

UTILIZAÇÃO DE MELAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR HIDROLISADO E SUPLEMENTADO COMO MEIO DE CULTIVO NA PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO

Heron Oliveira dos Santos Lima¹; Mirela Vanin dos Santos Lima¹; Roselene Ferreira Oliveira¹; Mirian Soudaleff¹

¹UTFPR Campus Campo Mourão/PR heronlima@utfpr.edu.br

Área: Ciência e tecnologia de alimentos

Introdução

A produção mundial de ácido lático é da ordem de 40.000 toneladas/ano, sendo que 85% são empregados na indústria alimentícia e os 15% restantes em outras aplicações não industriais. Dentre as novas perspectivas para o ácido lático pode-se citar sua utilização na medicina de cirurgia plástica (SCULPTRA: injetável a base de ácido L-lático para auxiliar no tratamento do rejuvenescimento); e como matéria-prima para a produção de poli(ácido lático) (PLLA), polímero bioreabsorvível que pode ser empregado na produção de embalagens biodegradáveis e na confecção de dispositivos ou artigos ortopédicos para auxiliar temporariamente na reconstituição de ligamentos e ossos; em cirurgias odontológicas; como suporte para crescimento celular (scaffold); como microesferas na liberação de fármacos (PRADELLA, 2006). Neste cenário, o processo de obtenção do ácido lático por via fermentativa é um dos processos bioquímicos mais estudados e pesquisados, devido a sua ampla aplicabilidade nos setores alimentícios e de bebidas; bem como, indústrias têxtil, de couro, cosmética, química e farmacêutica. Além destas aplicações, como já citado, temos o emprego do ácido lático como matéria-prima para a obtenção de plástico biodegradável, o poli(ácido lático) (PLA), utilizado pela indústria de embalagens; e na confecção de artigos médicos biorreabsorvíveis (pino, parafusos, etc.) para aplicações nas áreas médico-odontológicas como implantes temporários. O ácido lático pode ser obtido tanto pela ação fermentativa de bactérias, fungos e leveduras quanto por síntese química. A síntese química produz uma mistura racêmica enquanto a fermentação possibilita a obtenção de um ácido opticamente ativo. Além disso, os processos fermentativos são mais vantajosos por serem mais econômicos (SILVA, 1991). De acordo com Siebold (1995) a produção de ácido lático em escala comercial ainda é feita, em sua maioria, pela fermentação descontínua. Os microrganismos mais empregados na fermentação são as bactérias lácticas que são bastante exigentes quanto às condições de crescimento. São bactérias anaeróbias aerotolerantes que crescem prontamente na superfície de um meio sólido exposto ao ar. Possuem requerimentos complexos de fatores de crescimento: vitaminas do complexo B, um considerável número de aminoácidos e bases purínicas e pirimidínicas (LIMA, 1975). As colônias das bactérias lácticas permanecem relativamente pequenas, raramente são pigmentadas, como resultado da ausência de citocromos, e apresentam alta tolerância à acidez, uma grande vantagem competitiva (LIMA, 1975). Para a produção do ácido lático, as bactérias homoláticas do gênero *Lactobacillus* e *Streptococcus*, são as mais empregadas, sendo que a espécie escolhida depende do carboidrato disponível e da temperatura a ser empregada (LIMA, 1975): *Lactobacillus delbrueckii*, *L. bulgaricus*: temperatura na faixa de 45 - 50°C; *L. casei* e *Streptococcus lactis*: temperatura ao redor de 30°C; *L. pentosis*, *L. leishmanii*: temperatura acima de 30°C. A matéria-prima principal para a obtenção do ácido lático é uma fonte de carbono renovável, geralmente um carboidrato derivado de plantios comerciais de larga escala como cana-de-açúcar, milho, batata, trigo e mandioca ou, um óleo vegetal extraído de soja, girassol, palma ou outra planta oleaginosa (PRADELLA, 2006). No Brasil, a cana-de-açúcar possui uma vantagem competitiva bastante grande em face de seu custo de produção ser inferior a de outros países, além do aproveitamento do bagaço e palha para geração de energia. Embasado no panorama apresentado, o presente trabalho teve como objetivo produzir ácido lático por via fermentativa empregando o melaço

de cana-de-açúcar previamente hidrolisado e suplementado, como meio de cultivo e bactérias lácticas. O acompanhamento do processo fermentativo foi realizado a fim de avaliar: (i) o aumento da concentração de ácido láctico produzido empregando o método do cloreto férrico por leituras espectrofotométricas a 425nm; (ii) o decréscimo de açúcares redutores utilizando o método de Somogyi e Nelson por leituras espectrofotométricas a 520nm; (iii) o aumento da biomassa; e (iv) o decréscimo do pH.

Objetivo

Obtenção de ácido láctico por via fermentativa empregando o melaço da cana-de-açúcar previamente hidrolisado e suplementado como meio de cultivo.

Metodologia

Ativação do microrganismo

A ativação do microrganismo *Lactobacillus Casei*, obtido do Instituto Adolfo Lutz, foi realizada em tubos de ensaio contendo 10 mL de leite em pó desengordurado reconstituído (10% m/v) e estéril e, posteriormente, incubada por 24 horas a 37°C, em aerobiose. Decorrido o período de incubação, 1 mL do leite inoculado foi transferido para outro tubo contendo 10 mL de leite estéril e incubado novamente nas mesmas condições descritas anteriormente. Tal procedimento foi repetido mais uma vez para completar a ativação da cultura, antes da mesma ser transferida para o meio de pré-fermentação.

Preparação do inóculo – pré-fermentação

A cultura ativada foi transferida para o meio de fermentação (melaço de cana-de-açúcar previamente hidrolisado) durante 24 horas à 37°C, e então foi utilizado na concentração de 10% (v/v) para a fermentação propriamente dita (HAULY, 2003; LIMA, 1975).

Preparo do meio de fermentação e processo fermentativo

O melaço de cana-de-açúcar doado pela empresa Ecoçucar Agroindustrial Ltda., foi diluído em água destilada para a obtenção de uma solução 10% (m/v). Em seguida o pH da solução foi ajustado para 4,7, com ácido clorídrico 1N, e procedeu-se então o tratamento para hidrólise da sacarose adicionando-se, à solução de melaço, 2% (v/v) da enzima invertase (54U/mg - Sigma), então o sistema foi incubado à 55° C por 2 horas. Após este período seguiu-se a inativação da enzima através da fervura do sistema por 5 minutos. Finalizado o processo de hidrólise a solução de melaço teve seu pH ajustado para 6,2, com hidróxido de sódio 1N, e sua temperatura abaixada para 37°C, então o meio foi suplementado com extrato de levedura (2% m/v) e peptona (2% m/v), finalmente o inóculo da pré-fermentação foi adicionado na concentração 10% (v/v) e o sistema foi mantido nestas condições sob agitação lenta por 48 horas (HAULY, 2003).

Métodos analíticos empregados para o acompanhamento da fermentação

Dosagem de ácido láctico: o aumento da concentração de ácido láctico durante o processo de fermentação foi acompanhado periodicamente retirando-se alíquotas do meio, e analisando-as de acordo com a metodologia do cloreto férrico e leituras espectrofotométricas a 425nm (SILVA, 1990).

Análise de açúcares redutores: o decréscimo na concentração de açúcares redutores durante a fermentação foi acompanhado empregando-se o método de Somogyi e Nelson por leituras espectrofotométricas a 520nm (NELSON, 1944; SOMOGYI, 1952).

Quantificação da biomassa: no início e ao término da fermentação a biomassa foi separada do caldo mediante três ciclos de lavagem com água destilada e centrifugação a 3400 rpm. A biomassa foi então seca em estufa à 60°C até peso constante, a fim de se avaliar o aumento da biomassa após a fermentação (OLIVEIRA, 2006).

Análise de pH: no início e ao término da fermentação o pH foi medido objetivando avaliar seu decréscimo após o processo fermentativo.

Resultados e Discussão

Os resultados do acompanhamento da dosagem da concentração de ácido láctico e da concentração de açúcares redutores (AR) durante o processo fermentativo podem ser observados através da Figura 1 (a) e (b), respectivamente, e um resumo dos resultados dos parâmetros analisados no início e ao término da fermentação podem ser visualizados através da Tabela 1. Analisando a Figura 1 (a) pode-se perceber um aumento coerente na concentração de ácido láctico durante a fermentação. Em complemento ao acréscimo da

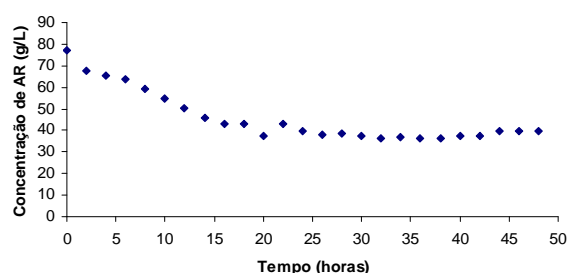
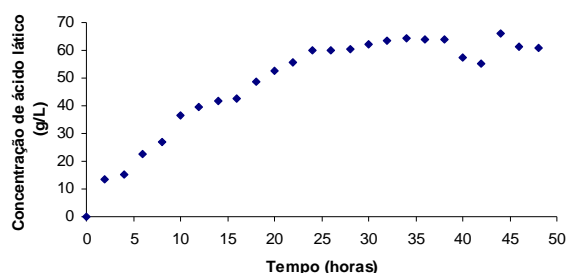
concentração de ácido láctico pode-se observar através da Figura 1 (b) um decréscimo significativo na concentração de AR, sugerindo o consumo deste pelo microrganismo e a produção de ácido láctico, como era esperado. Através da Tabela 1 verifica-se que após 48 horas de fermentação foi possível produzir ácido láctico a uma concentração de 60,74g/L, o que implicou em um decréscimo de 48,8% na concentração de AR. Observa-se ainda, o decréscimo no valor do pH concordando com o aumento da concentração de ácido no meio, bem como, um aumento significativo na biomassa, em torno de 300%. Através destes resultados chegou-se a um rendimento de produção de ácido láctico de aproximadamente 1,6g/g (concentração de ácido láctico por concentração de açúcares consumido) e uma produtividade de ácido láctico de 1,26g/L.h.

Considerações finais

Após a análise dos resultados pode-se concluir que o processo fermentativo, assim como, as metodologias analíticas empregadas no decorrer deste trabalho foram adequadas e apresentaram como resultado um decréscimo na concentração de açúcares redutores; o aumento da concentração de ácido láctico; um aumento da biomassa, bem como, um decréscimo no valor do pH. Tais resultados sugerem a viabilidade tecnológica do processo já que o rendimento do processo de fermentação obtido se apresentou muito próximo das literaturas consultadas (HAULY, 2003; SIEBOLD, 1995).

Referências Bibliográficas

- HAULY, M. C. O.; OLIVEIRA, A. R.; OLIVEIRA, A. S. **Produção de ácido láctico por *Lactobacillus curvatus* em melão de cana-de-açúcar**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 24, n. 1, p. 133-142, jan./jun. 2003.
- LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia: Tecnologia das Fermentações**. v.1 Editora Edgard Blucher Ltda., São Paulo, 286p, 1975.
- NELSON, N. **A photometric adaptation of the Somogy method for determination of glucose**. Biochemistry, v. 84, p. 375-380, 1944.
- OLIVEIRA, M.C.R. **Avaliação do processo de fermentação alcoólica de suco de maçã obtido por liquefação enzimática**. 2006. Dissertação (mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa-UEPG. Ponta Grossa Pr, 2006.
- PRADELLA, J. G. C. **Biopolímeros e Intermediários Químicos**. Relatório Técnico nº 84 396-205. Centro de Tecnologia de Processos e Produtos. Laboratório de Biotecnologia Industrial-LBI/CTPP São Paulo, 119p., 2006.
- SIEBOLD, M. et al. **Comparison of the production of lactic acid by three different *Lactobacilli* and its recovery by extraction and electro dialysis**. Process Biochemistry, Rickmansworth, v.30, n.1, p. 81-95, 1995.
- SILVA, D. J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**, 2ª edição Viçosa, UFV, Impr. Univ. 1990.
- SILVA, S. S.; MANCILHA, I. M. Aproveitamento de resíduos agroindustriais: ácido láctico uma alternativa. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.1, p.37-40, 1991.
- SOMOGY, M.A. **A new reagent for determination of sugar**, Journal Biology Chemistry, Cambridge, v. 160, p.61-68, 1952.



(a)

(b)

FIGURA 1 - Resultados de: (a) Dosagem da concentração de ácido láctico; e (b) Concentração de AR, durante o processo fermentativo.

TABELA 1 - Resultados dos parâmetros analisados no início e final da fermentação.

Parâmetros analisados	Início da fermentação	Final da fermentação
pH	6,2	3,7
Açúcares Redutores	77,40 g/L	39,62 g/L
Ácido láctico	0,00 g/L	60,74 g/L
Biomassa	0,2273 g/mL	0,6605 g/mL