

# UTILIZAÇÃO DE *HANSENIASPORA SP* ISOLADA NO SUCO DO MELÃO NA FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

M. V. L. O. SOARES<sup>1</sup>, M. S. L. BENEVIDES<sup>1</sup>, N. C. G. SILVA<sup>1</sup>, A. D. T. PINHEIRO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Departamento de Agrotecnologia e Ciências Sociais

E-mail: alvaro\_eq@hotmail.com

**RESUMO** - *Hanseniaspora* é uma levedura não convencional e conhecida na literatura como composto volátil frutado capaz de melhorar o perfil sensorial de bebidas fermentadas. Esses microrganismos fermentam açúcares e podem ser encontrados em frutas como o melão, que possui enorme potencial de cultivo no Rio Grande do Norte. No âmbito nacional o estado Potiguar destaca-se como maior produtor e exportador de melões amarelos. Diante disso, o presente trabalho visava avaliar a produção de etanol através da fermentação alcoólica do suco do melão amarelo utilizando a *Hanseniaspora*. Para tanto, analisou-se como meio de cultura o suco de melão, suco mais o bagaço do melão e o suco juntamente com a casca do melão, onde foram colocados em uma incubadora e submetidos à temperatura de 30°C e uma rotação de 150 rpm durante o período de 10 h. Dentre os meios utilizados constatou-se o que composto contendo apenas o suco do melão obteve maior eficiência (90,5%) na produção do etanol.

## 1. INTRODUÇÃO

De acordo com Souza (2005), o melão (*Cucumis Melo L.*) é constituinte da família das cucurbitáceas, pode ser consumido *in natura* e é considerado um fruto nobre em função de seu sabor apreciável e por possuir elevado valor nutricional na forma de hidratos de carbono, vitaminas C, A e B1, fósforo e cálcio.

A fruticultura irrigada do Rio Grande do Norte tornou-se uma grande fonte de renda, destacando-se no âmbito nacional como o maior produtor e exportador de melões, sendo a cidade de Mossoró, localizada no Oeste Potiguar, a que tem maior potencial de cultivo de melão amarelo, afirma Souza (2005). Tal fato deve-se as favoráveis condições climáticas do Nordeste brasileiro, já que a pequena ocorrência de chuvas favorecem a baixa incidência de doenças e a melhor qualidade dos frutos.

A temperatura é um dos principais fatores climáticos que afeta a cultura do melão, pois segundo Costa (2005) à medida que a temperatura se eleva, dentro de certos limites, o fruto torna-se mais doce e a sua maturação é mais rápida e completa. Outro quesito que provoca alterações na composição do fruto é a umidade relativa, caso esteja elevada os melões produzidos serão pequenos e de sabor inferior. Quanto à umidade do ar, Brandão Filho & Vasconcellos (1998) constataram que a mesma deve situar-se entre 65% e 75%.

Assim, o melão pode ser utilizado como fonte de açúcares (glicose +frutose) em fermentações alcoólicas, a qual pode ser definida como um processo anaeróbico que consiste

na transformação de açúcares em etanol e gás carbônico, podendo a mesma ocorrer à ação de leveduras, fungos e bactérias.

Segundo Kosaric (1996), os processos conduzidos por microrganismos consistem em um conjunto de operações de caracterização e o tratamento da matéria-prima, o preparo do meio de produção e propagação, a esterilização e a transformação do substrato em produto.

Dessa forma, o presente trabalho utilizou uma levedura não convencional para fermentar os açúcares presentes no suco do melão, a qual pertence ao gênero *Hanseniaspora*. Apesar de não ser muito utilizada industrialmente, Barros (2013) afirma que tal levedura acarreta uma economia nos custos dos processos fermentativos e que é capaz de melhorar o perfil sensorial de bebidas fermentadas. Para tanto, estudou-se o processamento inicial do melão de três diferentes formas, utilizando como meio de cultura: o suco extraído da polpa do melão, da polpa +entrecasca e do fruto completo (polpa + entrecasca + casca).

## 2. METODOLOGIA

### 2.1. Micro-organismo

O microrganismo utilizado nos processos de fermentação foi a *Hanseniasporasp.*, uma levedura isolada a partir do próprio suco do melão.

### 2.2. Meios de cultura

Para fins de manutenção, propagação e obtenção do inóculo, preparou-se uma solução de YEPD (YeastExtract-Peptone-Dextrose), ou seja, meio complexo constituído por 10 g.L<sup>-1</sup> de Extrato de Levedura, 20 g.L<sup>-1</sup> de Peptona e 30 g.L<sup>-1</sup> de Glicose. O pH do meio foi ajustado para 4,5 utilizando ácido sulfúrico P.A., sendo a esterilização realizada em autoclave a 110 °C por um período de tempo de 10 minutos.

A inoculação foi conduzida em ambiente estéril, especificamente em uma câmara de fluxo laminar, e a incubação realizada em Erlenmeyers, posteriormente colocados em um agitador orbital da marca Tecnal, modelo TE-420, sob as seguintes condições: velocidade de agitação de 150 rpm, temperatura a 30 °C por um período de 24 h. Em seguida, o inóculo foi filtrado a vácuo na câmara de fluxo laminar para obter a concentração celular desejada para o ensaio fermentativo.

### 2.3. Preparação do suco de melão

Inicialmente, os melões foram lavados em água e álcool etílico 70%. Em seguida, o melão foi cortado em cubos, os quais foram triturados para a obtenção do suco. Seu pH foi ajustado com ácido sulfúrico P.A. para 4,5 e sua esterilização se deu em autoclave a 110 °C por 10 min. Avaliou-se a obtenção do suco a partir de três diferentes formas, utilizando como meio de cultura: o suco extraído da polpa do melão, da polpa +entrecasca e do fruto completo (polpa + entrecasca + casca).

### 2.4. Fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica ocorreu em frascos de Erlenmeyer de 500 mL, utilizando 250 mL de suco de melão como meio fermentativo, sendo 5 g/L a concentração da levedura *Hanseniaspora sp.* Os ensaios foram conduzidos em um agitador orbital (Tecnal – TE 420) sob agitação de 150 rpm por

um período de 10 h e a temperatura de 30 °C. Amostras foram retiradas em intervalos de tempo pré-definidos para serem analisadas, sendo as alíquotas coletadas na câmara de fluxo laminar para que não houvesse contaminação.

## 2.5. Métodos analíticos

Concentração celular: Para mensurar a concentração de biomassa, fez-se uso da densidade óptica (D.O.) a 410 nm com auxílio de um espectrofotômetro. Esse método é baseado na medida da turvação de uma solução em função da quantidade de células em suspensão, sendo simples e rápida a sua execução.

Concentração de substrato e produto: Para mensurar as concentrações de substrato e produtos, utilizou-se cromatografólíquido de alta eficiência - CLAE (Waters, Milford, MA, EUA) equipado com um detector de índice de refração Waters 2414 e com uma coluna Aminex HPX-87H (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). Ácido Sulfúrico 5 mmol.L<sup>-1</sup> foi usado como fase móvel (eluente) na vazão de 0,5 mL.min<sup>-1</sup> a 65°C, sendo o volume de injeção das amostras de 20 µL.

Cálculo dos rendimentos e parâmetros cinéticos: A partir dos ensaios experimentais, obtiveram-se os dados necessários (concentração de biomassa, substrato, produto) para determinação dos parâmetros cinéticos da fermentação alcoólica, tais como velocidade específica de crescimento ( $\mu_{m\acute{a}x}$ ), conversão de célula em produto ( $Y_{p/x}$ ), conversão de substrato em célula ( $Y_{x/s}$ ), conversão, eficiência e produtividade.

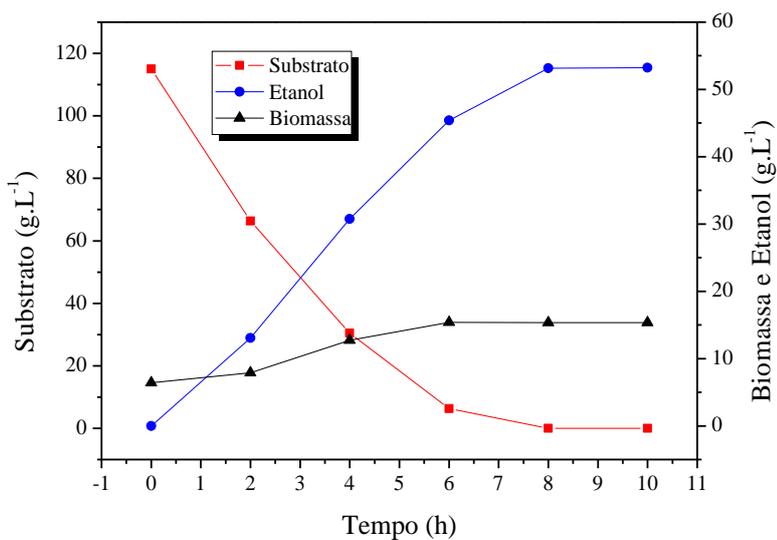
## 3. RESULTADOS

Visando estudar os efeitos da fermentação alcoólica utilizando a levedura *Hanseniasporasp* em distintos meios de cultura (suco de melão, suco de melão + bagaço e suco de melão + casca) avaliou-se o consumo de substrato, a produção de etanol e o crescimento celular durante dez horas de fermentação como pode ser visualizado na Figura 1.

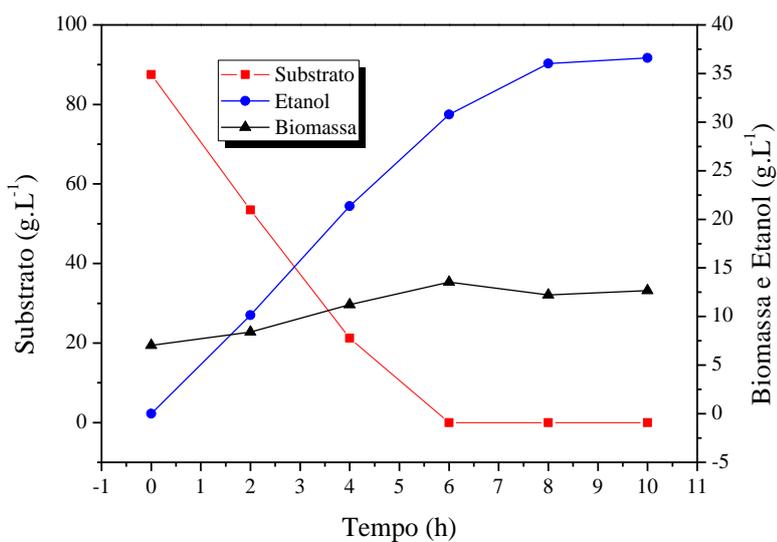
Analisando a Figura 1, percebe-se que o meio 1 contendo apenas o suco do melão apresentou resultados mais satisfatórios do que os outros meios, já que a produção de etanol (53,2 g/L) foi maior do que nos outros meios e houve estabilização no período de 8 horas de fermentação. A produção de etanol foi proporcional à quantidade de substrato em g/L fornecido por cada meio. Outro fator que aponta o meio contendo apenas o suco de melão como o mais satisfatório é a concentração celular que apresentou valores de 15,3 g/L, estabilizando após 6 horas do início da fermentação.

Já nos outros meios observa-se que o substrato é consumido completamente após 4 horas de fermentação e a produção de etanol do suco + bagaço (36,6 g/L) e a do suco + casca (23,16 g/L) apresenta valores inferiores ao do meio 1.

a)



b)



c)

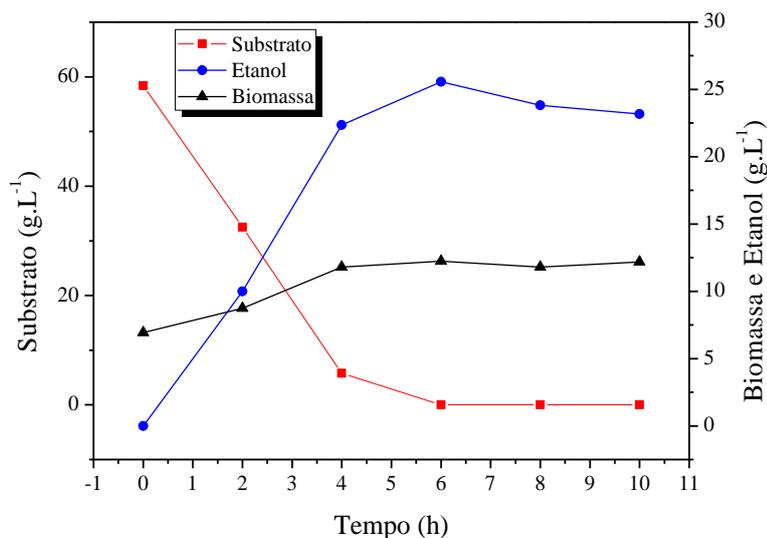


Figura 1- Efeito da suplementação do suco do melão para a produção de etanol por *Hanseniasporasp* a 30°C e 150 rpm. Onde são apresentadas respectivamente pelo a) Suco b) suco + bagaço c) suco + casca

A formação de glicerol, o mais abundante dos compostos orgânicos secundários da fermentação, está acoplada à manutenção do equilíbrio redox celular, o qual é alterado quando da forma de ácidos orgânicos, biomassa e da presença de sulfito no mosto. A formação de glicerol também está relacionada a uma resposta ao estresse osmótico, quando há concentrações elevadas de açúcares ou de sais no mosto (LIMA et al, 2001). É importante ressaltar que em ambos os meios não ocorreu a formação de subprodutos, tais como o glicerol, o ácido acético e o metanol.

Após a fermentação dos diferentes meios de cultura, foi possível avaliar alguns parâmetros cinéticos tais como máxima velocidade específica de crescimento ( $\mu_{m\acute{a}x}$ ), conversão de substrato em célula ( $Y_{x/s}$ ), conversão de célula em produto ( $Y_{p/x}$ ), conversão de substrato em produto ( $Y_{p/s}$ ), eficiência ( $\eta$ ) e a produtividade  $Q_p$  e podem ser encontrados na Tabela 1.

Verificando a Tabela 1 observa-se que a maior velocidade específica de crescimento celular ( $0,172\text{ h}^{-1}$ ), a conversão de substrato em produto ( $0,462707$ ), a produtividade ( $7,563131$ ) e eficiência ( $90,54927$ ) foi obtida utilizando o meio 1, que é formado apenas pelo suco de melão. Provavelmente ocorreu esse maior crescimento e produção de etanol pelo fato do suco do melão apresentar uma composição mais rica de nutrientes como, vitaminas, metais e aminoácidos.

Tabela 1 – Parâmetros cinéticos obtidos pela levedura *Hanseniaspora* na fermentação do suco do melão em distintos meios de cultura a uma temperatura de 34°C

Parâmetros Cinéticos	Meios de Cultura		
	Suco	Suco + Bagaço	Suco + Casca
$\mu_{\text{máx}}$ (h <sup>-1</sup> )	0,172	0,117	0,133
$Y_{X/S}$ (g/g)	0,077953	0,064399	0,089789
$Y_{P/X}$ (g/g)	5,935687	6,49576	4,420086
$Y_{P/S}$ (g/g)	0,462707	0,418321	0,396876
$\eta$ (%)	90,54927	81,86314	77,66661
$Q_P$ (g/L.h)	7,563131	0	4,260722

Como se pode observar o suco + casca apresentou o menor rendimento de células em produto. Esse fato mostra que as células utilizam mais substrato para seu sustento do que para a produção de etanol, diminuindo assim a sua viabilidade. No entanto o meio composto pelo suco + o bagaço apresentou melhor conversão células em produto. Já a conversão de substrato em células foi maior no meio contendo o suco + casca (0,089), seguindo pelo suco (0,077) e com um menor valor o suco + bagaço (0,064).

Em relação à quantidade de etanol produzido, percebe-se a disparidade dos resultados obtidos em ambos os meios. O suco com maior valor (7,56 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>), seguido do suco + casca (4,26 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) e o suco + bagaço com produtividade nula.

#### 4. CONCLUSÃO

A levedura isolada do suco do melão amarelo e pertencente ao gênero *Hanseniaspora* foi capaz de produzir etanol através da fermentação alcoólica com uma temperatura de 34°C e um pH ajustado para 4,5, possibilitando assim um melhor controle de infecção e redução de contaminação. Comparando os resultados entre os meios estudados, percebe-se que o meio que compreende apenas o suco de melão foi o mais satisfatório, destacando-se com 90,5% de eficiência na produção de etanol, maior velocidade no crescimento celular e ausência na formação de subprodutos, tais como o glicerol, o ácido acético e o metanol nas análises das amostras fermentadas. Portanto, é possível obter ótimo perfil de fermentação utilizando uma levedura não convencional.

#### 5. REFERÊNCIAS

- BARROS, E. M. Isolamento e identificação de uma levedura obtida do suco de caju para a produção de etanol – Fortaleza, 2013.
- BRANDÃO FILHO, J. U. T.; VASCONCELLOS, M.A.S. A cultura do meloeiro. In: GOTO, R.; TIVELLI, S.W. eds. Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais. São Paulo: Fundação Editora da UNESP, 1998. P.161-193.

COSTA, N. D. O cultivo do melão. 2005-2007

KOSARIC, N.J., REED, G., PUHLER, A. E STADLER, P. Products Etanol – Potential souce of energy and chemical products. In: Rehm, H. of primary metabolism – Biotechnonology. 2 ed., Vch, p. 121-203, (1996).

LIMA, U. A., BASSO, L. C., AMORIM, H. V. Produção de Etanol. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. (Coord.). Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos, v.3, capítulo 1, São Paulo, SP, Editora Edgard Blucher, 2001.

SOUZA, F. C. S. Potencialidades e (in)sustentabilidade no semiárido potiguar. Natal: Editora do CEFET-RN, 2005.