

Valorização biotecnológica de soro de leite por fermentação utilizando *Saccharomyces cerevisiae*

Whey bio-valorization by fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*

Rodrigo Santos Andrade¹

Universidade Estadual de Santa Cruz
andrade.unv@gmail.com

José Adolfo de Almeida Neto¹

Universidade Estadual de Santa Cruz
jalmeida@uesc.br

Rita de Cassia Souza de Queiroz Lopes¹

Universidade Estadual de Santa Cruz
rcritinha30@gmail.com

Resumo. O soro de leite é o subproduto dos laticínios e pode ser visto como coproduto, devido ao seu grande valor agregado em matéria orgânica, que, se não tratada adequadamente, pode causar severos impactos ambientais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de etanol, a partir da fermentação do soro de leite, em laticínios de pequeno porte. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi utilizada para promover a fermentação alcoólica do soro. Foram realizadas as análises físico-químicas do soro in natura e após a retirada da proteína (desproteinação do soro) pelo método de acidez térmica. As análises realizadas foram: acidez em ácido láctico, cinzas, lactose, proteínas, gordura e extrato seco total. Os resultados preliminares caracterizaram o soro obtido como do tipo ácido, apresentando acidez de 0,12% em ácido láctico, além disso, foi constatado relevante conteúdo orgânico, com 5,66% de extrato seco total, 4,1% de lactose e 1,2% de proteínas. A fermentação foi conduzida em biorreatores laboratoriais, em triplicata por 24h, considerando as entradas de substrato, concentração de sacarose e concentração de inóculo. As variáveis monitoradas foram a produção de etanol, a temperatura e o pH do meio. O experimento foi conduzido com a adição de 100 g.L⁻¹ de sacarose e 6,0 g.L⁻¹ de levedura. A produção média de etanol encontra-

Abstract. Whey is a dairy by-product and can be view as a co-product due to its high valuable organic content, which can cause environmental harassment if it is not treated adequately. The aim of this study was to evaluate the ethanol production by fermentation of cheese whey in small companies. The yeasts *Saccharomyces cerevisiae* were used to provide the alcoholic fermentation. The analyses of acidic on acid lactic, ashes, lactose, protein, fat and total dry extract were determined. The preliminary results characterized whey as an acid type showing 0.12% on acid lactic, moreover, relevant organic content was observed with 5.66% of total dry extract, 4.1% lactose content and 1.2% of protein. The fermentation was performed in laboratorial bioreactors on triplicate for 24h and the parameters monitored were the ethanol production, temperature and pH in the media considering substrate, sucrose and inoculums incoming. The experiment was conducted with the addition of 100g.L⁻¹ of sucrose and 6.0g.L⁻¹ of inoculums. The medium ethanol production found was 5.3% (v/v)± 0.1, with pH showing stability during the process with low variations. The utilization of *Saccharomyces cerevisiae* for alcoholic fermentation has shown a satisfactory ethanol produc-

¹ Universidade Estadual de Santa Cruz. Campus Soane Nazaré de Andrade. Rod. Jorge Amado, km 16, Salobrinho, 45662-900, Ilhéus, BA, Brasil.

da foi de 5,3% (v/v) $\pm 0,1$, tendo o pH apresentado condições ideais e uma baixa variação durante o processo fermentativo. A utilização da *Saccharomyces cerevisiae* mostrou-se satisfatória para a produção de etanol, apresentando uma boa opção para seu uso como forma de valorização do soro.

Palavras-chave: soro de leite, etanol, biorreatores.

tion, showing also as a good alternative for whey valorization.

Keywords: whey, ethanol, bioreactors.

Introdução

O soro de leite, também chamado de “lactossoro”, é o subproduto da produção de queijo e agrega em torno de 50 a 60% do valor nutricional do leite, significando que o soro não é apenas um alimento de alta qualidade nutricional, mas que também pode ser aproveitado como substrato para aplicações industriais, tais como indústrias farmacêuticas e de alimentos (Guimarães *et al.*, 2010).

A produção e o consumo de queijo são comuns em muitas regiões do Brasil – na região Nordeste, destacam-se os estados de Pernambuco, Rio Grande do Norte e Ceará (Cavalcante *et al.*, 2007). A produção de queijo no Brasil, segundo presidente da Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ), alcançou cerca de 1,1 milhões de toneladas, causando um efeito de produção de 110 mil metros cúbicos de soro em 2013 (Scarcelli, 2015), sendo uma parte considerável gerada nas indústrias de pequeno e médio porte.

Sendo o soro de leite um resíduo de fim de tubo (*End of Pipe*) e com elevada carga orgânica, seus danos ambientais são altos quando descartado no ambiente, desde a destruição da fauna e flora quanto à poluição de corpos hídricos. Se descartado no ambiente, o soro exige valores altos para degradabilidade, sua demanda bioquímica de oxigênio (DBO) é de 30.000 a 40.000 mg de oxigênio por litro de soro – este valor é equivalente a 100 vezes o valor apresentado pelo esgoto doméstico.

Com o apoio de novas diretrizes da agroenergia no país, instituídas entre 2006 e 2011, a busca por novas soluções agroindústrias se desenvolveu promovendo pesquisas com grandes resultados em torno da produção limpa e contribuindo para o aprimoramento na área de Bioenergia (Brasil, 2006). Geralmente, indústrias de grande porte utilizam o soro de leite na produção de suplementos, bebidas lácteas e aprimoramento dos seus próprios produtos, mas as quantidades produzidas no âmbito dessas empresas representam apenas uma

fatia de 15% dentre os produtores do efluente, sendo a maior parte gerada pelas empresas de médio e pequeno porte (Toni *et al.*, 2012).

A reutilização do soro pode ser possível por vários métodos, desde a utilização por meio de equipamentos até processos simples, como a fermentação alcoólica. A fermentação aparece como ferramenta biotecnológica para gerar coprodutos e é comumente aplicada em sistemas anaeróbicos. De forma geral, os sistemas empregados nos processos fermentativos são predominantemente reatores, porém, não se torna uma opção para pequenos produtores, já que são onerosos e de difícil manutenção. Nesse processo, a fermentação é promovida por microrganismos que consomem o substrato (soro de leite) sem a presença de oxigênio, para a obtenção de coprodutos e a formação de gás. A utilização de microrganismos para fermentação alcoólica do tipo levedura (*Saccharomyces cerevisiae*, *Kluveromyces marxianus*, *etc.*) são mais utilizadas, consumindo o substrato em condições anaeróbicas para se obter álcool e gás (Florentino, 2006). Essa é uma importante técnica para a reutilização do soro, obtendo biocombustíveis (etanol, butanol, *etc.*) (Guimarães *et al.*, 2010; Ariyanti *et al.*, 2014) e biogás (gás natural, H₂, *etc.*) (Kargi e Uzunçar, 2012).

Devido à elevada quantidade de soro produzido e descartado pelos laticínios, principalmente de pequeno porte, esse efluente torna-se ideal na produção de etanol partindo da fermentação alcoólica, considerando a sua carga nutricional. Na literatura, diversas leveduras são estudadas, buscando a melhor eficiência durante o processo. São exemplos dessas leveduras: *Kluveromyces fragilis* (Dragone *et al.*, 2011), *Kluveromyces lactis* (Coutinho *et al.*, 2009), *Kluveromyces marxianus* (Coutinho *et al.*, 2009; Guimarães *et al.*, 2010; Koushki *et al.*, 2012), *Saccharomyces cerevisiae* (Guimarães *et al.*, 2010), *Saccharomyces fragilis* (Coutinho, 2009), *Candida pseudotropicalis* (Guimarães *et al.*, 2010), *Candida kefir* (Guimarães *et al.*, 2010; Koushki *et al.*, 2012).

A lactose presente no soro pode ser utilizada como substrato para leveduras durante a fermentação alcoólica. A levedura *Kluyveromyces marxianus* tem a característica de utilizar diretamente a lactose como fonte de carbono para esse tipo de fermentação (Gabardo *et al.*, 2012; Dragone *et al.*, 2011; Sansonetti *et al.*, 2010). A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é uma levedura com níveis de eficiência altos para a fermentação alcoólica (Turhan *et al.*, 2010; Domingues *et al.*, 1999), mas, para utilizar a lactose como fonte de carbono para fermentação, essa levedura necessita que sejam incorporados ao processo a beta-galactosidase (enzima responsável pela hidrólise da lactose) e o sistema lactasepermease, pois essa levedura não os possui. A adoção de técnicas de DNA recombinantes poderia contornar o problema, entretanto, o alto custo e a necessidade de colaboradores especializados inviabilizaria o processo para os pequenos produtores de queijo.

Experimentos vêm sendo desenvolvidos utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* para realizar a fermentação alcoólica, de forma direta, a partir do soro de leite, como meio nutritivo e adicionando sacarose como fonte de carbono. A utilização do soro de leite como meio nutritivo substitui a adição de suplementos necessários para as leveduras realizarem a fermentação. Florêncio *et al.* (2013) alcançaram um percentual de conversão em etanol de 76,14% com a adição de 100 g.L⁻¹ de sacarose, permitindo uma alternativa biotecnológica de baixo custo e facilidade de aquisição da levedura, praticidade operacional, de modo que possibilite o manuseio e a replicação sem a necessidade de corpo técnico especializado em microbiologia e biotecnologia.

A utilização de técnicas com aplicabilidade real e funcional pode ser uma opção viável técnica e economicamente para pequenos produtores, considerando o volume de soro de leite produzido e subutilizado.

A eficiência à produção de etanol está ligada, principalmente, à concentração de açúcar inicial. O uso de tecnologias que permitem a utilização de soro com maior concentração de lactose lidera as pesquisas, mostrando um aumento significativo de 70 a 100% na produção de etanol. Para isso, o soro necessita de tratamentos precedentes, como processos de filtração, com a obtenção de substratos que vão desde o soro permeado, soro em pó, soro ultrafiltrado até o soro desproteinado. Diante dos custos para processos de concentração de lactose no soro, Florentino (2006) estudou a

desproteínação do soro mediante o processo de acidificação térmica, que consiste em um método simples de precipitação das proteínas do soro pela adição de ácido orgânico ao meio e na elevação da temperatura, resultando em uma remoção de até 90% das proteínas totais.

Além da concentração de lactose no meio, parâmetros como pH e temperatura são importantes ao considerar o meio de cultura, por poderem causar problemas durante o processo fermentativo. Florêncio *et al.* (2013); Domingues *et al.* (1999); Kargi e Ozmihi (2006) pesquisaram diferentes condições de fermentação e observaram que os processos tiveram melhor eficiência nas condições de temperatura em torno de 30°C e pH entre 4 e 5.

O etanol proveniente do soro do leite pode ser aproveitado como matéria-prima e solventes nas indústrias cosméticas, de alimentos e bebidas e farmacêuticas e como combustível (Guimarães *et al.*, 2010), inclusive o próprio estabelecimento produtor de queijo pode absorvê-lo e ou comercializá-lo, reduzindo a aquisição de combustíveis.

O efluente originado da fermentação alcoólica também deve ser aproveitado, no intuito de reduzir a carga orgânica restante. Chatzipaschali e Stamatis (2012) destacam os processos de concentração por evaporação ou osmose reversa, cristalização e secagem da lactose, isolando esse componente ainda presente no efluente, que pode ser absorvido pela indústria alimentícia. O processo de biotransformação também foi indicado pelos autores como uma alternativa de utilização desse efluente. A biotransformação envolve a degradação e a estabilização da matéria orgânica, produzindo metano (Chen *et al.*, 2007; Beszédes *et al.*, 2010), e vem sendo estudada como uma alternativa de baixo custo e que evita os problemas ambientais da disposição inadequada do soro de leite no ambiente.

O objetivo central desta pesquisa foi avaliar a produção de etanol a partir da fermentação do soro de leite em laticínios de pequeno porte.

Metodologia

Caracterização físico-química dos componentes do soro do leite

O soro de leite utilizado foi proveniente da produção de queijo “tipo Coalho” de um Laticínio localizado na cidade de Itabuna na Bahia. Quinze litros de soro foram coletados, coloca-

dos em recipientes plásticos e transportados em recipiente térmico para o Laboratório de Bioenergia e Meio Ambiente (BIOMA), onde foram acondicionados sob refrigeração até a realização das análises de caracterização.

A caracterização foi efetuada por meio das seguintes análises: acidez em ácido láctico, pH, sais minerais (cinzas), gordura, densidade, lactose e extrato seco total (E.S.T.) (Brasil, 2006; Instituto Adolfo Lutz, 2008). Essas análises estão descritas a seguir:

Acidez em ácido láctico

As análises de acidez em ácido láctico foram realizadas em triplicatas com alíquotas de 5mL, e foi utilizado o método de acidez titulável, com o auxílio da balança analítica Quimis BG400 para realizar a respectiva padronização do hidróxido de sódio, 0,1 mol/L para acidez em ácido láctico, segundo o Manual de Reagentes e Solventes (Morita e Assumpção, 1972).

pH

A análise de pH foi realizada em duplicata com alíquotas de 20 mL do soro no potenciômetro digital microprocessado PG 1800 v. 6.11 de forma direta.

Proteínas

Para determinar as proteínas do soro de leite, a análise de Kjeldahl foi realizada em triplicata. O método consiste na titulação amônia após a digestão da amostra com Ácido Sulfúrico (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Extrato seco e cinzas

Foram realizadas análises em triplicatas e octuplicata para cinzas e extrato seco, respectivamente. Na análise de extrato seco, foram utilizadas oito alíquotas de 40 mL de soro em cápsulas de porcelanas para aquecer em um microondas Brastemp Kingsize Inox em intervalos de 30 minutos e potência de 20 e 40 Watts até atingir resultados constantes para os posteriores cálculos, segundo o Método de Matéria Seca por Microondas (Petersen *et al.*, 2011). Para a análise de cinzas, foram pesadas cápsulas de porcelana e preenchidas com alíquotas de 40 mL cada, postas em mufla DIG-MEC-FHM Pa 150°C durante 4 horas, para depois serem realizados os devidos cálculos, segundo

método de análises físico-químicas para leite (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Gordura

A determinação de gordura no soro foi realizada em triplicatas mediante o método Monjonier ou extração descontínua. O método consiste na utilização de éter etílico para extração da gordura do material, o qual é aquecido em uma rota vapor de marca FISATOM para evaporação, e depois foi feita a determinação da massa de gordura depositada na vidraria, após a separação do éter e a gordura (Lanara, 1981).

Lactose

A determinação de lactose foi verificada pelo método volumétrico com Licor de Fehling e utilizou-se triplicata. O método baseia-se na titulação da mistura de 1:1 das soluções de Fehling A (sulfato de cobre) e Fehling B (Tartarato duplo de sódio e potássio/ hidróxido de sódio) com o açúcar no substrato, o que forma um precipitado de óxido de cobre (Brasil, 2006).

Produção de etanol a partir do soro de leite

Retirada das proteínas do soro

O soro foi desproteinado utilizando o método de acidez térmica, que consiste na diminuição do pH do soro para 4,6, através de um ácido orgânico e depois é aquecido a 90°C (Florentino, 2006). O ácido utilizado foi o cítrico e, após obtenção do material floculado, o soro foi mantido em repouso até atingir temperatura ambiente, e o aglomerado proteico foi retirado por meio de filtração. Em seguida, o soro passou pelas mesmas análises iniciais de caracterização, que foram: gordura, lactose, acidez, extrato seco total, cinzas e pH (Brasil, 1981; Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Preparação do inóculo

O microrganismo utilizado foi a *Saccharomyces cerevisiae* (fermento comercial) da marca Fleischman®, com 70% de umidade, obtido em supermercados da cidade de Itabuna, BA. Através da revisão de literatura, concluiu-se que essa levedura é eficiente para a produção de etanol, e sua praticidade representa gran-

des chances de implantação desse sistema em laticínios de médio e pequeno porte.

Uma vez que o soro não dispõe de quantidades suficientes de açúcares e que há a impossibilidade dessa levedura em degradar a lactose, foi adicionada a etapa de chaptalização, que se baseia na adição de sacarose ao mosto, para aumentar a quantidade total de açúcar e assim elevar o potencial total de álcool, possibilitando o fornecimento de energia extra para a atividade bioquímica da levedura, uma vez que a mesma utiliza a sacarose como fonte de energia. Nesse sentido, o soro serviu de substrato nutritivo para a levedura, por ser uma fonte rica em nitrogênio e carbono (Brasil, 1997). Sendo a *Saccharomyces cerevisiae* uma levedura que utiliza o açúcar de forma direta, convertendo-o em etanol, é perfeitamente justificável sua utilização, até porque seria um sistema de boa eficiência e prático no seu desenvolvimento e manutenção.

Na preparação do inóculo, utilizou-se 100 mL de soro de leite desproteinado (com concentração de 100 g/L de sacarose) para hidratar a levedura em Erlenmayer durante 30 minutos.

Biorreatores

Os biorreatores foram produzidos com materiais recicláveis, garrafas de água com capacidade de 5 L e duas vias de acesso, uma para a retirada de amostras e a outra para a saída de gás dióxido de carbono durante o processo, como pode ser observado na Figura 1. Realizaram-se 3 bateladas do experimento, com as mesmas condições operacionais, buscando-se observar a reprodutibilidade dos dados experimentais.



Figura 1. Biorreatores de plásticos para a fermentação.

Figure 1. Plastic bioreactors for fermentation.

Cultivo da levedura e alimentação dos biorreatores

O cultivo foi conduzido em triplicata, à temperatura de 30°C, durante 24 horas. Em intervalos de 4 horas, foram retiradas amostras para o acompanhamento da produção de etanol, concentração de açúcares e pH.

O reator com capacidade de 5 litros foi inicialmente alimentado com 2,5 litros de soro desproteinado e adicionado às composições definidas, de acordo Barbosa *et al.* (2010), que realizou experimento semelhante e destacou composições ideais de adição ao sistema para produção de etanol. Essa composição foi: com a adição de 10g/L de inóculo com a adição de 100g/L de sacarose e 5g/L de inóculo com a mesma concentração de sacarose. Neste trabalho, foi utilizada a concentração de 6g/L de inóculo e 100g/L de sacarose.

Variáveis avaliadas para produção de etanol

Teor de álcool: O teor de álcool foi avaliado após a realização da destilação do álcool no fermentado. O teor de álcool foi avaliado com um densímetro especial para álcool (alcoômetro), que foi utilizado para relacionar a densidade inicial e final do mosto após a etapa da fermentação pela Equação 1. A concentração de álcool é apresentada como estimativa em porcentagem volume/volume da solução (Papazian, 2003).

$$ABV = (DO-DF) * 131 \quad \text{Eq. (1)}$$

onde, ABV é o percentual de álcool gerado, DO a densidade inicial do mosto, DF a densidade final do mosto e 131 a constante de linearidade (obtida a partir dos valores estequiométricos de conversão e densidade teórica do etanol). O pH foi determinado em potenciômetro digital microprocessado PG 1800 v. 6.11 de forma direta.

Resultados e discussão

Caracterização físico-química dos componentes do soro do leite

Os resultados para a caracterização físico-química do soro de leite são apresentados na Tabela 1. E os resultados para acidez em ácido láctico e pH estão de acordo com Bosi *et al.* (2013) e Prazeres *et al.* (2012), que preveem uma acidez e um pH entre 0,103 ~ 0,180% e 3,5 ~ 6,5, respectivamente.

Tabela 1. Análises Físico-químicas do soro de leite.
Table 1. Whey physical-chemistry analyses.

Análises	Médias	Desvio Padrão
Ácido em ácido Lático	0,12% (v/v)	0,006
Água	94,34%	0,33
Cinzas	0,34% (m/m)	0,33
Extrato seco	5,66% (m/m)	0,14
Gordura	0,5% (m/m)	0,07
Lactose	4,1%	0,05
pH	4,27	0,02
Proteínas	1,20%	0,09

A quantidade de lactose presente no soro mostrou-se de acordo com a descrita por Florêncio *et al.* (2008) e Prazeres *et al.* (2012), que encontraram uma taxa entre 4-5% de lactose. Os valores de proteínas foram semelhantes aos resultados obtidos por Bach *et al.* (2014), que indicou uma quantidade de 0,83% de proteínas ao analisar o soro de leite. A composição do soro de leite varia entre o tipo de queijo e o processo utilizado, assim como o teor de gordura, que varia entre 0,4 ~ 0,5% (Almeida *et al.*, 2013). Segundo Prazeres *et al.* (2012), a quantidade de água presente no soro varia entre 93 ~ 94%, estando coerente com o resultado encontrado. As análises de extrato seco e cinzas também foram coesas com a literatura – Mizubuti (1994) apresentou valores em torno de 5% e 0,5 ~ 0,7%, respectivamente.

Produção de etanol a partir do soro de leite

O soro de leite, depois de caracterizado, passou pelo procedimento de acidez térmica, ficando com a aparência conforme indicado na Figura 2. O conteúdo filtrado, rico em proteínas e gorduras, pode ser comercializado pelo laticínio, para fins alimentícios para padarias, por exemplo. Esse aglomerado protéico pode servir de suplementação no preparo de pães, bolos, biscoitos e molhos diversos.

Após a filtração do soro de leite para retirada das proteínas precipitadas, o soro foi novamente caracterizado, e sua composição ficou como apresentada na Tabela 2.

Analisando o processo de desproteínação do soro, verificou-se a redução de cerca de 70%



Figura 2. Característica do soro após a acidificação térmica.

Figure 2. Whey characteristic after thermal acidification.

Tabela 2. Média dos componentes do soro de leite desproteinado.

Table 2. Medium components of desproteinated whey.

Análises	Média	Desvio Padrão
Extrato seco	4,23%	0,13
Gordura	Traços	-
Lactose	3,5%	0,16
pH	4,4	0,02
Proteínas	0,35	0,11

das proteínas. Em relação ao pH (4,4), houve pequena variação, porém, ainda encontrando-se na fase ótima de fermentação alcoólica, que é entre 4 e 4,5.

Segundo Florêncio *et al.* (2007), Florentino (2006) e Domingues *et al.* (1999), a quantidade final de gordura do soro desproteinado é irrisória, evidenciando a remoção do conteúdo gorduroso do soro, além do conteúdo proteico no processo de acidez térmica. Os teores de gordura, nesta pesquisa, também apresentaram valores muito baixos. Além disso, esse resultado é satisfatório, uma vez que a gordura não participa da fermentação alcoólica e é um dos componentes responsáveis pela poluição dos laticínios.

A redução na quantidade de lactose no soro desproteinado (3,5%) pode ser explicada pela aglomeração de pequenas quantidades do açúcar durante a precipitação das proteínas no processo de acidez térmica. Florentino (2006), utilizando a mesma técnica e nas mesmas condições analíticas, encontraram uma redução de aproximadamente 15% de lactose.

Durante o processo de fermentação, foram analisados 2 parâmetros condicionantes à cinética da fermentação, sendo eles o pH e a temperatura. A Figura 3 apresenta a variação do pH durante o processo de fermentação.

Para os valores de pH, houve uma pequena variação, que também foi observada em outros

trabalhos envolvendo a *Saccharomyces cerevisiae* (Florentino, 2006; Florêncio *et al.*, 2007).

Após a fermentação, o soro foi filtrado, destilado e depois avaliado o seu teor alcoólico. Os valores estão apresentados na Tabela 3.

No final das fermentações, foi obtida uma média de concentração de etanol de 5,3 % (v/v) \pm 0,1 para a concentração de 6g/L de inóculo e 100g/L de sacarose, valor próximo ao obtido por Florentino (2006), que obtiveram um valor de 7% (v/v) em condições semelhantes. Barbosa *et al.* (2010) realizaram a mesma fermentação para a obtenção de aguardente e obtiveram, com diferentes concentrações de inóculo (10g/L, 5g/L) e 100g/L de sacarose, uma concentração de álcool de 7,33% (v/v) para ambos os ensaios. Além disso, o processo fermentativo cessou após 32 horas de fermentação, enquanto que, neste trabalho, o período de fermentação utilizado foi de apenas 24h para efeito de análise da quantidade de etanol obtida em menor tempo sob condições similares. Dessa maneira, o valor obtido no presente trabalho é coerente, quando comparados a quantidade fermentada e o tempo testado para a fermentação.

Quanto ao rendimento da transformação em etanol, Florentino (2006) obtiveram, ao trabalhar com um inóculo de 100g/L e 100g/L de sacarose, um percentual de conversão de 14,0%. Por outro lado, os resultados apresentados por Florêncio *et al.* (2013) obtiveram, com

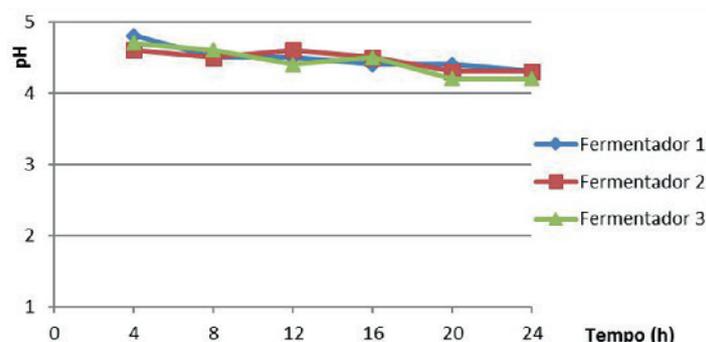


Figura 3. Variação de pH durante a fermentação alcoólica.

Figure 3. pH variation during fermentation.

Tabela 3. Concentração final de etanol.

Table 3. Final Ethanol concentration.

Ensaio	Concentração etanol final % (v/v) \pm 0,005
Fermentador 1	5,4
Fermentador 2	5,2
Fermentador 3	5,3

inóculo de concentração 6g/L e 100g/L de sacarose, um percentual mais eficiente (76,1%). Dessa forma, os resultados indicam produção semelhante de etanol a partir do soro de leite, apresentando viabilidade técnica na biotransformação do soro.

A adição de sacarose é necessária, haja vista que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* não utiliza a lactose presente no meio, mas utiliza açúcares fermentescíveis (glicose e frutose), que são produtos da hidrólise da sacarose no processo de fermentação alcoólica (Gabardo *et al.*, 2011). Nesse caso, o soro foi usado como fonte de nutrientes (sais, nitrogenados, etc.) para o crescimento da levedura durante a fermentação e base para produção do coproduto (etanol), diminuindo seu impacto ambiental.

Conclusões

O soro de leite foi classificado como ácido, de acordo com o valor médio para o pH (4,2) encontrado nas análises realizadas, sendo adequado para o reaproveitamento em diversos processos biológicos e químicos. O soro estudado é rico em nutrientes, contendo elevadas quantidades de proteínas, açúcares e sais, caracterizando uma matéria-prima com potencial para a produção de etanol.

Quanto à desproteínação do soro de leite pelo método ácido térmico, a utilização do método mostrou-se satisfatória, removendo 70,8% das proteínas do soro de leite, indicando que o método utilizado foi eficiente na redução do teor de proteínas.

Quanto à fermentação alcoólica, a taxa de conversão e o resultado da produção de etanol foram significativos, pois, em menor quantidade e tempo de fermentação, o teor de álcool (5,3°GL) atingiu os níveis encontrados na literatura. Porém, foi constatado que o tempo utilizado de 24 horas para o processo fermentativo foi insuficiente, devendo ser estendido por um maior período.

A levedura apresentou custo benefício favorável à produção de etanol utilizando o soro de leite adicionado de sacarose. A *Saccharomyces cerevisiae* é uma levedura de fácil acesso, baixo custo, simplicidade no manuseio e elevada eficiência na fermentação alcoólica, tornando o processo fermentativo adequado para aplicação em pequenas unidades produtoras de queijo, mesmo considerando a necessidade de adição de sacarose ao processo. Dessa forma, devem-se considerar esses resultados preliminares na proposição de ex-

perimentos com variações nos parâmetros do processo e em escala industrial, bem como estudos de viabilidade técnico-econômica.

Agradecimentos

À FAPESB, pela concessão da bolsa, ao PROIC – Programa de Iniciação Científica, pelo suporte, e ao BIOMA – Grupo de Pesquisa em Bioenergia e Meio Ambiente, pela disponibilidade do laboratório.

Referências

- ALMEIDA, C.C.; CARLOS A.C.J.; OLIVEIRA A.C. 2013. Proteína do soro do leite: composição e suas propriedades funcionais. *Centro Científico Conhecer – Goiânia*, 9(16):1840-1854.
- ARIYANTI, D.; AINI, A.P.; PINUNDI, D.S. 2014. Optimization of Ethanol Production from Whey Through Fed-batch Fermentation Using *Kluyveromyces Marxianus*. *Energy Procedia*, 47:108-112.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.egypro.2014.01.203>
- BACH, F.; MOREJON, C.F.M.; FIORESE, M.L.; HASAN, S.D.M. 2014. Estudo da influência de variáveis no processo de produção de bioetanol de soro de leite. *Engvista*, 16(3):392-409.
- BARBOSA, A.S.; FLORENTINO E.R.; FLORENTINO I.M.; ARAÚJO A. dos S. 2010. Utilização do soro como substrato para a produção de aguardente: Estudo cinético da produção de etanol. *Revista Verde*, 5:1981-8203.
- BESZÉDES, S.; LÁSZLÓ, Z.; SZABÓ, G.; HODÚR, C. 2010. The Possibilities of Bioenergy Production from Whey. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 4(1):62-68.
- BOSI, M.G.; BERNABÉ, B.M.; LUCIA, S.M.D.; ROBERTO, C.D. 2013. Drink with the addition of why and prebiotic dietary fiber. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 48(3):339-341.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2013000300013>
- BRASIL. 2006. *Embrapa Informação Tecnológica*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Plano Nacional de Agroenergia. 2ª ed., Brasília, 110 p.
- BRASIL. 1997. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n.2.314 de 04 de setembro de 1997. Brasília, Congresso Nacional, 1 p.
- BRASIL. 1981. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e ingredientes: Métodos físico-químicos*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa da Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA. Portaria n. 1. 7/10.
- CAVALCANTE, J.F.M.; ANDRADE, N.J. de; FURTADO, C.L. de L.F.; FERREIRA, C.L. de O.; PINTO, E.E. 2007. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(1):205-214.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000100036>

- CHATZIPASCHALI, A.A.; STAMATIS, A.G. 2012. Biotechnological Utilization with a Focus on Anaerobic Treatment of Cheese Whey: Current Status and Prospects. *Energies*, **5**(9):3492-3525. <http://dx.doi.org/10.3390/en5093492>
- CHEN, Y.; CHENG, J.J.; CREAMER, K.S. 2007. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, **99**(10):4044-4064. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>
- COUTINHO, M.R.V.; SILVA, J.R. da; CUNHA, M.E.T. da; OLIVEIRA, A.N. de; LUVISOTTO, E.; SUGUIMOTO, H.H. 2009. Produção de etanol em soro de queijo por *Saccharomyces fragilis*, *Kluyveromyces lactis* e *Kluyveromyces marxianus*. In: Encontro Anual de Iniciação Científica (EAIC), XVIII, Cidade, 2009. Disponível em: <http://www.eaic.uel.br/artigos/CD/4506.pdf>. Acesso em: 06/06/2016.
- DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J.A.; LIMA, N. 1999. Construction of a flocculent *Saccharomyces cerevisiae* fermenting lactose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **51**(5):621-626. <http://dx.doi.org/10.1007/s002530051441>
- DRAGONE, G.; MUSSATTO, S.I.; SILVA, J.B.A., TEIXEIRA, J.A. 2011. Optimal fermentation conditions for maximizing the ethanol production by *Kluyveromyces fragilis* from cheese whey powder. *Biomass and Bioenergy*, **35**(5):1977-1982. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.01.045>
- FLORENCIO, I.M.; FLORENTINO, E.R.; SILVA, F.L.H. 2013. Produção de etanol a partir de lactossoro industrial. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola*, **17**(10):1088-1092. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662013001000010>
- FLORENCIO, I.M.; RIBEIRO FILHO, N.M.; ROCHA, A.S.; SILVA, F.L.H. da; FLORENTINO, E.R. 2008. Produção de arguadente a partir do caldo do sorgo sacarino [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 17, Recife, 2008. *Anais... Recife, Mar Hotel* [CD-ROM].
- FLORENCIO, I.M.; ALVES, R.M.; RIBEIRO FOLHO, N.M.; ARAUJO, M.S.; SILVA, R.A.S.; ARAUJO, A. dos S.; FLORENTINO, E.R. 2007. Caracterização do soro de queijo "Tipo Coalho" proveniente de queijarias artesanais da zona rural da cidade de Montadas - PB. In: Congresso Norte-Nordeste de Química, I, Natal, 2007. *Anais... Natal*.
- FLORENTINO, E.R. 2006. *Aproveitamento do soro de queijo de coagulação enzimática*. Natal, RN. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 150 p.
- GABARDO, S.; RECH, R.; AYUB, A.Z. 2012. Performance of different immobilized-cell systems to efficiently produce ethanol from whey: fluidized batch, packed-bed and fluidized continuous bioreactors. *Journal Chemist Technology Biotechnology*, **87**(8):1194-1201. <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.3749>
- GABARDO, S.; RECH, R.; AYUB, M.A.Z. 2011. Determination of lactose and ethanol diffusion coefficients in calcium alginate gel spheres: Predicting values to be used in immobilized bioreactors. *Journal of Chemical and Engineering Data*, **56**(5):2305-2309. <http://dx.doi.org/10.1021/je101288g>
- GUIMARÃES, P.M.R.; TEIXEIRA, J.A.; DOMINGUES, L. 2010. Fermentation of lactose to bioethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorization of cheese whey. *Biotechnology Advances*, **28**(3):375-388. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.02.002>
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. 2008. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. In: O. ZENEBON; N.S. PASCUET; P. TIGELA, *Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos*. 4ª ed., São Paulo, vol. 1, p. 104-850.
- KARGI, F.; UZUNÇAR, S. 2012. Simultaneous hydrogen gas formation and COD removal from cheese whey wastewater by electrohydrolysis. *International Journal of Hydrogen Energy*, **37**(16):11656-11665. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.05.019>
- KARGI F.; OZMIHCI S. 2006. Utilization of cheese whey powder (CWP) for ethanol fermentations: Effects of operating parameters. *Enzyme and Microbial Technology*, **38**(5):711-718. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.11.006>
- KOUSHKI, M.; JAFARI, M.; AZIZI, M. 2012. Comparison of ethanol production from cheese whey permeate by two yeast strains. *Journal Food Science Technology*, **49**(5):614-619. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-011-0309-0>
- LABORATÓRIO NACIONAL DE REFERÊNCIA ANIMAL (LANARA). 1981. Métodos Analíticos oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingrediente. Vol. II - Métodos Físicos Químicos. Brasília, cap. 2, p. 7-8
- MIZUBUTI, I. Y. 1994. Soro de Leite: Composição, processamento e utilização. *Semina: Ciências Agrárias*, **15**(1):80-94.
- MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R.M.V. 1972. *Manual de Soluções, Reagentes e Solventes*. 2ª ed., São Paulo, Edgard Blücher Ltda., 627 p.
- PAPAZIAN, C. 2003. *The Complete Joy of Homebrewing*. 3ª ed., Harperresource Book, 432 p.
- PRAZERES, A. R.; CARVALHO F.; RIVAS J. 2012. Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental Management*, **110**:48-68. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.05.018>
- PETERSEN, K.S.; STEGE, H.; NILESEN, J.P. 2011. Evaluation of a microwave method for dry matter determination in faecal samples from weaned pigs with or without clinical diarrhoea. *Preventive Veterinary Medicine*, **100**(3-4):163-170. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.04.014>
- SANSONETTI, S.; CURCIO, S.; CALABRÒ, V.; IORO, G. 2010. Optimization of ricotta cheese whey (RCW) fermentation by response surface methodology. *Journal Bioresource Technology*, **101**(23):9156-9162. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.030>
- SCARCELLI, F. 2015. A evolução do mercado de queijos em 2014 e suas perspectivas. *Revista Leite e Derivados*, ed. 152, p. 20-22.

TONI, J.C.V.; IMAMURA, K.B.; DORTA, C. 2012. Reaproveitamento do soro de leite bovino para produção de biomassa por *Kluyveromyces Marxianus* 229. *Revista Alimentus*, 2ª ed., São Paulo, p. 36-57.

TURHAN, I.; BIALKA, K.L.; DEMIRCI, A.; KARHAN, M. 2010. Ethanol production from

extract by using *Saccharomyces cerevisiae*. *Biore-source Technology*, **101**(14):5290-5296.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.146>

Submetido: 27/04/2015
Aceito: 25/02/2016