

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO E LICENCIATURA EM QUÍMICA**

LEONARDO WILEZELEK SOARES DE MELO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DO FRUTO E PRODUÇÃO
DE VINAGRE DE (*Physalis pubescens* L.)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2013

LEONARDO WILEZELEK SOARES DE MELO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DO FRUTO E PRODUÇÃO DE VINAGRE
DE *Physalis pubescens* L.**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof^a Dr.^a Marisa de Cacia Oliveira

TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DO FRUTO E PRODUÇÃO DE VINAGRE DE *Physalis pubescens* L.** foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora N° 1.10 de 2013.

Fizeram parte da banca os professores/mestrandos:

Mario Antônio Alver da Cunha

Diego da Silva Hoffmann

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, avós e irmão, por estarem presentes em minha vida tão intensamente, apesar da distância que nos separou fisicamente nesses últimos quatro anos. Obrigado pelo apoio e por acreditarem em mim e em minhas convicções.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela estrutura física a qual foi possível a realização deste trabalho.

Também aos colegas Otto Heinz, Ana Claudia Ariatti, Amanda Izabel Passos, que colaboraram durante a realização das análises e ao Prof. Dr. Mário Cunha pela colaboração com materiais e reagentes que possibilitaram a realização de parte do trabalho.

Especialmente, agradeço à minha orientadora Marisa de Cácia Oliveira pela fiel colaboração durante todo projeto, sempre estando à disposição para qualquer dúvida.

Aos colegas que estiveram presentes ao longo da graduação, pela convivência sadia a qual pudemos compartilhar.

Por fim, agradeço à família pelo apoio financeiro e moral durante os últimos quatro anos de curso.

RESUMO

Physalis é um gênero de plantas, da mesma família da batata e do tomate (*Solanaceae*), que possui características bastante peculiares e que produz um fruto carnoso e de coloração que varia do verde ao alaranjado. Uma expansão no cultivo de fisális seria uma alternativa a produtores de pequeno e médio porte, visto que o cultivo da mesma é de relativa facilidade. Entretanto os frutos, ricos em vitaminas, principalmente C, e flavonoides, são pouco conhecidos pela população. Podem ser utilizados na produção de vinagre. Neste trabalho foi realizada caracterização físico-química do suco e do vinho dos frutos de *Physalis pubescens*, sendo quantificados açúcares totais e redutores, proteínas, pH, sólidos solúveis totais e vitamina C. Após fermentação alcoólica do suco foi obtido fermentado acético, sendo o mesmo caracterizado com relação à valores de pH, vitamina C, acidez e sólidos solúveis totais.

MELO, Leonardo. Caracterização físico química de frutos e produção de vinagre de *Physalis pubescens* L.; Monografia (Bacharelado em Química Industrial e Licenciatura em Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

Palavras-chave: *Physalis*, caracterização, fermentação.

ABSTRACTS

Physalis is a genus of plants of the same family as potato and tomato (Solanaceae), which has very peculiar characteristics and produces a fruit and fleshy coloration varies from green to orange. An expansion in the cultivation of physalis would be an alternative to producing small and medium size, since the cultivation of it is relatively easy. However fruits are rich in vitamins, especially C and flavonoids are little known for people and may be used in the production of vinegar. This work was performed physicochemical characterization of juice and wine from the fruits of *Physalis pubescens*, and quantified total and reducing sugars, protein, pH, total soluble solids and vitamin C. After alcoholic fermentation of juice or vinegar was obtained, with the same characterized with respect to pH, vitamin C, acidity and soluble solids.

MELO, Leonardo. Physical Chemistry characterization of fruit and production of vinegar *Physalis pubescens* L.; Monografia. (Bacharelado em Química Industrial e Licenciatura em Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

Keywords: Physalis, characterization, fermentation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Vinagreira utilizada na produção do vinagre do processo lento	21
Figura 2: Gerador utilizado na produção do vinagre pelo processo rápido.	22
Figura 3: Esquema de um processo submerso para produção do vinagre.	23
Figura 4: Curva de biomassa seca de <i>Sacharomyces cerevisiae</i> NCYC 478	29
Figura 5: Comportamento do pH no decorrer da fermentação alcoólica	31
Figura 6: Curva que representa o consumo de açúcares durante a fermentação.	32
Figura 7: Variação do pH durante a fermentação acética	33
Figura 8: Produção de ácido acético durante o processo	33
Figura 9: Produto obtido após centrifugação.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fermentações importantes.....	17
Tabela 2: Comparação entre os processos de produção do vinagre	23
Tabela 3: Caracterização de fruto de <i>Physalis pubescens</i> (L.).	28
Tabela 4: Caracterização dos parâmetros do vinho.	30

LISTA DE SÍMBOLOS

pH - Potencial Hidrogeniônico

°Brix - Índice de Brix

$C_6H_{12}O_6$ - Glicose

CH_3CH_2OH - Etanol

CO_2 - Dióxido de Carbono

°C - Graus Celsius

% - Porcentagem

LISTA DE ABREVIATURAS

g. - grama

g.100mL⁻¹ - grama por 100 mililitros.

nm. - nanômetro

mg/100g. - miligrama por 100 gramas

mg/100mL. - miligrama por 100 mililitros

µg - micrograma

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 PHYSALIS	16
3.2 PROCESSOS FERMENTATIVOS: FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA, FERMENTAÇÃO ACÉTICA E VINAGRE	17
3.2.1 Fermentação alcoólica	19
3.2.2 Fermentação acética e vinagre	19
3.2.2.1 Processo lento, de Orleães ou de superfície.....	20
3.2.2.2 Processo rápido ou alemão.....	21
3.2.2.3 Processo submerso.....	22
3.2.2.4 Comparação entre os processos	23
3.2.3 Microrganismos fermentativos	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 MATERIAL	24
4.1.1 Frutos	24
4.1.2 Microorganismos utilizados	24
4.1.3 Reagentes	25
4.2 METODOLOGIA	25
4.2.2 Preparo do inóculo	25
4.2.2.1 Fermentação alcoólica	25
4.2.2.2 Fermentação acética	25
4.2.3 Preparo do mosto	26
4.2.4 Fermentação alcoólica	26
4.2.5 Fermentação acética	26
4.2.6 Tratamento do fermentado acético	26
4.2.7 Análises físico químicas realizadas	27
4.2.7.1 Quantificação de açúcares totais e redutores	27
4.2.7.3 Determinação do pH.....	27
4.2.7.4 Quantificação de ácido ascórbico.....	27
4.2.7.5 Quantificação de sólidos solúveis totais	28

4.2.7.6 Determinação da acidez titulável.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO FRUTO	28
5.2 CURVA DE BIOMASSA SECA PARA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA, OBTIDA COM S. CEREVISAE	29
5.3 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	30
5.3.1 pH	31
5.3.2 Sólidos solúveis totais.....	31
5.4 FERMENTAÇÃO ACÉTICA.....	32
5.4.1 pH	32
5.4.2 Acidez em ácido acético	33
5.4.3 Caracterização e tratamento final do vinagre	34
CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS.....	36

1 INTRODUÇÃO

Physalis é um gênero de plantas, da mesma família da batata e do tomate (*Solanaceae*), que possui características bastante peculiares e que produz um fruto carnoso e de coloração que varia do verde ao alaranjado, revestido por uma espécie de cálice que tem função de proteção principalmente contra agentes exógenos que podem danificar e diminuir a qualidade e tempo de vida do fruto.

Suas raízes, folhas e frutos podem ser explorados na medicina e culinária, sendo objetos de pesquisas em diversas áreas. A fisális seria uma alternativa a produtores de pequeno e médio porte, sendo o cultivo da mesma de relativa facilidade, apesar de pouco conhecido pela população. Os frutos podem ter utilidade na produção de alimentos e bebidas diversas.

Um produto que pode ser produzido a partir de alguns frutos da *Physalis* é o vinagre. Definido por Aquarone et al. (2001) como um alimento do grupo dos condimentos, obtido por fermentação acética de soluções alcoólicas diluídas, sendo estas resultantes de fermentações alcoólicas de mostos açucarados ou amiláceos. O vinagre, assim também como o vinho e a cerveja, é um fermentado conhecido e explorado há milhares de anos por povos de várias civilizações. No Brasil e em alguns outros países com culturas semelhantes, não se dá a devida importância ao alimento e às suas propriedades nutritivas e medicinais.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar parcialmente o suco dos frutos maduros de *Physalis pubescens* e produzir um fermentado alcoólico e posteriormente um fermentado acético a partir do mesmo.

2 OBJETIVOS

Caracterizar físicoquimicamente o suco de frutos da espécie *Physalis pubescens* e produzir fermentado alcoólico e acético

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair o suco dos frutos de *Physalis pubescens*;
- Produzir um fermentado alcoólico a partir do suco dos frutos de *Physalis pubescens*;
- Caracterizar físicoquimicamente o suco de frutos e o vinho de *Physalis pubescens* (açúcares totais e redutores, proteínas, pH, ácido ascórbico, sólidos solúveis totais);
- Produzir fermentado acético a partir do vinho de physalis e caracterizá-lo quimicamente (pH, ácido ascórbico, acidez titulável e sólidos solúveis totais).

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PHYSALIS

Physalis é um gênero de plantas da família das solanáceas (pimentão, batata e tomate) (MOSCHETTO, 2010) que podem chegar a dois metros de altura, com folhas grandes e simples, flores hermafroditas e frutos carnosos. O caule é caracteristicamente ereto e ramificado. As flores são normalmente solitárias e hermafroditas, com a cor variando conforme a espécie (pode ir do amarelo ao roxo) (PATRO, 2010).

O fruto, conhecido também como camapum, joá, saco de bode ou mulaca, rico em vitaminas A e C, além de flavonóides e de sabor ao mesmo tempo ácido e doce (MOSCHETTO, 2010), é esférico, carnoso e coberto por uma espécie de cálice, que possui como finalidade a proteção do fruto contra patógenos, insetos ou condições climáticas adversas que podem diminuir a vida de prateleira desse fruto (ALVARADO et al., 2004). A coloração do fruto *Physalis* varia do amarelo ao verde, além de avermelhado, alaranjado e roxo, dependendo da espécie (PATRO, 2010).

Uma característica comercial dos frutos é seu alto valor (RUFATO et al., 2008), com cotação que varia de R\$ 50,00 a R\$ 90,00 o quilograma, o que se deve ao fato da sua produção ser descontínua em algumas regiões devido à ocorrência de geadas que causam a morte da planta, o que bloqueia negócios permanentes para o produto e também pelo mercado nacional ser dependente da importação (MUNIZ, 2012). Como já citado, a *P. pubescens* é muito pouco conhecida e explorada no País e em consequência disso um trabalho específico carece muito de referências, sendo assim abordado o gênero de maneira geral.

O gênero inclui mais de 100 espécies, entre elas *Physalis pubescens* L., espécie conhecida pelos agricultores por ser considerada planta daninha, mas pouco explorada no Brasil, sendo o cultivo mais direcionado para pesquisa do que propriamente o desenvolvimento de produtos (BRIGHENTI, 2011).

A planta não se adapta a ambientes com excesso de umidade e o solo deve ser rico em matéria orgânica, com pH levemente ácido, variando entre 5,5 e 6,0. (MOSCHETTO, 2010).

Podem-se citar algumas espécies como possuindo potencial econômico: *P. peruviana*, *P. philadelphica*, *P. pubescens*, *P. pruinosa* e ainda *P. angulata*, sendo essa nativa do Brasil (PATRO, 2010). A primeira é a única espécie cultivada em larga escala, principalmente na Colômbia (principal produtor mundial) e no Sul do Brasil (RUFATO et al., 2008) Pode ser cultivada em qualquer época do ano, independente do clima frio, embora tenha preferência por climas mais quentes. (PATRO, 2010).

3.2 Processos Fermentativos: Fermentação alcoólica, fermentação acética e vinagre

Segundo Lima et al. (2001), fermentação define-se como um processo comum a todos os substratos açucarados, cujo princípio é a transformação dos açúcares em etanol e dióxido de carbono. Variações entre os vários processos fermentativos são detalhes específicos de cada processo.

Na produção de um vinagre são envolvidos basicamente dois processos fermentativos: a fermentação alcoólica e a fermentação acética.

A tabela abaixo demonstra vários produtos e suas fermentações:

Tabela 1: Fermentações importantes

		<i>Produtos</i>
<i>Produtos alimentares</i>	<i>Produtos industriais</i>	<i>farmacêuticos</i>
Azeitona (B)	Acetona	Anfotericina B
Cacau (B e L)	Ácido acético	Bacitracina
Café (F)	Ácido aspártico	Bleomicina
Cerveja (L)	Ácido 2-cetoglicônio	Canamicina
Chá (B)	Ácido 5-cetoglicônio	Candididina
Chucrute (B)	Ácido cítrico	Capreamicina
Glutamato de monossódio (B)	Ácido fumárico	Cefalosporina C
Koji (F e L)	Ácido gálico	Cicloheximida
Pão (L)	Ácido glicônico	Cicloserina
Picles (B e L)	Ácido Itacônico	Cloranfenicol

Proteína unicelular (L, B ou F)	Ácido kójico	Clorotetraciclina
Queijo (F ou B)	Ácido láctico	Colistina
Uísque (L)	Ácido succínico	Dactinomicina
Vinagre (B ou L)	Ácido sulfúrico do enxofre	Doxorubicina
Vinho (L)	Ácido tartárico	Eritromicina
Ergosterol (L ou F)	Álcool butílico normal	Espectinomicina
Riboflavina (B e L)	2,3-Butenodiol	Estreptomicina
Vitamina A (B)	Dextran	Gentamicina
Vitamina B2 (L)	Diihidroxiacetona	Griseofulvina
Vitamina B12 (B e F)	Dióxido de carbono	Lincomicina
	Glicerol	Mitomicina C
	Isoleucina	Mitramicina
	Levedura	Neomicina
	Lisina	Nistamina
	Óleo fúsel	Novobiocina
	Valina	Oleandromicina
	Amilase	Paramomicina
	Celulase	Penicilina
	Diástase	Polimicina
	Invertase	Rifampina
	Maltase	Tetraciclina
	Zimase	Vancomicina
		Viomicina

L, levedura; B, bactéria; F, fungo.

Fonte: SHREVE (1997).

Um processo fermentativo envolve conversões químicas, sendo algumas relevantes, por exemplo, a oxidação como no caso da transformação de etanol a ácido acético. Em compensação, algumas reações causadas por microrganismos são extremamente complicadas e não podem ser classificadas com a mesma simplicidade de alguns processos. Com base nisso, criou-se o conceito de fermentação sendo uma conversão química (SHREVE, 1997).

De acordo com Silcox e Lee, (1948), alguns requisitos são necessários para classificar um processo como sendo um bom processo fermentativo, sendo eles:

1. Um microrganismo que leva ao desejado produto final. Este organismo deve se propagar facilmente e ser capaz de manter a uniformidade biológica, levando assim a rendimentos previsíveis;
2. Matérias primas baratas para o substrato, por exemplo, amido ou um entre os vários açúcares;
3. Rendimentos aceitáveis;
4. Fermentação rápida;
5. Produto recuperado e purificado com facilidade.

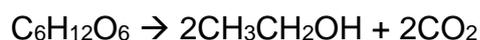
Assim, devem ser levados em conta alguns fatores quanto ao conceito de conversão química, como o próprio microrganismo, equipamento e fatores críticos da fermentação como pH, temperatura, entre outros (SHREVE, 1997).

3.2.1 Fermentação alcoólica

Descoberta por povos primitivos a milhares de anos, nos últimos cento e cinquenta anos evoluiu de apenas uma arte milenar para uma ciência que é altamente desenvolvida e que cada vez mais recebe investimentos em pesquisa (SHREVE, 1997).

Conhecem-se processos de fermentação desde os egípcios que os utilizavam na fabricação de pães e cerveja a partir de cereais e frutos (LIMA et al., 2001).

A fermentação alcoólica por definição é um processo anaeróbio para produção de energia, que ocorre com degradação de carboidratos e formação de etanol e CO₂ como compostos principais e glicerol, ácido pirúvico, succínico e álcoois superiores como secundários (BORZANI et al., 2001). Envolve basicamente 12 reações em sequência e cada reação é catalisada por uma enzima específica. A equação geral definida por Gay Lussac é a seguinte, que na verdade é dividida em várias etapas:



3.2.2 Fermentação acética e vinagre

Um fermentado acético, por definição do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (1999), é um produto obtido da fermentação acética de um

fermentado alcoólico de mosto de frutos, vegetais ou mistura hidroalcoólica. Sua acidez volátil deve ser de no mínimo $4\text{g}\cdot 100\text{ mL}^{-1}$. Deve ser denominado vinagre ou fermentado acético, seguido da matéria prima utilizada na produção (MARQUES et al., 2010).

Utilizado no mundo todo como um conservante e condimento alimentar, o vinagre é um importante complemento da alimentação humana, devido suas propriedades nutritivas e biorregulatórias (BORTOLINI, 2010).

Assim como o vinho, o pão, a cerveja e o iogurte, é um fermentado conhecido e explorado há milhares de anos, com menções do vinagre desde a Antiguidade como um conservante, aromatizante, condimento, refresco e medicamento. Obtido primeiramente por fermentação espontânea, a primeira menção técnica sobre o vinagre vem a ser de Geber, após submetido o condimento a uma destilação. Lavoisier e Pasteur nos séculos XVIII e XIX, respectivamente, também contribuíram cientificamente, com Lavoisier comprovando a importância do oxigênio na produção do vinagre e Pasteur a necessidade de um microrganismo na fermentação acética. Várias bactérias responsáveis pela fermentação para obtenção do vinagre foram identificadas por Knierien, Mayer, Hanses, Buchner e Hennenberg e grandes avanços nas tecnologias vinagreiras foram obtidos por Hromatka, Ebner, Richardson, entre outros. Mesmo assim, o antigo processo denominado lento ainda é muito utilizado na produção de vinagres finos mesmo em países que possuem tecnologia avançada como Japão e Itália (AQUARONE et al., 2001).

3.2.2.1 Processo lento, de Orleães ou de superfície

Utilizado há milhares de anos, o processo lento, também conhecido como método de Orleães ou de superfície, foi descoberto um tanto que por acaso, ao se observar que barricas de vinho não completamente cheias apresentavam avinagramento rápido devido a uma maior aeração. Após isso alguns artifícios foram descobertos para facilitar ainda mais a aeração, como posicionar o barril horizontalmente, aberturas laterais, entre outras (AQUARONE et al., 2001).

O vinagre produzido por esse método tem qualidade superior ao produzido por outros métodos, devido ao amadurecimento ocorrer de forma natural, antes de ser retirado, o que proporciona um sabor mais suave ao fermentado, diminuindo o sabor picante característico de vinagres recém produzidos (SPINOSA, 2002).

A figura (1) demonstra um esquema de uma vinagreira, utilizada na produção do vinagre a partir do processo lento:

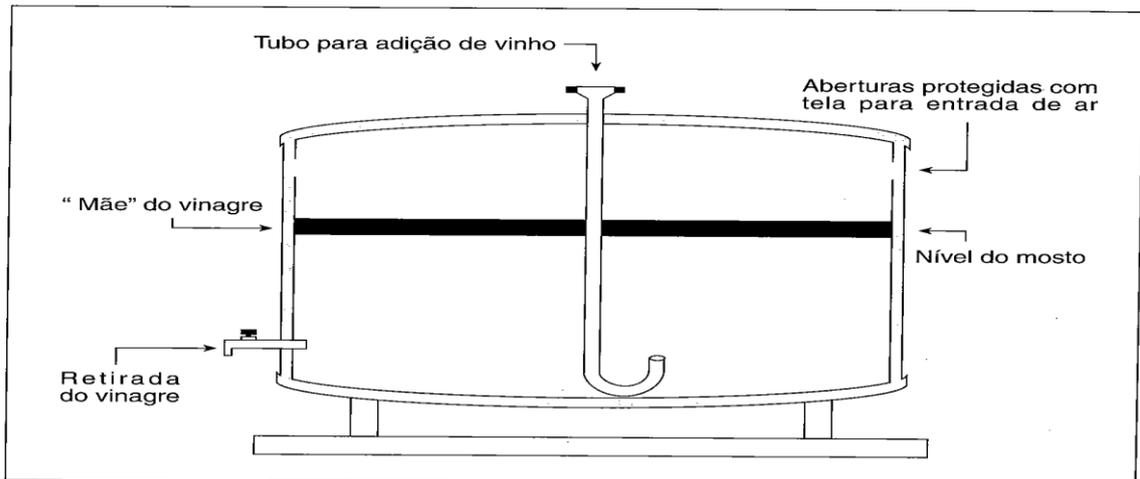


Figura 1: Vinagreira utilizada na produção do vinagre do processo lento

Fonte: AQUARONE, 2001.

3.2.2.2 Processo rápido ou alemão

Este método de produção de vinagre conhecido como método rápido, alemão ou Boerhave, introduzido por Schuetzenbach, utiliza uma acetificação mais rápida em relação ao processo de lento. A mistura vinagre/vinho passa através de um material, como carvão ou bagaço de cana, que possui grande superfície exposta, onde se encontram as bactérias acéticas e onde há o encontro com o ar atmosférico. O equipamento denominado vinagreira, pode ser constituído de madeira e até mesmo aço, alvenaria ou qualquer material que possua propriedades estranhas ao fermentado (AQUARONE et al., 2001).

A figura (2) demonstra um esquema de um gerador utilizado na produção do vinagre a partir do método rápido:

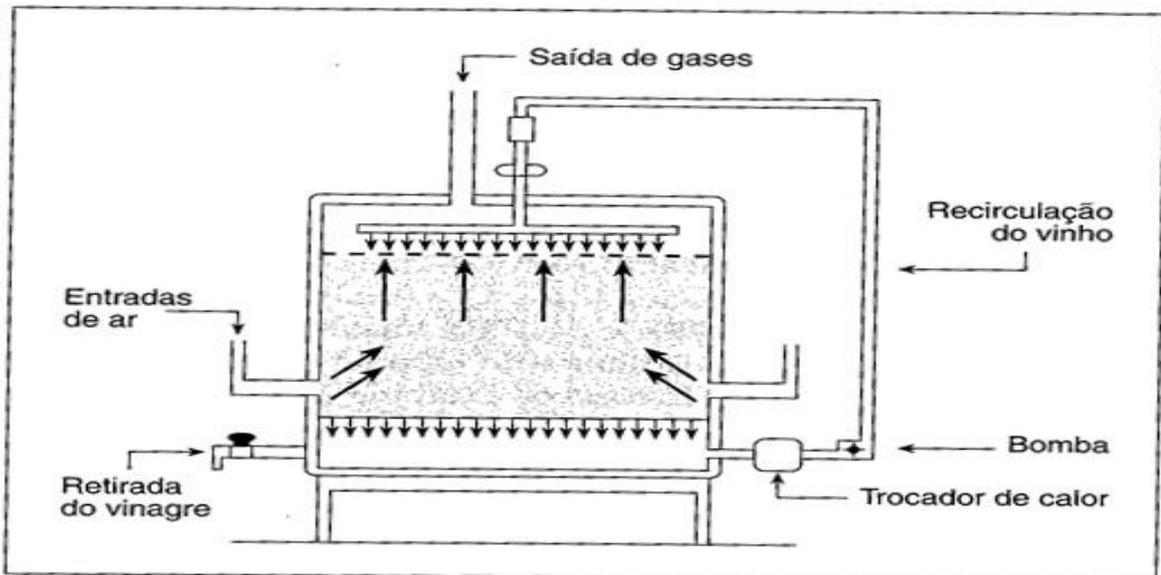


Figura 2: Gerador utilizado na produção do vinagre pelo processo rápido.

Fonte: AQUARONE (2001).

3.2.2.3 Processo submerso

Uma fermentação acética pode dar-se de maneira altamente eficiente e produtiva, utilizando o processo chamado submerso, onde são empregados fermentadores de aço ou madeira desenvolvidos especialmente para fornecer ar em todos os pontos da calda fermentativa, além de controle de temperatura. (AQUARONE et al., 2001).

Na figura (3) está ilustrado um esquema do processo submerso de acetificação:

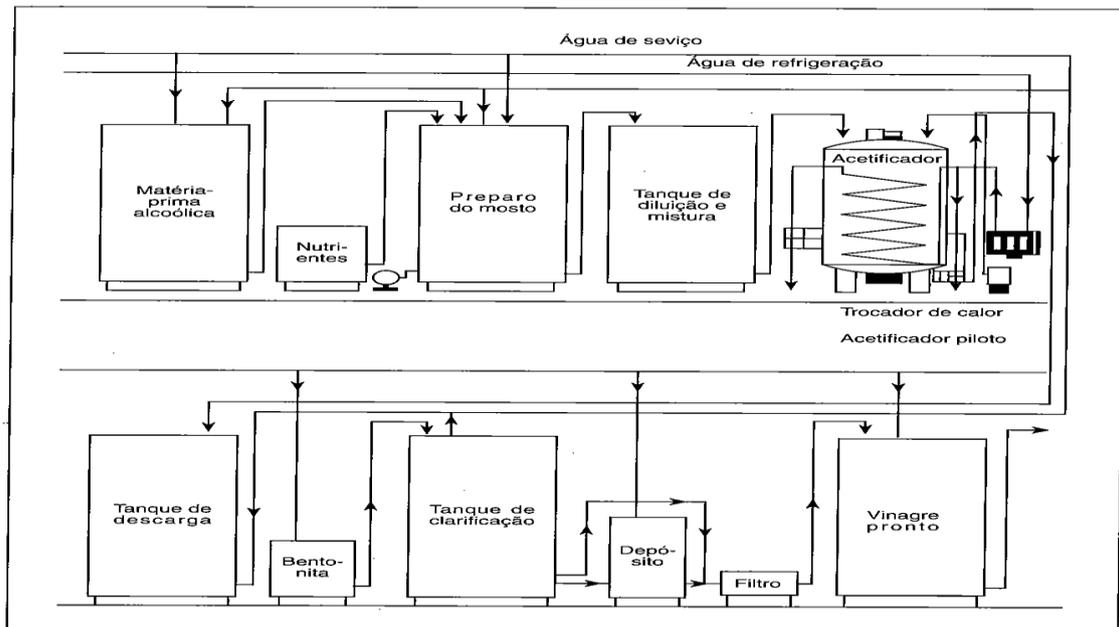


Figura 3: Esquema de um processo submerso para produção do vinagre.

Fonte: AQUARONE (2001).

3.2.2.4 Comparação entre os processos

Na tabela abaixo está demonstrada uma comparação entre cada processo de acetificação e as vantagens e desvantagens de cada método, segundo Aquarone et al. (2001):

Tabela 2: Comparação entre os processos de produção do vinagre

	Tipos de processo		
	Lento	Rápido	Submerso
Qualidade do vinagre	Ótima	Depende do envelhecimento	Depende de clarificação e envelhecimento
Custo do equipamento	Baixo	Alto	Alto
Rendimento do processo	Variável	Variável	Alto
Produtividade	Baixa	Variável	Alta
Facilidade operacional	Grande	Média	Grande, Dependendo de automação

Manutenção equipamento	Simples	Trabalhosa	Simples
Volume de produção	Pequeno	Médio	Grande

Fonte: Aquarone et al. 2001

3.2.3 Microrganismos fermentativos

Na produção do vinagre são utilizados basicamente dois processos fermentativos: a fermentação alcoólica e posteriormente a fermentação acética. Na fermentação alcoólica normalmente se utiliza uma cultura da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que dá ao produto final um aroma mais agradável. Já na fermentação acética, para tornar o processo mais eficiente, se utiliza a microflora *Acetobacter*, contendo diferentes espécies de bactéria (AQUARONE et al. 2001).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Frutos

Foram utilizados frutos de *Physalis pubescens* cultivadas na região Sudoeste do Paraná, a campo e em casa de vegetação, sem distinção, provenientes de experimentos diversos. Os frutos foram mantidos congelados, já que a produção é irregular e o período de colheita, dependendo das condições, pode levar várias semanas. Os mesmos foram estocados em freezer no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Vegetal da UTFPR, Câmpus Pato Branco. O suco foi obtido através de moagem dos frutos.

4.1.2 Microorganismos utilizados

Na fermentação alcoólica foi utilizada cultura pura de levedura *Sacharomyces cerevisiae r.f. bayanus* (Fermol Perlage, AEB Bioquímica Latino Americana SA), mantida em geladeira em meio YPD-Agar.

Na fermentação acética foi empregada microflora de bactérias acéticas isoladas a partir de vinagre forte de uva produzido no município de Pato Branco.

4.1.3 Reagentes

Os sais utilizados no processo (sulfitação, por exemplo) e reagentes possuíam pureza elevada, adequada para as devidas técnicas analíticas.

4.2 METODOLOGIA

4.2.2 Preparo do inóculo

4.2.2.1 Fermentação alcoólica

O inóculo foi preparado pela transferência de células de *S. cerevisiae* para frascos de erlenmeyer contendo 50mL de caldo YPD (extrato de levedura-peptona-dextrose). Os frascos foram submetidos a incubadora orbital por 24 horas em temperatura de 28°C para cultivo. As células foram recuperadas por centrifugação a 1350 x g por 15 minutos, submetidas a lavagem e posteriormente à ressuspensão em água esterilizada. Para inóculo foi utilizado volume necessário para obter-se concentração inicial de células de 2 g.L⁻¹.

A quantificação de biomassa celular foi realizada através de curvas de biomassa seca de células de *S. cerevisiae* construída correlacionando a concentração de células com absorbância em 600nm após leitura espectrofotômetro.

4.2.2.2 Fermentação acética

Para o preparo do inóculo utilizado na fermentação acética foi preparado caldo GY , em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 125mL de meio. As células oriundas de vinagre forte foram cultivadas por 48 horas em incubadora digital à 30°C. As células foram recuperadas, lavadas, ressuspensas e, assim, utilizadas como inóculo.

4.2.3 Preparo do mosto para fermentação alcoólica

Os frutos foram separados, selecionados e lavados com água clorada à 100 ppm para eliminação de sujeiras e microorganismos. Posteriormente à lavagem os frutos foram triturados utilizando-se multiprocessador Philips-Walita, modelo RI 7633. A polpa foi filtrada e obtido volume de 900mL de mosto. O mesmo foi caracterizado quanto aos seguintes parâmetros físicoquímicos: açúcares totais e redutores, proteínas, fenóis totais, pH, ácido ascórbico, sólidos solúveis. O mosto apresentou 9°Brix, sendo então corrigido para 16 °Brix por chaptalização com sacarose comercial. O pH foi verificado em pHmetro de bancada, não sendo necessária sua correção, sendo que o valor de 3,9 apresentou-se adequado para o processo de fermentação.

4.2.4 Condução da fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica foi realizada por processo descontínuo em cuba de vidro âmbar (garrafão com capacidade de 5 litros), à temperatura ambiente. O inóculo utilizado foi de cultura pura de *S. cerevisiae* na concentração de 2 g.L⁻¹.

O fermentado alcoólico foi caracterizado nos seguintes parâmetros: açúcares totais e redutores, proteínas, fenóis totais, pH e sólidos solúveis totais.

4.2.5 Fermentação acética

O processo de acetificação foi realizado pelo método lento (de Orleans) em vinagreira de madeira grápia com capacidade 2,5 litros.

Após a fermentação acética o vinagre foi separado das células por centrifugação por 30 minutos a 1350 x g.

4.2.6 Tratamento do fermentado acético

O vinagre obtido foi centrifugado a 1350 x g por 15 minutos e filtrado, de forma a obter um produto mais límpido. Depois disso, em frascos de vidro devidamente higienizados, o vinagre foi pasteurizado a temperatura de 65°C por 30 minutos.

O vinagre de physalis foi caracterizado quanto aos seguintes parâmetros: pH, ácido ascórbico, índice de acidez titulável e sólidos solúveis totais.

4.2.7 Análises físico químicas realizadas

O suco e o vinho de physalis foram caracterizados quanto aos seguintes parâmetros: açúcares totais e redutores, proteínas, fenóis totais, pH e sólidos solúveis totais. O ácido ascórbico foi caracterizado apenas para o suco.

4.2.7.1 Quantificação de açúcares totais e redutores

Para a quantificação de açúcares totais, foi utilizado o método do fenol sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). As leituras foram feitas em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800) em comprimento de onda de 490 nm, com a quantificação determinada através de curva padrão de glucose.

Para a quantificação de açúcares redutores no suco foi utilizado o método do ácido dinitrosalicílico (DNS), descrito por Miller em 1959, também através de espectrofotometria, nesse caso em comprimento de onda de 540 nm, tendo uma curva de glucose como padrão.

4.2.7.2 Quantificação de proteínas

A quantificação de proteínas no suco de frutos de *P. pubescens* foi determinada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976), com soroalbumina bovina como padrão.

4.2.7.3 Determinação do pH

O pH do suco será determinado através de um medidor de pH na central de análises da UTFPR, câmpus Pato Branco.

4.2.7.4 Quantificação de ácido ascórbico

A determinação de ácido ascórbico no vinagre foi realizada por titulação, seguindo a metodologia descrita pelo instituto Adolfo Lutz, (1985).

4.2.7.5 Quantificação de sólidos solúveis totais

A quantificação de sólidos solúveis totais foi determinada através de medição diretamente do suco, vinho e vinagre, através de refratômetro.

4.2.7.6 Determinação da acidez titulável

A acidez titulável do vinagre foi determinada por titulação gravimétrica com hidróxido de sódio, seguindo a metodologia sugerida pelo instituto Adolfo Lutz (2008).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO FRUTO

Na Tabela (3) estão descritos os resultados obtidos na caracterização do fruto.

Tabela 3: Caracterização de fruto de *Physalis pubescens* (L.).

Parâmetros	<i>Physalis pubescens</i> (fruto)
Açúcares Redutores em Glicose (mol/100g)	1,07±0,006
Açúcares Totais em Glicose (g/100g)	4,23±0,08
Proteínas (mg/100g)	90,4 ±0,0095
Vitamina C (mg/100g)	23,0±0,4
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	9,0±1,4
pH	3,95±0,9

Após a caracterização do fruto e comparação com a literatura, verifica-se que o fruto de *P.pubescens* possui uma quantidade de Vitamina C bem maior com relação às outras variedades do fruto, sendo que, segundo Xavier (2011), o valor de vitamina C encontrado para a *Physalis peruviana* (L.) foi de 13,2mg/100g e segundo de Oiveira (2011), o valor encontrado para a *Physalis angulata* (L.) foi de 17,6mg/100g.

Com relação ao teor de sólidos solúveis totais, o valor encontrado de 9,0°Brix é menor em comparação ao valor descrito por Xavier (2011) para *Physalis peruviana*, de 16,0°Brix e o valor de pH da *P. Pubescens* de 3,95 demonstrou-se mais alto com relação ao valor de pH do fruto de *Physalis peruviana*, de 3,81, descrito pelo mesmo.

Uma comparação mais apurada de parâmetros físico químicos com outras variedades dependeria das mesmas condições de cultivo da planta e colheita do fruto, o que não foi o caso.

5.2 CURVA DE BIOMASSA SECA PARA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA, OBTIDA COM S. CEREVISAE

Na figura 4 está demonstrada a curva de biomassa seca de células de *S. Cerevisae* utilizadas no processo da fermentação alcoólica.

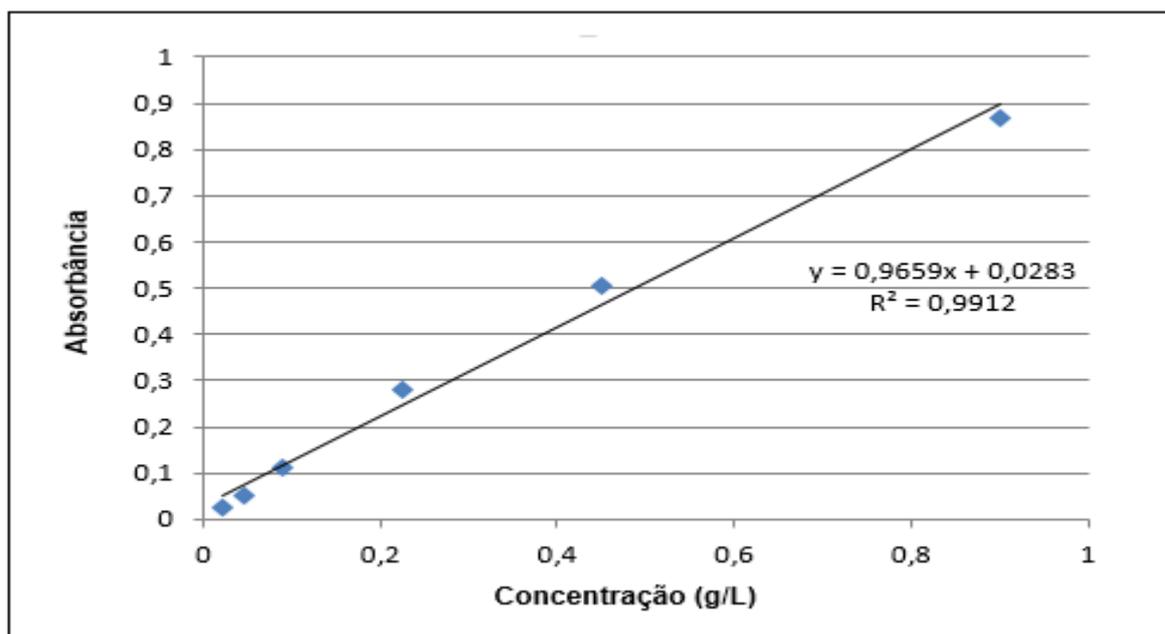


Figura 4: Curva de biomassa seca de *Sacharomyces cerevisiae* NCYC 478

Pôde-se verificar boa correlação entre a leitura de absorvância e a concentração de biomassa, através de um coeficiente de correção de 0,9912 na curva.

Utilizou-se a equação da reta para calcular o volume de inóculo empregado na fermentação. É importante uma padronização do inóculo para o decorrer de futuros ensaios fermentativos que necessitem de mesmas condições de estudo.

5.3 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Durante o processo de fermentação alcoólica fôra acompanhada a variação nos valores de pH e de quantidade de açúcares através do teor de sólidos solúveis totais (°Brix). O vinho também foi caracterizado segundo a Tabela 4.

Tabela 4: Caracterização dos parâmetros do vinho.

Parâmetros	<i>Physalis pubescens</i> (vinho)
Açúcares Redutores em Glicose (mmol/100mL)	0,95±0,012
Açúcares Totais em Glicose (mg/100mL)	5,4±0,2
Proteínas (mg/100g)	37,5±0,0097

Verifica-se diminuição da quantidade de açúcares após a fermentação alcoólica, devido ao consumo dos mesmos como substrato pelas leveduras, para produção de etanol.

5.3.1 pH

O pH inicial do mosto era de 3,95 antes do início da fermentação. Na figura 6, pode-se perceber que não houve grande variação nos valores de pH durante o processo. O pH final da fermentação foi de 3,65 após 72 horas.

O valor de pH inicial não foi corrigido, porque se considerava adequado para a fermentação. Valores baixos de pH são importantes na resistência à infecção bacteriana (TORRES NETO et al., 2006).

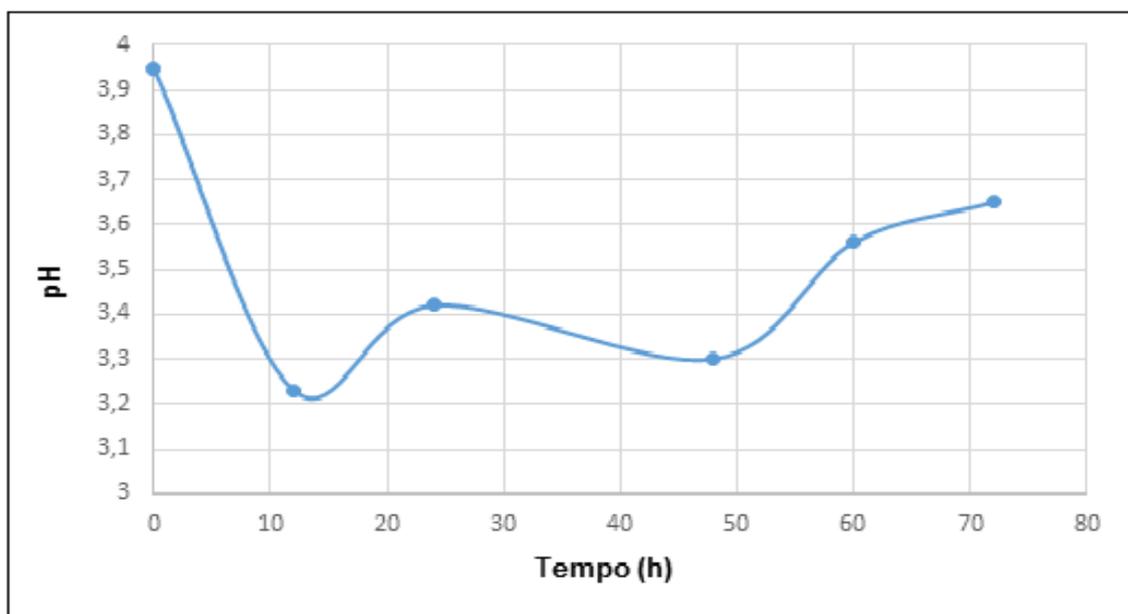


Figura 5: Comportamento do pH no decorrer da fermentação alcoólica

5.3.2 Sólidos solúveis totais

A taxa de consumo de açúcares durante a fermentação alcoólica foi acompanhada através da variação no teor de sólidos solúveis totais (°Brix) (Figura 6), que permaneceu constante em torno de 5,5°Brix após 72 horas. O consumo incompleto se dá possivelmente pelo acúmulo de etanol após as 72 horas de fermentação, ocorrendo assim inibição dos microorganismos fermentativos no mosto.

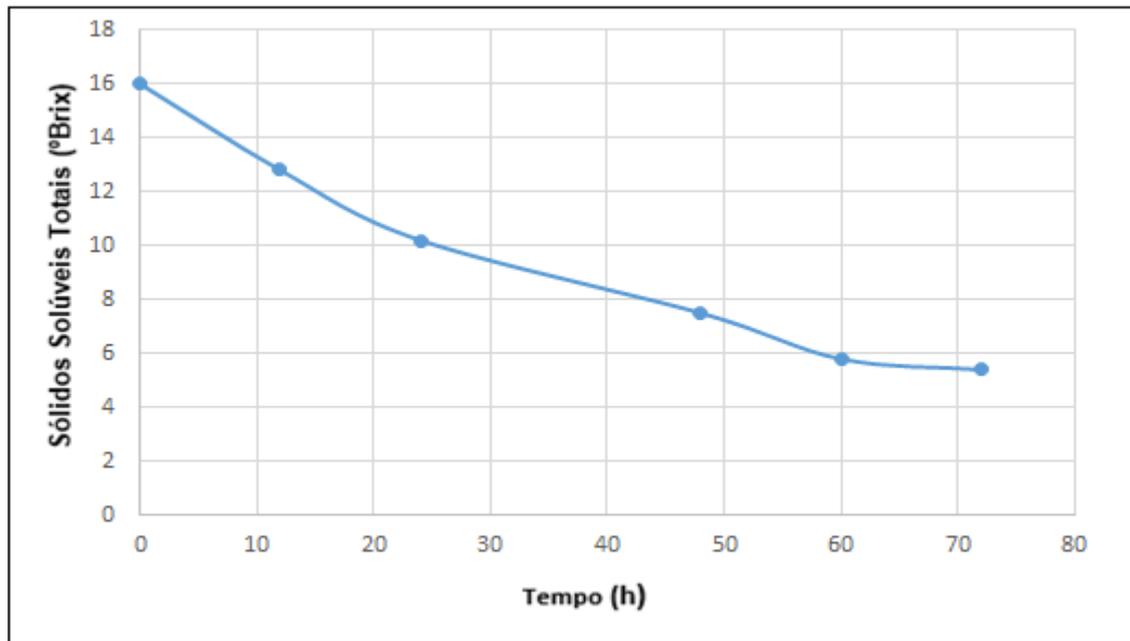


Figura 6: Curva que representa o consumo de açúcares durante a fermentação.

5.4 FERMENTAÇÃO ACÉTICA

A acetificação foi acompanhada através de medidas de valores de pH e quantificação de ácido acético. O processo contou com controle de temperatura (30°C) e teve duração de 96 horas.

5.4.1 pH

O pH do meio durante o processo de acetificação variou de 3,95, no início, para 3,3 no final (Figura 7). A diminuição do pH se deve à produção de ácido pelas bactérias ácido-acéticas através do consumo de álcool e sua transformação em ácido acético.

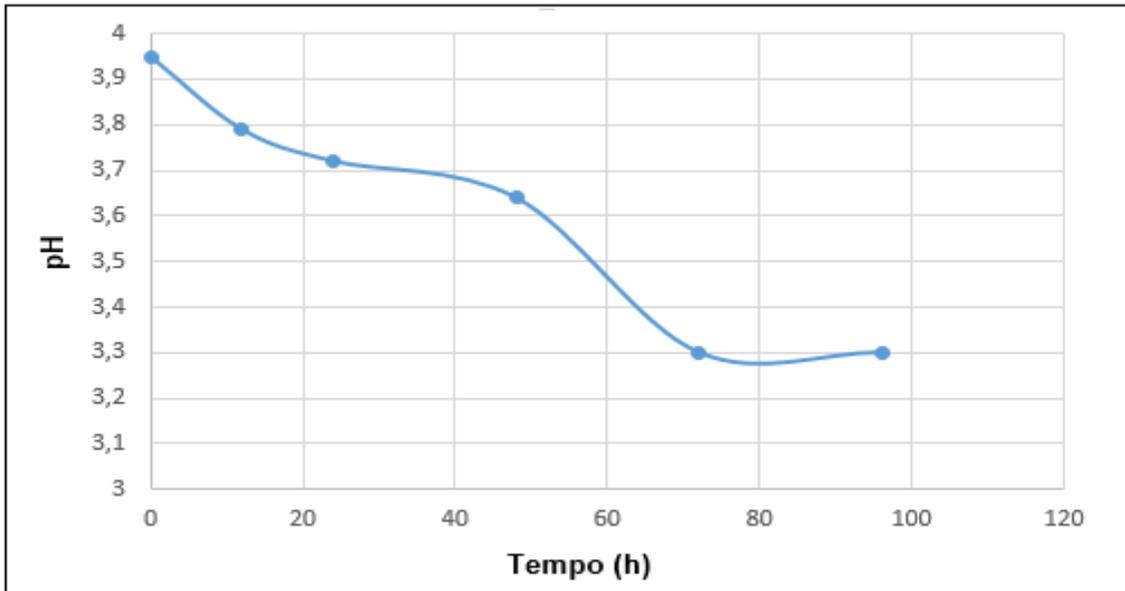


Figura 7: Variação do pH durante a fermentação acética

5.4.2 Acidez em ácido acético

A variação nos valores de acidez durante o processo pode ser verificada na Figura 8. A concentração final de ácido acético no fim do processo foi de 5,67 % e está dentro dos valores preconizados pela legislação brasileira, de no mínimo 4,0 g/100mL para vinagres de frutos (RIZZON; MENEGUZZO, 2006).

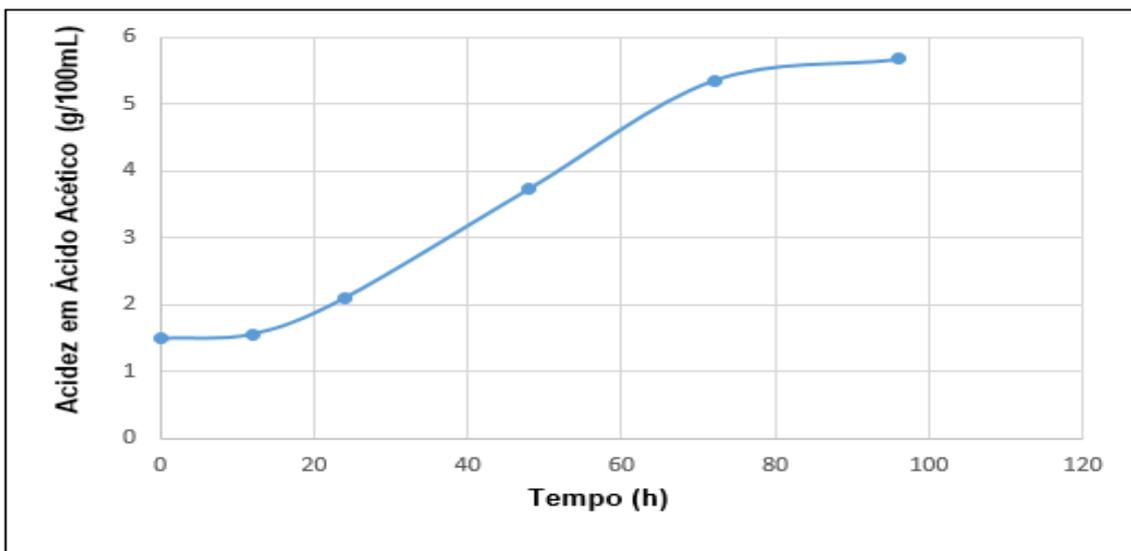


Figura 8: Produção de ácido acético durante o processo

O vinagre obtido obteve coloração amarelada característica também do fruto. Entretanto, essa coloração sofreu pequena alteração durante o processo de acetificação devido à utilização de vinagre forte de uva utilizado para o preparo do inóculo, o qual, devido à coloração escurecida, contribuiu para um leve escurecimento do produto, ainda que não considerável.

5.4.3 Caracterização e tratamento final do vinagre

Pode-se constatar que o vinagre obtido enquadra-se dentro dos parâmetros da literatura no que se refere à acidez. Apresentou ainda um valor de 10,1mg/100mL de vitamina C e um valor de sólidos solúveis totais de 3,5 °Brix.

Após a centrifugação o vinagre obtido está demonstrado na Figura 9.

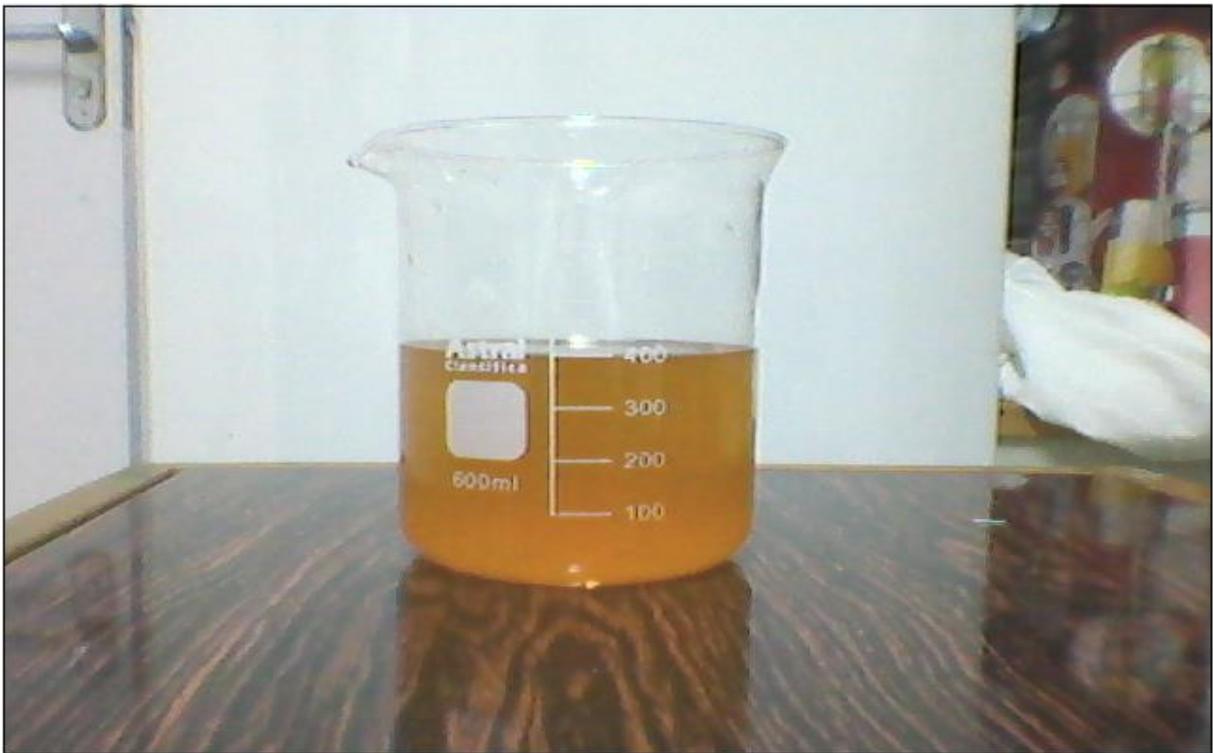


Figura 9: Produto obtido após centrifugação.

O fermentado acético foi ainda pasteurizado à 65°C por 30 minutos e devidamente armazenado, em temperatura ambiente.

CONCLUSÕES

Neste trabalho, foi possível caracterizar físicoquimicamente o suco e o vinho de frutos de *Physalis pubescens* L. e produzir um vinagre a partir dos mesmos, utilizando-se do processo lento de fermentação acética.

A utilização dos frutos de Fisális como aproveitamento tecnológico pode vir a ser uma boa estratégia para incentivar o seu cultivo no país. O processo de transformação do fruto em derivados, como o vinagre, pode ser uma boa ferramenta para o pequeno produtor e uma possível disseminação da planta pode resolver o problema do alto custo do fruto que se deve ao cultivo de maneira sazonal, impossibilitando uma disponibilidade maior do mesmo durante todo o ano.

Ainda são necessários maiores estudos com relação à *Physalis*, principalmente no que se refere à variedade verificada neste trabalho (*P. pubescens*), a qual não possui uma base teórica aprofundada sobre seus frutos e derivados no país. Todavia, a produção do vinagre pode ser importante nesse quesito como forma de impulsionar o gênero, tornando o consumo dos frutos e derivados mais corriqueiro e impulsionando outros trabalhos acadêmicos referentes aos mesmos.

REFERÊNCIAS

ALVARADO, P.A.; BERDUGO, C.A.; FISCHER, G. **Efeito de um tratamento a 1,5°C e das humidades relativas sobre as características físico químicas do fruto de *Physalis peruviana* L. durante o posterior transporte e armazenamento.** Agronomía Colombiana, Bogotá, v.22, 2004.

AQUARONE, Eugênio; BORZANI, Walter; SCHMIDELL, Willibaldo; LIMA, Urgel de Almeida; **Biotecnologia Industrial – Biotecnologia na Produção de alimentos**, vol. 4, ed. Edgard Blucher LTDA, São Paulo, 2001.

BIELESKI, R.L; TURNER, N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extratcts by thin-layer electrophoresis and chomatography. **Analitycal Biochemistry**, Orlando, v.17, p.278-293, 1966.

BRIGHENTI, Alberto; **A cultura de Physalis**, Disponível em: <www.fit.ufsc.br/disciplinas_download.php?cod=1924> Acesso em 21 de maio de 2012.

BORTOLINI, Fabiana; SANT'ANNA, Ernani Sebastião and TORRES, Regina Coeli. **Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi (*Actinidia deliciosa*): composição dos mostos e métodos de fermentação acética.** *Ciênc. Tecnol. Aliment.* [online]. 2001, vol.21, n.2, pp. 236-243. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612001000200020> Acesso em 20 de junho de 2012;

BORZANI, Walter; SCHMIDELL, Willibaldo; LIMA, Urgel de Almeida; AQUARONE, Eugênio; **Biotecnologia Industrial – Fundamentos**, vol. 1, ed. Edgard Blucher LTDA, São Paulo, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 36, de 14 de outubro de 1999. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para fermentados acéticos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 15 de outubro de 1999, Seção 1, p. 76.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: v. 1**

Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. p. 393.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos.** 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

JENNINGS, A.C. The determination al dihydroxy phenolic compounds in extracts of plant tissues. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.118, p.396-398, 1991.

LIMA, Urgel de Almeida; AQUARONE, Eugênio; BORZANI, Walter; SCHMIDELL, Willibaldo; **Biotechnologia Industrial – Processos Fermentativos Enzimáticos**, vol. 3, ed. Edgard Blucher LTDA, São Paulo, 2001.

MARQUES, Fabíola Pedrosa Peixoto; SPINOSA, Wilma; FERNANDES, Kátia Flávia; CASTRO, Carlos Frederico de Souza; CALIARI, Márcio; **Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais**, Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 119-126, maio 2010. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v30s1/19.pdf>> acesso em 1 de outubro de 2012.

MOSCHETTO, Arnaldo; **Physalis**; Revista Globo Rural, edição 296, junho de 2010. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/Revista/Common/0,,EMI149243-18293,00-PHYSALIS.html>> acesso em 21 de maio de 2012.

MUNIZ, Janaína; KRETZSCHMAR, Aike Anneliese; RUFATO, Leo; GATIBONI, Luciano Colpo; **Principais pesquisas realizadas com o cultivo de *Physalis* no sul do Brasil**, UDESC, 2012. Disponível em: <http://fruticultura.cav.udesc.br/wp-content/uploads/2012/04/janaina_muniz_et_al.pdf> Acesso em 27 de setembro de 2012.

De OLIVEIRA, Johnatt; MARTINS, Luiza Helena; VSCONCELOS, Marcus Arthur Marçal; PENA, Rosinelson da Silva; CARVALHO, Ana Vânia. **Caracterização física, físico química e potencial tecnológico de Campu (*Physalis angulata* L.)**. Revista Brasileiro de Tecnologia Agroindustrial. 2011. Disponível em: <http://revistas.utfpr.edu.br/pg/index.php/rbta/article/viewFile/772/746> Acesso em 2 de Agosto de 2013.

PATRO, Raquel; **Fisalis**, *Physalis* sp. 2010. Disponível em <http://www.jardineiro.net/br/banco/physalis_sp.php>. Acesso em 23 de maio de 2012

RIZZON, Luiz A.; MENEGUZZO, Julio. Sistema de produção de vinagre. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves. Dez. 2006. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinagre/SistemaProducaoVinagre/acetificacao.htm>>. Acesso em 24 de outubro de 2013.

RUFATO, L.; RUFATO, A. De. R.; SCHLEMPER, C.; LIMA, C. S. M.; KRETZSCHMAR, A. A. **Aspectos técnicos da cultura da physalis**. 1. ed. Lages: CAV/UEDESC; Pelotas: UFPel, 2008. 100 p.

SHREVE, R. Norris; BRINK JR, Joseph A; **Indústrias de Processos Químicos**, 4ª edição, ed. Afiliada, Rio de Janeiro, 1997;

SILCOX e LEE, **Fermentation**, Ind. Eng. Chem., 40, 1602 (1948) (9), pp 1602–1608

SPINOSA, W. A. **Isolamento, seleção, identificação e parâmetros cinéticos de bactérias acéticas provenientes de indústria de vinagre**. 2002. Tese de Doutorado. Engenharia de alimentos, Universidade estadual de Campinas, departamento de ciência de alimentos, 2002. Disponível em: <<http://cutter.unicamp.br/document/?code=000236984>> Acesso Em 20 de junho de 2012.

TORRES NETO, Alberto B. et al. Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000300015 Acesso em 12 de julho de 2013.

XAVIER, Danniela; IVANOV, Raphael Coelli, CUNHA, Mario; ANDRADE, Edimir; **Produção e Caracterização de Vinagre de Physalis (*Physalis peruviana* L.)**; Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos, Campo Mourão (PR), v.2, n.1, p.27-32, jan./jun., 2011.

