

# **INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE AÇÚCAR NA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO SUCO DE MELÃO**

J. M. M. HENRIQUE<sup>1</sup>, N. C. G. SILVA<sup>1</sup> e A.D.T. PINHEIRO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Departamento de Agrotecnologia e Ciências Sociais  
E-mail para contato: alvaro\_eq@hotmail.com

**RESUMO** – Com boa disponibilidade na região nordeste e apresentando baixo custo, o melão foi empregado como insumo da fermentação alcoólica, sendo seu suco fermentado por meio da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Com a finalidade de se obter a concentração de açúcar que maximize o rendimento fermentativo e minimize a formação de subprodutos, foram realizados ensaios utilizando Erlenmeyers de 500 mL. Para tanto, utilizou-se incubadora tipo *shaker* a 150 rpm e 30 °C por um período de dez horas, sendo a faixa de concentração inicial de açúcar estudada entre 100 e 180 g.L<sup>-1</sup>. Para concentrações de açúcar superiores a 140 g.L<sup>-1</sup>, observou-se o aparecimento de efeitos inibitórios, sendo estes refletidos na diminuição do rendimento do processo fermentativo para concentrações superiores. Para a faixa de 100 a 140 g.L<sup>-1</sup>, observou-se que o rendimento permaneceu em torno de 93%. Assim, a concentração inicial de substrato de 100 g.L<sup>-1</sup> foi escolhida como ótima devido ao fato de conseguir-se o mesmo rendimento utilizando, porém, menor quantidade de substrato.

## **1. INTRODUÇÃO**

Considerado um processo industrial essencial na obtenção de álcool etílico, a fermentação alcoólica ocorre na ausência de oxigênio, sendo a mesma catalisada por enzimas, as quais auxiliam a transformação de açúcares em etanol e CO<sub>2</sub>. Em geral, as fermentações alcoólicas são conduzidas por leveduras, sendo a mesma compreendida por várias operações para sua efetivação, como tratamento da matéria-prima, preparo do meio de crescimento e produção, esterilização do mesmo, consecução do produto através do consumo de substrato, separação e purificação do mesmo, entre outros (KOSARIC, 1996).

Diversos fatores influenciam no crescimento de micro-organismos e determinam o tipo de metabolismo que irão exibir, tais como temperatura, pH, concentração inicial de células e concentração inicial de substrato (açúcar) (LIMA, BASSO e AMORIM, 2001). Além disso, valores não ideais desses parâmetros, intrínsecos a cada tipo de processo fermentativo, afetam a eficiência de conversão de substrato em produto, ou seja, o rendimento da fermentação.

Nos processos fermentativos, a presença de açúcar é essencial no meio de cultura, sendo parte destinada à conversão em álcool por ação das leveduras e o resto exercerá influência significativa na qualidade do produto final (ZINGLER *et al.*, 2009). Chaptalizar consiste no processo de acrescentar

açúcar ao mosto de forma a aumentar a quantidade total de açúcar e assim elevar o potencial teor de álcool. Conforme modelo de Monod, o aumento na concentração inicial de substrato exibe uma cinética de crescimento celular do tipo saturação. Um gradativo acréscimo na concentração de açúcar extrapola essa região de saturação e concede à fermentação um efeito inibitório pelo substrato, causando assim a desativação de enzimas e, como dito anteriormente, modifica o caminho metabólico do micro-organismo. Quando a concentração ultrapassa  $150 \text{ g.L}^{-1}$ , há ocorrência do efeito inibidor por parte do substrato (THATIPAMALA, ROHAI e HILL, 1992).

Na obtenção de álcool, os principais micro-organismos utilizados são as leveduras, uma vez que são economicamente viáveis e apresentam bom rendimento do processo. O gênero *Sacharomyces cerevisiae* pertence ao grupo de leveduras mais utilizadas na indústria, pois se trata de um organismo vivo, com múltiplas habilidades metabólicas, podendo alterar a estequiometria quando ocorrem alterações no meio e assim afetar diretamente a conversão de açúcar em etanol (LIMA, BASSO e AMORIM, 2001). No Brasil, são usualmente empregadas como agentes de bioprocessos na produção de álcool, na panificação e na elaboração de bebidas como cerveja, vinho e cachaça (MACEDO, 1993).

As leveduras necessitam de nutrientes para seu crescimento, manutenção e reprodução (AMORIM; LEÃO, 2005), uma vez que os mesmos encontram-se presentes na matéria-prima utilizada como substrato na fermentação, juntamente com umidade e açúcares. Por apresentar tais requisitos, elevado teor de sólidos solúveis, boa disponibilidade durante todo o ano no nordeste brasileiro e preço bastante acessível, o melão (*Cucumis melo* L.) apresenta-se como um insumo promissor na fermentação alcoólica. Além disso, seu uso na fabricação de produtos não tradicionais, como o vinho de frutas, visa o aproveitamento do excesso de safras, agrega valor ao mesmo e apresenta potencial geração de empregos.

Dentro desse contexto, o presente estudo teve como objetivo obter a concentração de açúcar que maximize o rendimento da fermentação e minimize a formação de subprodutos na elaboração de fermentado alcoólico a partir do suco extraído do melão (*Cucumis melo* L.).

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1. Micro-organismo**

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* utilizada nos ensaios experimentais foi isolada a partir de uma levedura comercial (FLEISCHMANN – AB BRASIL INDUSTRIAL E COMÉRCIO DE ALIMENTOS LTDA).

### **2.2. Meios de cultura**

Para fins de manutenção, propagação e obtenção do inóculo, preparou-se uma solução de YEPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose), ou seja, meio complexo constituído por  $10 \text{ g.L}^{-1}$  de Extrato de Levedura,  $20 \text{ g.L}^{-1}$  de Peptona e  $30 \text{ g.L}^{-1}$  de Glicose. O pH do meio foi ajustado para 4,5 utilizando ácido sulfúrico P.A., sendo a esterilização realizada em autoclave a  $110^\circ\text{C}$  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**

Para obtenção do suco, retirou-se sua casca e sementes e em seguida, o melão foi cortado em cubos, os quais foram triturados para a obtenção da polpa. 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.

### **2.4. Chaptalização**

Para o estudo da influência da concentração inicial de substrato, adicionou-se Glicose P.A. de forma a aumentar a concentração de açúcar presente no suco de melão. Os ensaios fermentativos foram realizados com 100, 115, 140 e 180 g.L<sup>-1</sup> de substrato inicial (glicose+frutose).

### **2.5. Fermentação alcoólica**

A fermentação alcoólica ocorreu em frascos de Erlenmeyer de 500 mL, utilizando 250 mL de suco de melão como meio de cultura e 7 g.L<sup>-1</sup> de concentração da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, conduzidas em *shaker* (Tecnal – TE 420) sob agitação de 150 rpm por um período de 10 h e 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.

### **2.6. 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 cromatógrafo líquido 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 ( $\mu_{\text{máx}}$ ),

conversão de célula em produto ( $Y_{p/x}$ ), conversão de substrato em célula ( $Y_{x/s}$ ), conversão, eficiência e produtividade.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No intuito de analisar a influência da suplementação do suco de melão com açúcar, avaliou-se o consumo de substrato, o crescimento celular e a produção de etanol para as concentrações iniciais de açúcar de 100, 115, 140 e 180 g.L<sup>-1</sup>, sendo o resultado mostrado na Figura 1.

Em análise a Figura 1, observa-se que ao utilizar o meio com 180 g.L<sup>-1</sup> de substrato inicial, verifica-se que após 10 h de fermentação nem todo o açúcar é consumido, sobrando aproximadamente 70 g.L<sup>-1</sup>. Já no ensaio fermentativo de 100 g.L<sup>-1</sup>, todo o substrato foi consumido após 8 horas de fermentação. A maior produção de etanol (68,17 g.L<sup>-1</sup>) foi alcançada quando utilizou-se o meio contendo 140 g.L<sup>-1</sup> de substrato inicial, ao passo que a menor (47,94 g.L<sup>-1</sup>) foi obtida para 100 g.L<sup>-1</sup>.

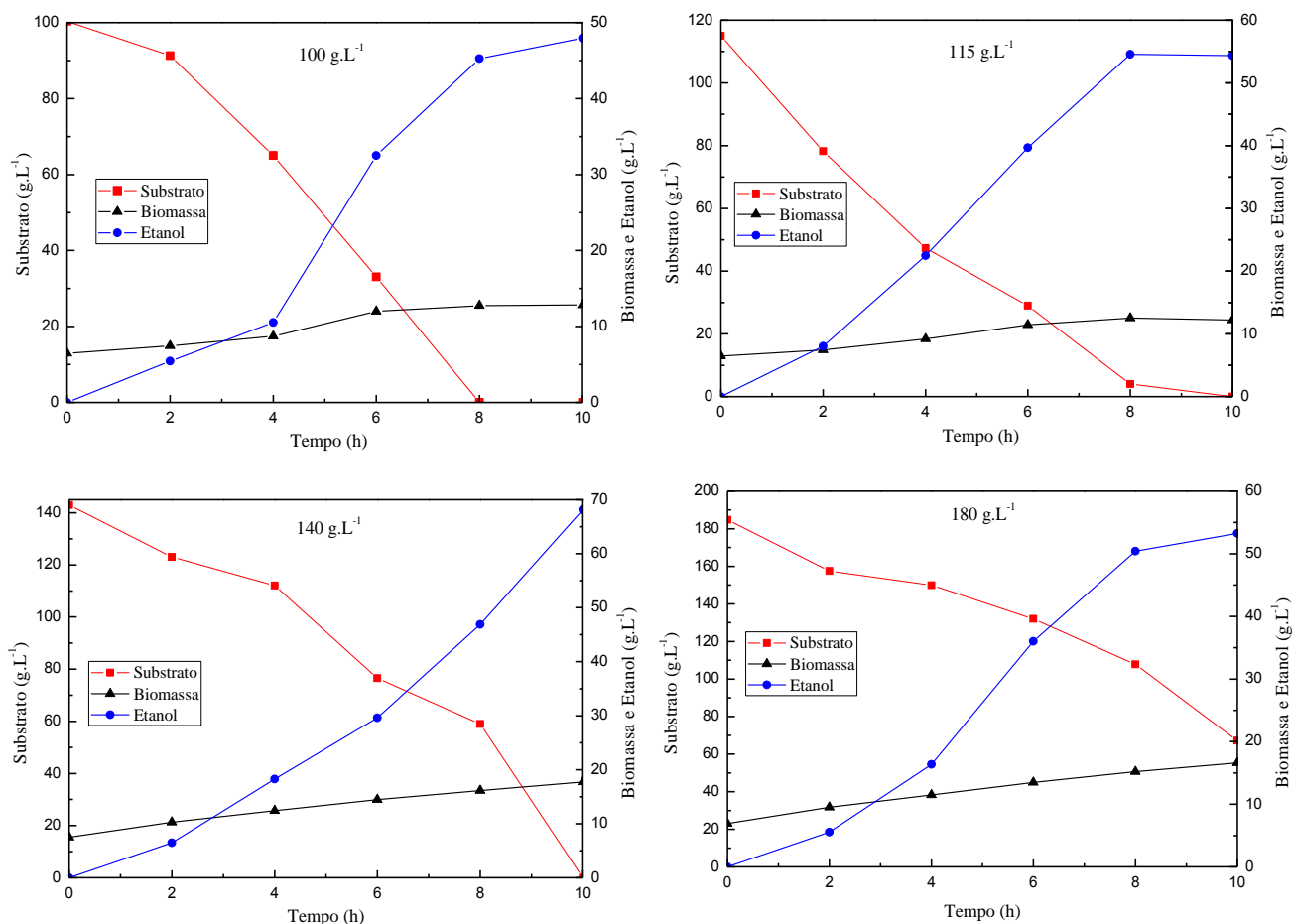


Figura 1 – Efeito da suplementação do suco de melão para a produção de etanol por *Saccharomyces cerevisiae* a 30 °C e 150 rpm.

A Tabela 1 denota os parâmetros cinéticos resultantes da fermentação alcoólica usando a levedura industrial *Saccharomyces cerevisiae* ao empregar quatro diferentes valores de concentração inicial de substrato (glicose + frutose) nos ensaios experimentais: 100, 115, 140 e 180 g.L<sup>-1</sup>. Observa-se que a máxima velocidade específica de crescimento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) apresentou um progressivo aumento com a elevação da concentração de substrato inicial (Tabela 1). Os parâmetros de conversão de substrato em célula ( $Y_{X/S}$ ) e célula em produto ( $Y_{P/X}$ ) apresentaram comportamentos distintos. Enquanto o primeiro apresenta um pequeno aumento no valor de  $Y_{X/S}$  com o aumento da concentração inicial de substrato, o  $Y_{P/X}$  apresenta valores decrescentes. Quanto ao rendimento ( $\eta$ ), o mesmo permanece praticamente inalterado (aproximadamente 93%) para a faixa de 100 a 140 g.L<sup>-1</sup>, assumindo valor inferior (88,62%) para a concentração de 180 g.L<sup>-1</sup>. Assim, pode-se supor o aparecimento de algum tipo de inibição para 180 g.L<sup>-1</sup>. Esse resultado pode ser observado também para a produtividade, a qual apresenta aumento entre 100 e 115 g.L<sup>-1</sup>, torna-se fixa entre 115 e 140 g.L<sup>-1</sup>, passando então a cair em 180 g.L<sup>-1</sup>.

Tabela 1 – Parâmetros cinéticos obtidos para a levedura *Saccharomyces cerevisiae* para diferentes concentrações iniciais de substrato na fermentação alcoólica do suco de melão

Parâmetros Cinéticos	Concentração inicial de substrato			
	100 g.L <sup>-1</sup>	115 g.L <sup>-1</sup>	140 g.L <sup>-1</sup>	180 g.L <sup>-1</sup>
$\mu_{\text{máx}}$ (h <sup>-1</sup> )	0,075	0,097	0,126	0,126
$Y_{X/S}$ (g/g)	0,064	0,050	0,072	0,082
$Y_{P/X}$ (g/g)	7,498	9,429	6,659	5,489
$Y_{P/S}$ (g/g)	0,478	0,472	0,477	0,453
$\eta$ (%)	93,490	92,446	93,302	88,620
$Q_P$ (g/L.h)	4,794	6,820	6,817	5,325

## 5. CONCLUSÃO

A concentração inicial de substrato mostrou-se bastante influente no rendimento do processo de fermentação alcoólica do suco de melão por *Saccharomyces cerevisiae*. Os melhores resultados obtidos na conversão de substrato em produto e no rendimento da fermentação, encontram-se numa faixa de concentração entre 100 e 140 g.L<sup>-1</sup>. Contudo, ao utilizar 140 g.L<sup>-1</sup>, obtêm-se uma maior concentração de etanol (aproximadamente 70 g.L<sup>-1</sup>), mantendo-se o rendimento em álcool do processo praticamente inalterado (em torno de 93%). Logo, pode-se concluir 140 g.L<sup>-1</sup> é a concentração inicial de substrato que maximiza a produção de etanol.

## 6. REFERÊNCIAS

AMORIM, H. V.; LEÃO, R. M. Fermentação alcoólica, ciência e tecnologia. Piracicaba, Fermentec, 2005, 448 p.

KOSARIC, N. J.; REED, G.; PÜHLER, A.; STADLER, P. Products Etanol – Potential source of energy and chemical products. In: Rehm, H. of primary metabolism – Botechnology. 2 ed., V ch, p.121-203, 1996.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. In: LIMA, U. A. (Coord.). Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos. São Paulo: Editora Edgard Blücher, v. 3, p. 1-43, 2001.

MACEDO, L. C. H. Álcool Etílico. São Paulo: Editora ICONI, p.157, 1993.

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.

ZINGLER, F. M.; CARLESSO, F.; RIBEIRO, G. R.; TERRA, L. M. Processo de fermentação alcoólica e caracterização do fermentado de butiá (*Butia eriopatha* Mart. Ex Drude). VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, Uberlândia – MG, 2009.