escola Superior de Agronomia "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP). Graduada em Design pela Faculdade de Administração e Arte de Limeira (2014).

3 GOMES, Winston Pinheiro Claro é Mestrando do programa de Ciências (Energia Nuclear na Agricultura), na área Química na Agricultura e no Ambiente, no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), graduando em Tecnologia em Alimentos na Faculdade de Tecnologia de Piracicaba - Centro Paula Souza, onde é estagiário no Laboratório de Cromatografia e Biotecnologia desenvolvendo a Iniciação Científica de "Análise de álcoois superiores em cervejas artesanais por Cromatografia Gasosa empregando Headspace". Graduado em Tecnologia Têxtil pela Faculdade de Tecnologia de Americana - Centro Paula Souza, em dezembro de 2010, onde foi bolsista pelo "Programa de Iniciação Científica e Tecnológica para Micro e Pequenas Empresas - BITEC".