

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

FERMENTAÇÃO:

MATÉRIAS PRIMAS E PROCESSOS

PEDRO ROBERTO ALEIXO DO PRADO

BAURU

2009

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

PEDRO ROBERTO ALEIXO DO PRADO

FERMENTAÇÃO: MATÉRIAS PRIMAS E PROCESSOS

Monografia apresentada ao Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Química, sob orientação da Prof^ª. Dr.^ª Sirlei Roca.

BAURU

2009

P896f

Prado, Pedro Roberto Aleixo do

Fermentação : matérias primas e processos /
Pedro Roberto Aleixo do Prado -- 2009.
43 f.

Orientadora: Profa. Dra.Sirlei Roca.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação

em Química) - Universidade Sagrado Coração -

Bauru - SP.

1. Fermentação. 2. Leveduras. 3. Nutrientes. 4.
Processos Químicos. 5. Mercado. I. Roca, Sirlei. II.
Título.

PEDRO ROBERTO ALEIXO DO PRADO

FERMENTAÇÃO: MATÉRIAS PRIMAS E PROCESSOS

Monografia apresentada ao Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de bacharel em química. Sob orientação da Prof^a. Dr.^a Sirlei Roca.

Bancada examinadora:

Sirlei Roca

Universidade do Sagrado Coração

Alessandra Bizan de Oliveira Stetner

Universidade do Sagrado Coração

Márcia Aparecida Zeferino

Universidade do Sagrado Coração

Data 22/06/2009

Dedico este trabalho a minha esposa Rosineide Lorenzetti Prado, aos meus filhos Carolina, Pedro Henrique e Geovana, pela compreensão e paciência e a meus pais José Aleixo e Mercedes Leme.

AGRADECIMENTOS:

A Deus, pela oportunidade.

À Prof^a. Dr.^a Sirlei Roca, pela dedicação com que me orientou nesse trabalho.

Aos Professores em geral, pelo apoio e paciência.

Aos colegas de curso, pelo companheirismo.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, possibilitaram a realização deste trabalho.

RESUMO

Processo anaeróbico de transformação de uma substância em outra, que se processa a partir de microorganismos tais como fungos e bactérias, a fermentação, desde a antiguidade, é um processo que vem despertando pesquisas em várias partes do mundo, visando o aprimoramento, tornando mais eficiente. Como exemplo o melhoramento na qualidade da levedura, que é obtida por biomassa e também no processo de fermentativo do álcool. Este processo está apresentando bom retorno financeiro para empresas do ramo alimentício. Estudar e compreender o processo fermentativo, suas funções e utilidades, é alguns dos objetivos desse trabalho, pois a levedura e seus derivados contribuíram e contribuem para a fabricação de produtos que encontramos praticamente no mundo todo. Usando pesquisas bibliográficas de pesquisadores renomados e conceitos adquiridos em vida acadêmica e profissional, o presente estudo também informa os processos presentes nas etapas de uma fermentação, dando maior enfoque na fermentação alcoólica e na levedura, priorizando também tópicos que demonstra o quanto algumas empresas vêm lucrando com o avanço tecnológico e pesquisas que visam o aprimoramento produtivo.

Palavras-chave: Fermentação. Leveduras. Nutrientes. Processos Químicos. Mercado.

ABSTRACT

Anaerobic process of transformation of a substance into another, which takes place from microorganisms such as fungi and bacteria, the fermentation, since antiquity, is a process that has attracted research in various parts of the world, aiming at improving and making more efficient. As an example the improvement in the quality of yeast, this is obtained from biomass and also in the process of fermentation of alcohol. This is showing good financial returns for companies in the food industry. Study and understand the fermentation process, its functions and utilities, and some of the goals of this work, because the yeast and its derivatives and helped contribute to the manufacture of products that are virtually worldwide. Using bibliographic searches of renowned researchers and concepts acquired in academic and professional life, this study also reports the proceedings present the stages of fermentation, with greater focus on the alcoholic fermentation and yeast, emphasizing topics that also shows how some companies are profiting with technological advances and research aimed at improving productive.

Key Words: Fermentation. Yeast. Nutrients. Chemical Process. Market.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Gráfico Demonstrativo	14
Figura 2	Célula de levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15
Figura 3	Morfologia da célula de levedura	17
Figura 4	Reprodução de uma célula de levedura por gemulação	20
Figura 5	Reprodução de uma célula de levedura por fissão	21
Figura 6	Reprodução de uma célula de levedura por esporulação	22
Figura 7	As diversas formas de bactéria	31
Figura 8	Modelo de uma molécula de etanol	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Concentrações de nutrientes minerais no mosto para se obter adequada fermentação alcoólica	36
----------	--	----

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	LEVEDURA	15
2.1.	MORFOLOGIA	16
2.2.	ESTRUTURA CELULAR	16
3.	REPRODUÇÃO DAS LEVEDURAS	19
3.1.	GEMAÇÃO OU GEMULAÇÃO	19
3.2.	FISSÃO	20
3.3.	ESPORULAÇÃO	21
4.	FISIOLOGIAS DAS LEVEDURAS	23
4.1.	OXIGÊNIO	23
4.2.	pH	24
4.3.	TEMPERATURA	24
4.4.	ÁGUA	25
4.5.	LUZ	25
4.6.	CONCENTRAÇÕES DE AÇÚCARES	26
4.7.	NECESSIDADES NUTRICIONAIS	26
5.	NUTRIENTES NA FERMENTAÇÃO	28
6.	CONTAMINANTES NO PROCESSO	31
7.	CONTROLES DE CONTAMINANTES NO PROCESSO	32
7.1.	AGENTES QUÍMICOS	32
7.1.1.	ANTIBIÓTICOS	32
7.1.2.	ÁCIDO SULFÚRICO	33
7.2.	AGENTES FÍSICOS	33

8.	FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA	34
8.1.	MATÉRIAS-PRIMAS PARA FERMENTAÇÃO	35
8.2.	MOSTO	35
8.3.	INÓCULO	36
9.	LEVEDURA E ALGUNS DE SEUS SUBPRODUTOS	38
9.1.	ETANOL	38
9.2.	GÁS CARBÔNICO	38
9.3.	GLICEROL	38
10.	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
	GLOSSÁRIO	43

1. INTRODUÇÃO

Borzani et al (2001) declaram que há referências sobre o preparo de bebidas fermentadas a partir de cereais na Babilônia e no Egito 8.000 a 6.000 a.C. Há também, registros de produção de pães, utilizando fermentos, no Egito no ano 4.000 a.C e produção de vinhos na Grécia 2.000 a.C.

Outros autores, como Lima et al (1983), mencionam também que produtos originados de fermentação alcoólica, por exemplo, já eram conhecidos dos povos sumérios, fenícios, germanos, romanos entre outros, através de um processo espontâneo de fermentação que preparavam a partir de fontes naturais próprias de açúcares e amiláceos, como frutas, cana, milho, arroz, batata, centeio, aveia e cevada e mesmo raízes e folhas.

Da antiguidade até nossos dias vários estudos e experimentos despontaram no universo científico trazendo e implantando novos conceitos, estabelecendo novos rumos para a aplicação do processo fermentativo e oferecendo as indústrias, por exemplo, novas possibilidades de uso para os produtos advindos do processo de fermentação

Louis Pasteur é um dos vários pesquisadores que fizeram dos processos fermentativos um de seus pontos de pesquisas. Seus estudos e descobertas são referências do que temos hoje em muitas das aplicações sobre o processo mencionado.

Estudar a fermentação foi um desdobramento natural das investigações de Pasteur, como todas as demais atividades científicas que se seguiram. Esses estudos foram iniciados em 1855, quando ele era catedrático de química e deão da recém criada Faculdade de Ciências da Universidade de Lille.

O resultado desta pesquisas foi a formulação da teoria dos germes como explicação para os processos de fermentação. Pois nessa teoria, a fermentação só ocorreria se houvesse a presença de germes (no sentido de sementes) no meio.

O próprio Pasteur segundo informações dos autores acima citados, disse que pela palavra germe, não estava falando de uma causa vaga e indeterminada em sua natureza, mas de um objeto visível e tangível que já tem todos os caracteres de uma organização completa e se multiplica em profusão, desde que as condições sejam favoráveis.

Esses estudos revelaram as enzimas e permitiu a compreensão do metabolismo celular em toda a sua globalidade. Em 1930, os bioquímicos alemães Embden e Meyerhof descobriram a totalidade das etapas deste processo, pelo que essa sequência também é conhecida por cadeia de Embden-Meyerhof.

Para que isto ocorra, entretanto, torna-se necessária a ação de um "pool enzimático" para o desdobramento destes açúcares em álcool. Estas enzimas são fornecidas por microorganismos, leveduras ou fermento.

Depois dessas descobertas e com a tecnologia que temos hoje, produtos extraídos do processo de fermentação ganharam o mercado e novas pesquisas são implantadas no mundo todo para que novas formas de processamento e utilização sejam implementadas e lucros e produtos cresçam com a demanda mercadológica.

Como exemplos do uso crescente e lucrativo de um produto advindo da fermentação pode-se citar o uso da levedura em algumas usinas de açúcar e álcool. O uso e a aplicação da biotecnologia no processo de fermentação estão possibilitando para algumas empresas do setor produzir alimentos, que usam como base a levedura, que custam até cem vezes mais caro do que os produtos básicos dessas indústrias, no caso o açúcar e o álcool.

A levedura que antes, em algumas empresas, era vendida como ração animal hoje pode ser incorporada no processo de fabricação de vinhos finos, agregando estabilidade ao sabor e agregando lucros aos fabricantes, como demonstra a Figura 1 a seguir.



Figura 1- Gráfico Demonstrativo

(FONTE: Revista Época Negócios, Edição 7 - Setembro de 2007).

Investimentos e pesquisas são necessários para se chegar aos produtos e valores mencionados, mas se pode notar que o mercado de fermentação, que começou na antiguidade como demonstramos acima, nunca esteve tão valorizado, nunca foi tão agregado a novos produtos como na atualidade.

É para mostrar o processo de fermentação, suas composições químicas, seus processos químicos que foi realizado esse estudo, com o intuito de melhor compreender e aprender sua utilização em alguns segmentos e compreender porque que esse produto vem se tornando tão cobiçado e aplicado em alguns ramos das indústrias alimentícias.

2. LEVEDURA

Para Pelczar et al (1980), as leveduras são os microrganismos mais importantes na obtenção do álcool por via fermentativa. Fazem parte do grupo de ascomicetos denominados fungos superiores e são unicelulares, eucarióticos, heterotróficos. Em geral são maiores que as bactérias, possuem quase sempre formas arredondadas, ovais ou elípticas; porém variam consideravelmente no que se refere a suas dimensões, com limites desde 1 a 5 μm de largura e 5 a 12 μm de comprimento.

Segundo as autoras Franco et al (2003) dizem que as *Saccharomyces* são de um grupo bastante heterogêneo, com levedura que se multiplica por brotamento multilateral ou através de formação de pseudomicélio. Todas as espécies têm intensa atividade fermentativa. A espécie mais importante é a *S.cerevisiae* (Figura 2), empregada para as diversas finalidades.



Figura 2 – Célula de levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

(FONTE: <http://www.infoescola.com/biologia/leveduras>).

2.1. MORFOLOGIA

Franco et al (2003) definem levedura como fungos cuja forma predominante é unicelular. Podem ser esféricas, ovóide, cilíndricas ou triangulares.

Segundo informações da Copersucar (1994), as células de leveduras são esféricas, elípticas ou cilíndricas, variando grandemente em duas dimensões. Células de *Saccharomyces cerevisiae*, tem entre 2 a 8 micrometros de diâmetro e 3 a 15 micrometros de comprimento, algumas outras espécies, porém, apresentando até 100 micrometros de comprimento. As leveduras não possuem flagelos ou qualquer outro meio de locomoção.

2.2. ESTRUTURA CELULAR

Segundo informações da Copersucar (1994), as leveduras, como os bolores, são organismos eucarióticos e suas estruturas correspondem basicamente aquelas de outras células eucarióticas (tem núcleo verdadeiro).

Nakano (2000) diz que na levedura existem duas regiões fundamentais: o núcleo, que contém as características hereditárias e o citoplasma, contendo enzimas responsáveis pela assimilação, transformação de substâncias vitais, crescimento e multiplicação celular. Uma ilustração da morfologia de uma célula de levedura pode ser visto na Figura 3.

A mesma fonte acrescenta que o protoplasma de uma célula de levedura é envolvido por uma membrana e esta por uma parede. Ele contém um núcleo, um grande vacúolo, glóbulos de gordura e numerosas outras estruturas reveladas por técnicas específicas de coramento e de microscopia.

Através de microscópio eletrônico pode-se observar que a parede celular é composta de uma densa camada externa de cerca de 0,05 micrometros de espessura e camadas menos densa de cerca de 0,2 micrometros. A parte interna da parede pode ser

subdividida em 3 camadas, compostas de polímeros de glicose e de manose, com pequenas quantidades de proteínas, lipídeos e quitina. A distribuição destes polímeros é variável com as condições de cultivos e representam papel importante no comportamento da levedura no que se refere, por exemplo, á floculação.

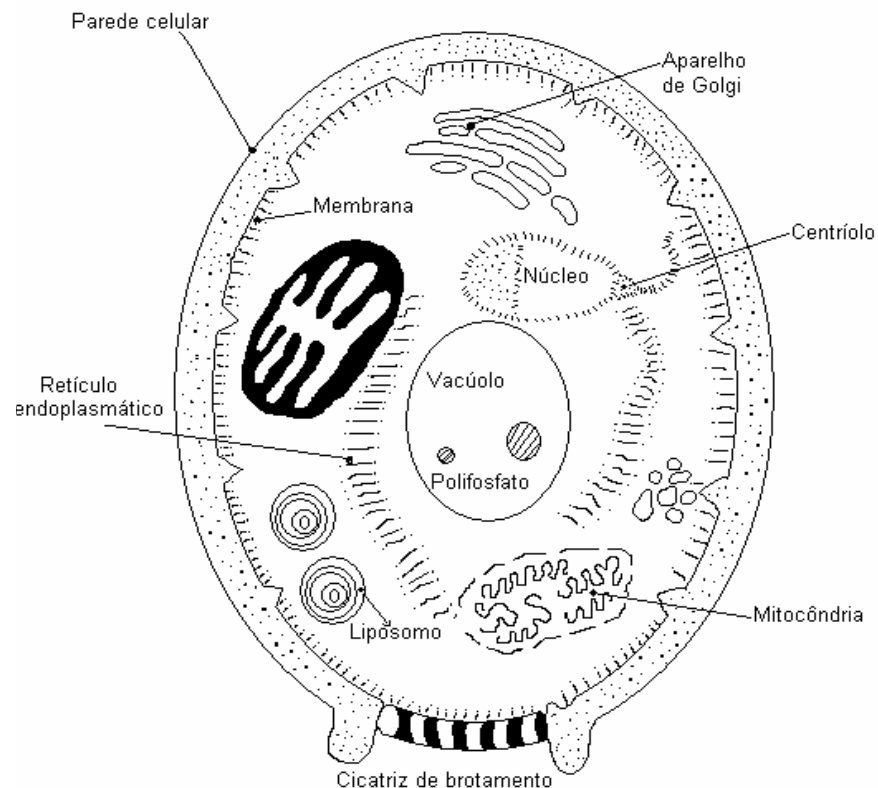


Figura 1 – Morfologia da célula de levedura

(FONTE: Nakano, 2000)

Ainda segundo Copersucar (1994), parede celular confere rigidez a células, definindo sua forma e sua resistência ao movimento. Em termos de peso, pode chegar a 30% do peso seco total da célula, o que explica seu papel no uso como componente eventual de rações para animais e também como fonte de nutrientes para humano, sendo necessário eliminá-la para aumentar a digestibilidade de suas proteínas.

Algumas enzimas importantes como a invertase, a fosfatase, a amino-peptidase e a glucoamilase, que se localizam na parede celular. No caso de *Saccharomyces*

cerevisiae a parede tem entre 6 a 8% em peso de proteínas, a maior parte dela na forma das enzimas acima mencionadas.

Essa espécie, segundo Pataro et al. (1998), é a mais importante da levedura alcoólica, possui um largo espectro de utilização, sendo empregada na produção de pães, bebidas alcoólicas, etanol, etc. Sua biomassa pode ser recuperada como subproduto de fermentação e transformada em levedura seca, que se constitui em matéria-prima para a fabricação de ração animal ou suplemento vitamínico para o homem. Os critérios tecnológicos que fazem com que uma levedura seja utilizada comercialmente na fermentação alcoólica são o alto rendimento e a elevada produtividade, ou seja, a rápida conversão de açúcar em álcool, com baixa produção de componentes secundários.

3. REPRODUÇÃO DAS LEVEDURAS

Conforme Franco et al (2003), de acordo com sua reprodução, as leveduras de interesse em alimentos podem ser subdividas em 02 grupos: as verdadeiras, nas quais a formação de ascos contendo esporos sexuais (ascosporos), leveduras falsas, que não produzem ascosporos ou qualquer outro tipo de esporos sexuado.

Todas as leveduras podem reproduzir-se assexuadamente, sendo este o único processo em 50% delas. A reprodução assexuada ocorre por gemação ou por fissão celular.

3.1. GEMAÇÃO OU GEMULAÇÃO:

Conforme Lima et al (2001), este é o processo mais comum, também chamado de gemulação ou brotamento. Neste processo aparece uma pequena saliência na parede e esta vai aumentando gradualmente. Os citoplasmas da célula-mãe e célula filha permanecem unidos por algum tempo até que a abertura de passagem do material entre elas se fecha, formando uma parede dupla, o que completa o processo. A partir deste momento existem duas células fisiologicamente distintas, que as vezes se separam em seguida (Figura 4).

As células-filhas nem sempre se separam imediatamente após a síntese da parede, podendo permanecer unidas à mãe, enquanto um ou mais brotos se formam na célula-mãe ou mesmo nas filhas.

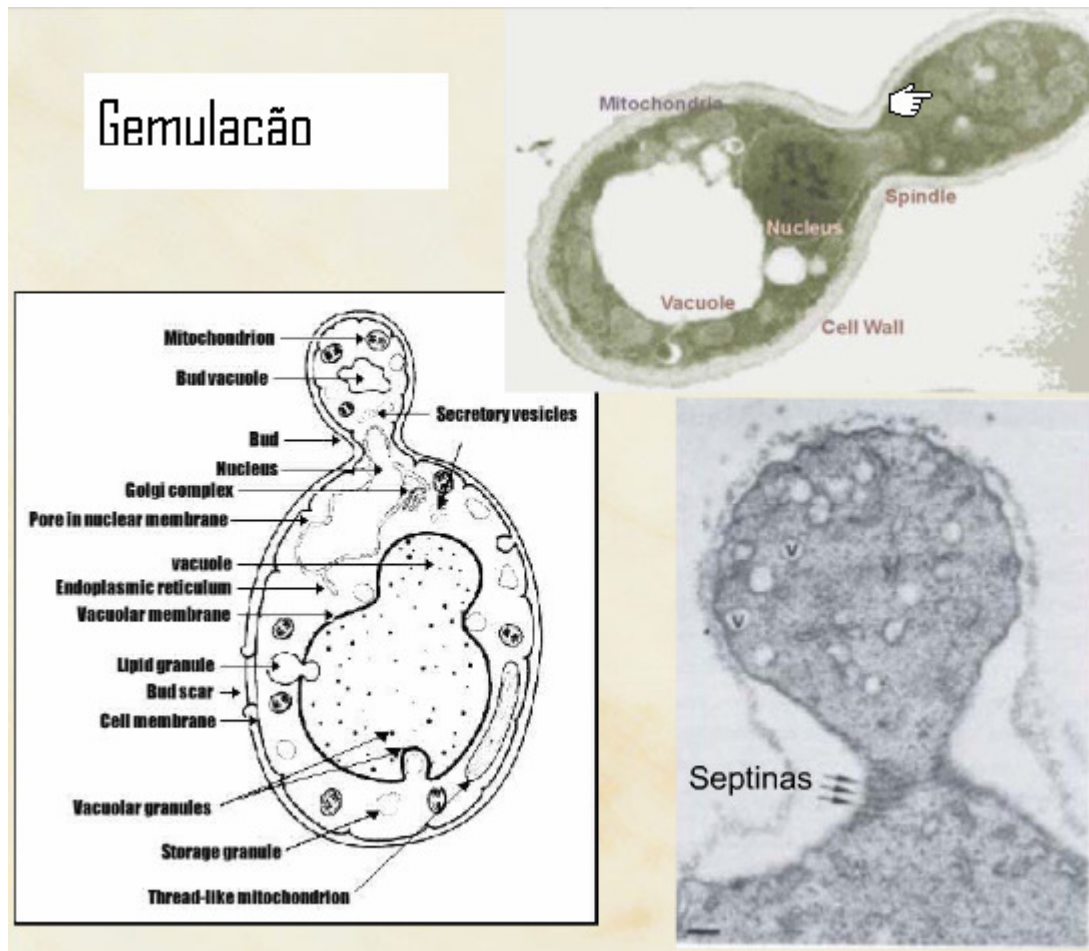


Figura 2 - Reprodução de uma célula de levedura por gemulação.

(FONTE: <http://www.scribd.com/doc/7059075/leveduras-1>).

3.2. FISSÃO

Conforme Lima et al (2001), esta outra forma de reprodução assexuada que ocorre em alguns poucos gêneros de leveduras. Este processo é similar ao que ocorre em muitas bactérias e consistem no aumento de tamanho ou alongamento da levedura, o núcleo de dividindo e duas células-filhas se originando. Durante o período de multiplicação, as células também podem se dividir sem se separarem, dando origem a cadeias, como mostrado na Figura 5.

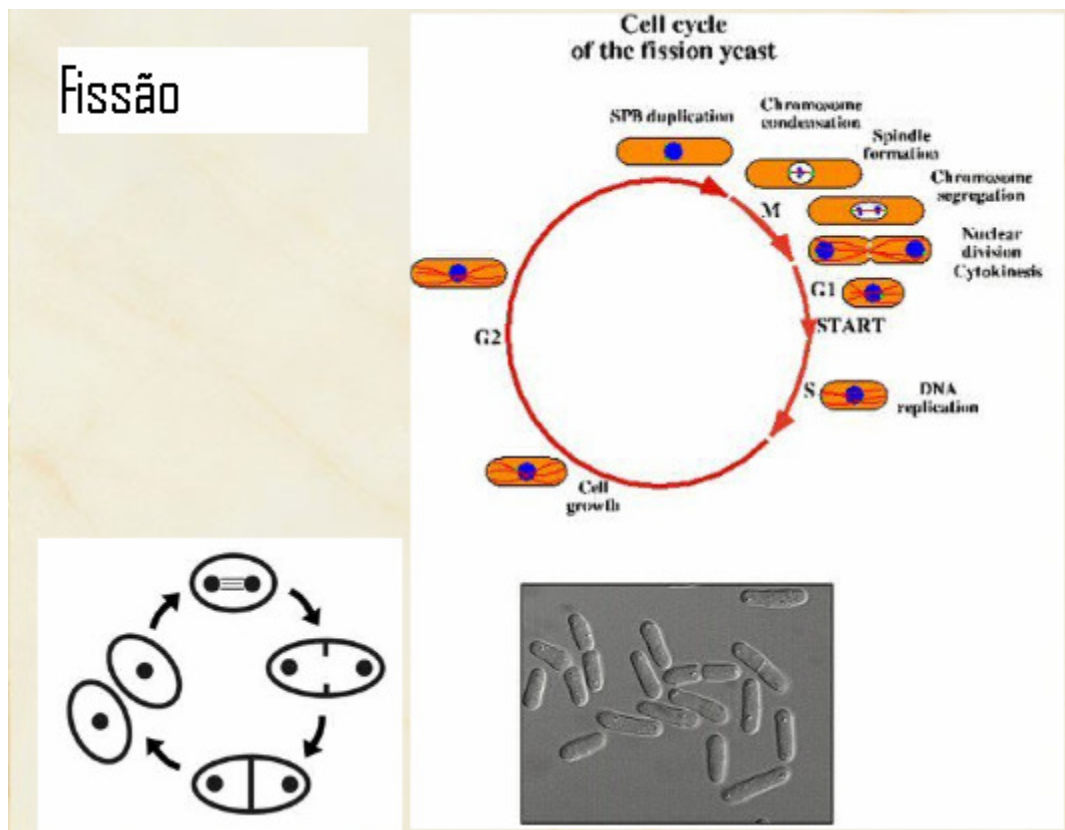


Figura 3 - Reprodução de uma célula de levedura por fissão.

(FONTE: <http://www.scribd.com/doc/7059075/leveduras-1>).

3.3. ESPORULAÇÃO

Conforme Lima et al (2001), a esporulação normalmente se refere à formação de esporos sexuais (ascósporos ou basidiósporos) através da associação de células diferenciadas, por um mecanismo que envolve uma divisão reductora (meiose).

Os esporos formados no interior do asco são denominados de ascósporos. Os esporos sexuais, porém, geralmente em número de quatro, são desenvolvidos a partir de uma estrutura com o formato de uma “clava”, também chamada de basídio, sendo denominados, portanto, de basidiósporos (Figura 6).

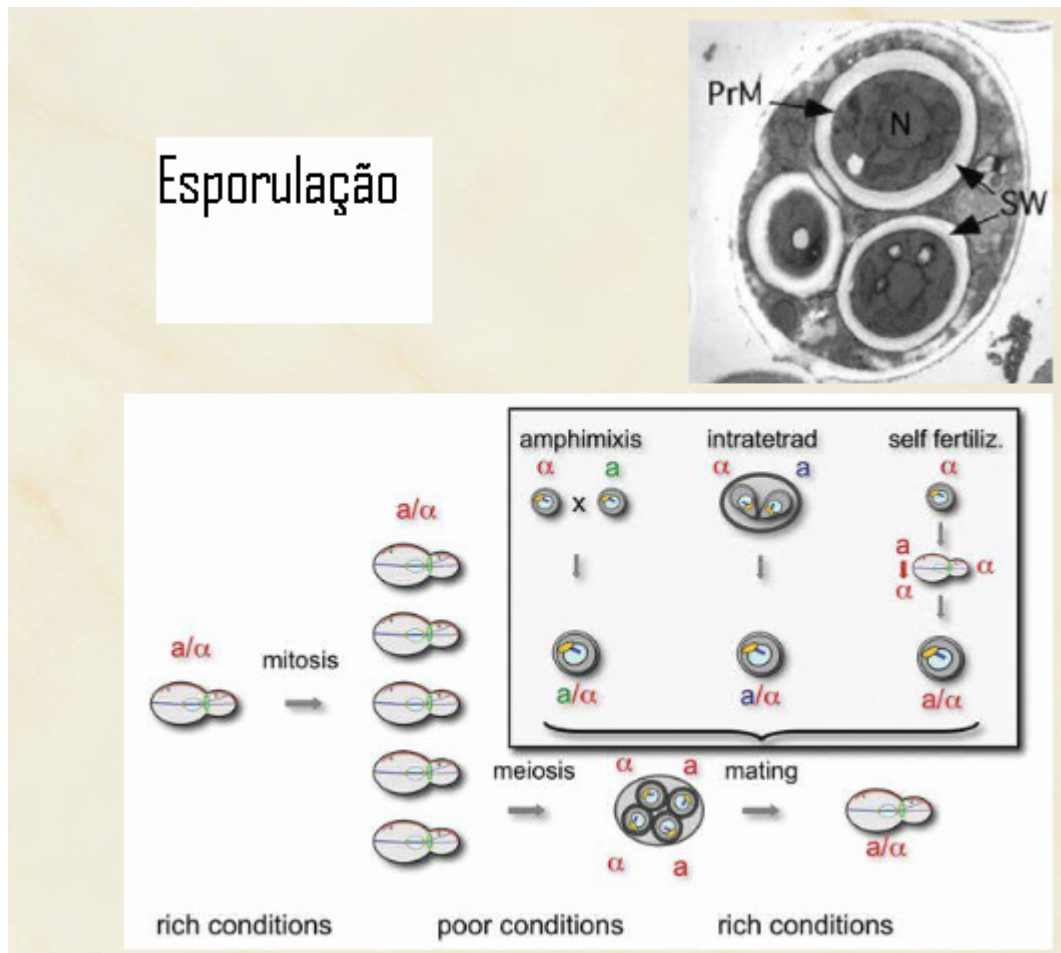


Figura 4 - Reprodução de uma célula de levedura por esporulação.

(FONTE: <http://www.scribd.com/doc/7059075/leveduras-1>).

Conforme Lima et al (2001), a esporulação assexuada ou vegetativa se verifica na formação de conídios (esporos livres), blastosporos (formados pela gemação de pseudo-hifas), clamidósporos (situados na posição terminal e hifas) e artrósporos (formados pela segmentação das hifas).

4. REAÇÕES FISIOLÓGICAS DAS LEVEDURAS

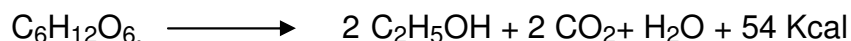
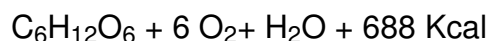
Copersucar (1994) diz que num grupo de microorganismo tão grande e diversificado como as Leveduras, pode-se encontrar uma variedade de reações fisiológicas que possam interferir em seu desempenho na obtenção do álcool, são eles:

4.1. OXIGÊNIO

Conforme a Copersucar (1994), as Leveduras foram os primeiros microorganismos encontrados capazes de crescer na ausência de oxigênio. Pasteur ficou impressionado com este fato.

Pasteur observou que em anaerobiose (ausência de oxigênio) o açúcar era convertido, principalmente em álcool e dióxido de carbono, ao passo que em aerobiose (presença de oxigênio) os produtos formados eram dióxido de carbono e água. A multiplicação de leveduras é mais rápida e produz mais células sob condições de aerobiose, sendo esta mais comum na partida do processo fermentativo, visando população maior de levedura para consumir o volume do mosto.

Estas observações são mais bem compreendidas analisando as equações que expressam empiricamente a reação global de completa oxidação e fermentação alcoólica de um açúcar simples, no caso representado pela glicose:



Numa completa oxidação da glicose, pode-se esperar um rendimento energético máximo de 688 Kcal, ao passo que na fermentação alcoólica para a mesma quantidade de açúcar consumido tem-se apenas 54 Kcal.

Na fermentação alcoólica, o meio arejado produz muito pouco álcool, oxidando os açúcares com algum rendimento energético, o que favorecerá a multiplicação das células que terão a disposição energia suficiente para a realização de síntese biológica. Portanto, no início da fermentação industrial, o oxigênio é necessário para obtenção de grande massa celular, porém, à medida que ocorre a fermentação, o gás carbônico formado e o esgotamento de oxigênio criarão condições de anaerobiose, favorecendo o metabolismo dos açúcares por fermentação.

4.2. pH

Conforme Lima et al (2001), as fermentações se desenvolvem numa ampla faixa de pH, sendo adequada a entre 4 e 5.

Conforme a Copersucar (1994), aceita em geral que as leveduras cresçam melhor em meio ácido, sendo a correção do pH de grande importância porque, estabelece condições para um bom desenvolvimento das leveduras e inadequado para as bactérias.

Isso porque as leveduras são microorganismos acidófilos, sendo que o pH ótimo para sua fisiologia varia de acordo com o tipo das mesmas. De modo geral, a fermentação alcoólica é bem conduzida em pH de 4,5 a 5,0, faixa esta que inibe a maioria das bactérias. Os limites toleráveis estão entre 2,0 e 8,0, de acordo com a espécie.

4.3. TEMPERATURA

Segundo Lima et al (2005), as leveduras são mesófilas. As temperaturas propicias para a produção industrial de etanol situam-se na faixa de 26-35°C, com média de 30°C.

Segundo Baugh (informação verbal)¹, temperatura próxima a 32°C não machuca a membrana e as enzimas passam a trabalhar no melhor parâmetro. Já as temperaturas de 38 a 39°C seriam as melhores, porém as membranas das leveduras começam a dissolver (os fósforos lipídios são solúveis em álcool) e estes líquidos que vazam do interior das células, servem de alimentos a bactérias.

Segundo Copersucar (1994) as leveduras crescem numa faixa ampla de temperatura (0 a 47°C). As células de levedura em estado vegetativo são destruídas (em água) numa temperatura de 52 a 58°C por um tempo de apenas 5 a 10 minutos; os esporos são mais resistentes, porém a 60- 62°C são destruídos em poucos minutos. O meio no qual os microorganismos estão presentes afeta o tempo de esterilização; a sobrevivência é freqüentemente melhor em meios contendo altas concentrações de açúcar e/ou sais.

4.4. ÁGUA

Segundo Copersucar (1994), as leveduras necessitam de mais água que os bolores e menos água que a maioria das bactérias, porém, deve ser enfatizado que existe grande variação dentre as espécies. Algumas delas podem crescer na presença de altas concentrações de sais ou de açúcar. Tais microorganismos que resistem á alta pressão osmótica são denominados osmofílicos.

4.5. LUZ

Segundo Copersucar (1994) a reprodução das leveduras se processa normalmente em condições deficientes de iluminação, sendo que a luz natural retarda a multiplicação das células.

¹ Palestra proferida por Lon C. Baugh sobre fermentação na Usina São José em março de 2008.

4.6. CONCENTRAÇÕES DE AÇÚCARES

Conforme Lima et al (2001) aumentando-se a concentração de açúcares aumenta-se a velocidade de fermentação, a produtividade e, dentro de certos limites, acarreta-se menor crescimento do fermento e menor formação de glicerol por unidade de substrato processado.

Na fermentação alcoólica, o crescimento celular está intimamente relacionado com a formação do produto, que é o álcool. Desta forma, tanto o crescimento da levedura como a formação do álcool são influenciadas pelas variações da concentração do substrato, Copersucar (1994).

É importante determinar a concentração ótima do substrato, que possibilite o maior aproveitamento pela levedura, conseqüentemente, uma boa eficiência de conversão. Aumentando-se a concentração de açúcares, aumenta-se a velocidade de fermentação, a produtividade e, dentro de certos limites, acarretasse menor crescimento do microrganismo e menor formação de glicerol por unidade de substrato processado. Entretanto, elevados teores de açúcar acarretam um estresse osmótico da levedura, de tal forma que se considera como uma faixa de concentração ideal valores entre 15 e 25 °Brix, com médias de 18 a 20 °Brix.

4.7. NECESSIDADES NUTRICIONAIS

Conforme Lima et al (1975) os elementos químicos mais importantes representam-se pelo carbono, nitrogênio, fosfatos, sais de magnésio, potássio e cálcio. Elementos menores concentrações como manganês e cobalto atuam favoravelmente em suas atividades vitais.

Segundo informações da Copersucar (1994), as leveduras necessitam dos mesmos elementos químicos que as outras formas de vida. Os fatores de crescimento, conforme dizem, são ativos em concentrações baixas, por exemplo a biotina, que

estimula o crescimento e o inositol é utilizado na síntese da estrutura celular. O suprimento de nitrogênio as leveduras é essencial ao crescimento e a fisiologia.

A utilização de sulfato de amônio é recomendada como fonte nitrogenada, devido aos benefícios sobre o rendimento e velocidade de fermentação.

5. NUTRIENTES NA FERMENTAÇÃO

Segundo Baugh (informação verbal)², cada mineral tem uma função específica para a levedura, seja na constituição de membrana, na absorção de outros nutrientes, na estrutura do material genético ou na constituição de aminoácidos e na síntese protéica necessária para a manutenção da vida da levedura.

Conforme Copersucar (1996), os nutrientes (nitrogênio, fósforo e magnésio) são essenciais na partida da fermentação, embora dependendo da composição do mosto e do teor alcoólico que se deseja atingir, pode ser necessário adicioná-los durante a fermentação.

Em certas ocasiões, onde se precisa recuperar o fermento após uma parada prolongada ou retomada mais rápida da força fermentativa pode ser útil adicionar nutrientes. Pois estes são facilmente assimilados em relação aos existentes no mosto, permitindo um aumento na velocidade de fermentação e eventualmente um aumento na viabilidade.

Conforme Lima et al (2001), as leveduras são microrganismos saprófitas que exigem uma fonte de carbono elaborada – glicose ou outro açúcar – que fornece a energia química e o esqueleto carbônico de suas estruturas celulares, constituídas predominantemente de carbono, oxigênio e hidrogênio. Algumas vitaminas, como tiamina e ácido pantotênico, também são exigidas. O meio deve, igualmente, fornecer nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, cálcio, zinco, manganês, cobre, ferro, cobalto, iodo e outros elementos em quantidades diminutas.

Conforme os autores Sethlik-Tomas et al.(2004), os micronutrientes (enxofre, magnésio, manganês, zinco, cobre, cobalto, dentre outros) têm uma função importante no metabolismo celular, principalmente devido aos seus requerimentos como cofatores para várias enzimas.

² Palestra proferida por Lon C. Baugh sobre fermentação na Usina São José em março de 2008.

Segundo Fermentec (2008), no meio fermentativo todos os nutrientes tem sua função muitos de formas positivas ou não tão favoráveis ao meio, abaixo segue dados de alguns elementos sua função e dosagem.

- ✓ **Nitrogênio:** É um ativador enzimático. A dosagem recomendada varia de 50 a 150 ppm. Teor indicado para a fase de multiplicação é de 150 ppm e na fase de fermentação a dosagem média é de 50 ppm. Dosagens menores que 50 ou ausência de nitrogênio no meio pode levar ao baixo brotamento, aumento no tempo de fermentação, aumentando o acúmulo de reservas pela célula, a produção de glicerol e baixo rendimento de fermentação.
- ✓ **Fósforo:** Tem função estrutural na membrana, participa dos processos de transferência de energia química, ingrediente básico para a multiplicação de fermento. A dosagem recomendada como (P) varia de 20 a 200 ppm (fermentação e multiplicação).
- ✓ **Potássio:** Função de estabilizar a membrana, é necessário para a absorção de fósforos, aumenta a tolerância à concentração de íons H^+ , controlando o pH. A concentração encontrada no mosto varia de 200 a 12.000 ppm;
- ✓ **Magnésio:** Ativador enzimático de reações do metabolismo, inclusive glicólise. Sua carência faz com que o broto não se desprenda da mãe, sofre ação antagônica do Ca^{+2} e mantém a integridade e permeabilidade das membranas. A concentração em Mg^{+2} encontrada em mostos varia de 80 a 3900 ppm.
- ✓ **Zinco:** Cofator enzimático na fermentação e multiplicação, inclusive a desidrogenase, agente cicatrizante da célula mãe após brotamento, sua absorção é feita através da troca de 2 íons de K^+ . Os teores ideais ficam entre 0,45 à 9 ppm.

- ✓ **Manganês:** Participa da desidrogenase alcoólica, estimulando o efeito do zinco, ativador de enzimas envolvidas na síntese de proteínas e tiaminas (coenzima). Teores indicados é de 2 a 8 ppm.
- ✓ **Cálcio:** não é importante para a fermentação nem multiplicação, altas concentrações inibe a absorção de aminoácidos e é um agente de ligação química que forma um tipo de floculação.

6. CONTAMINANTES NO PROCESSO:

Conforme Lima et al (2001), desde que a fermentação industrial, pela dimensão do processo, não é conduzida em condições de completa assepsia, é possível a contaminação bacteriana.

As altas temperaturas de fermentação favorecem a contaminação bacteriana e dependendo de sua intensidade, compromete o rendimento fermentativo.

Copersucar (1996) diz que a forma mais prática de medir o grau de infecção numa fermentação alcoólica é pela contagem microscópica, a proporção (ou número) de bactérias em relação a leveduras. Esta contagem torna-se fácil pelo fato do formato das bactérias serem muito diferentes das Leveduras, como mostrado na Figura 7 em relação à Figura 2. Quanto menor a proporção melhor para o processo fermentativo.

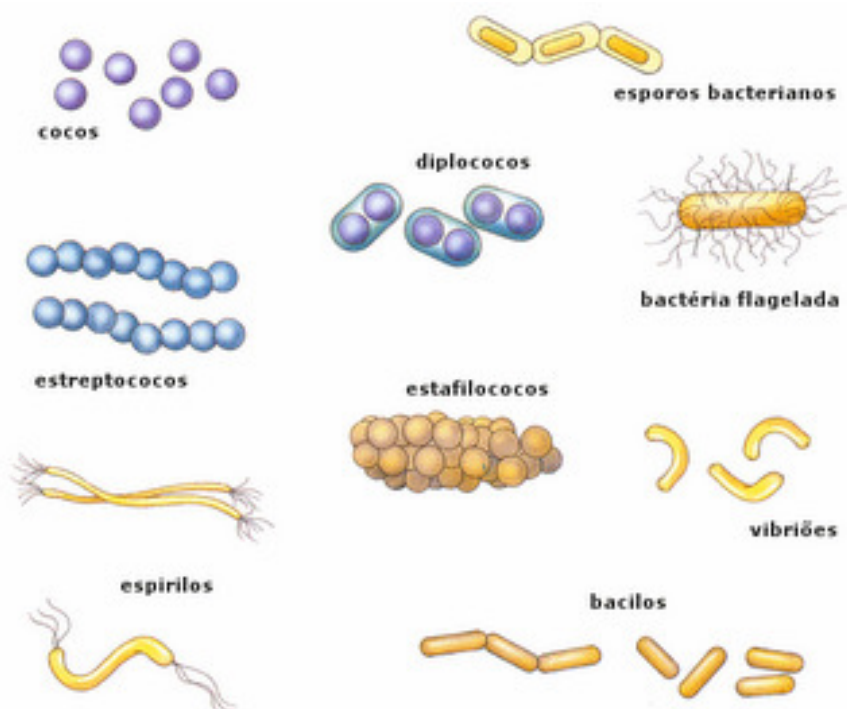


Figura 5– As diversas formas de bactéria.

(FONTE: <http://julia3mcesb.blogspot.com/>).

7. CONTROLES DE CONTAMINATES NO PROCESSO

Conforme Copersucar (1996), o controle de infecção bacteriana no meio fermentativo se faz necessário em função da produção de ácidos, nas quais as bactérias são as principais responsáveis.

7.1. AGENTES QUÍMICOS

Conforme Borzani et al. (2001), classicamente os agentes químicos empregados para matar ou inativar microorganismos são classificados em dois grandes grupos: desinfetantes e agentes quimioterápicos.

Agentes desinfetantes são designações para qualquer agente químico empregado num processo microbiológico para inibir ou matar microorganismos indesejáveis. São substâncias que agem diretamente sobre estruturas microbianas na membrana citoplasmática dissolvendo os lipídios e nas proteínas enzimáticas ou estruturais, que a compõe causando a morte do microorganismo, necessariamente não mata todos.

Os agentes quimioterápicos são substâncias que na maioria dos casos agem em determinadas vias metabólicas, podem ser sintéticos ou naturais.

7.1.1. ANTIBIÓTICOS

Conforme Lima et al (1975) nas bebidas não destiladas fermentadas, o uso de antibióticos é potencialmente perigoso. Boa parte pode permanecer no produto final, criando resistência microbiana, possíveis fenômenos alérgicos e mesmo sensibilização no consumidor.

Segundo Baugh (Informação Verbal)³, os antibióticos não fazem efeito nenhum para as leveduras e mata a bactérias com eficiência, o inconveniente é o residual de Monensina sódica dos antibióticos sintéticos que permanece no produto acabado, quando direcionada a produção de levedura seca como fonte de alimento.

7.1.2. ÁCIDO SULFÚRICO

Segundo Copersucar (1994), o tratamento a base de ácido pode ser chamado de tratamento de choque, pois ao adicionar ácido ao leite de levedura provoca-se uma rápida variação de pH do meio, o que cria condições desfavoráveis ao desenvolvimento de microorganismos contaminantes.

Apesar de um dos tratamentos economicamente mais viável, possui suas limitações quanto ao efeito bactericida, pois quando em estágio avançado de infecção somente o tratamento de choque não elimina por completo os microorganismos prejudiciais a fermentação.

7.2. AGENTES FÍSICOS

De acordo com a Copersucar (1994), a centrífuga se operada em condições adequadas, separa seletivamente os sólidos menores e mais leves para o vinho (que será destilado) e os sólidos mais pesados para o leite de levedura, que será tratado e reciclado. Entre os sólidos pequenos e mais leves encontra-se as bactérias. Em geral 30% das bactérias são rejeitadas, numa condição normal, enquanto que isso ocorre com apenas 3% das leveduras.

³ Palestra proferida por Lon C. Baugh sobre fermentação na Usina São José em março de 2008.

8. FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

Conforme Copersucar (1994), a fermentação alcoólica pode ser definida como um processo de nutrição de muitos tipos de células vivas, onde as moléculas relativamente simples como açúcares são quebrados por ação de enzimas em moléculas ainda mais simples como o etanol e o CO₂, como mostra a equação abaixo:

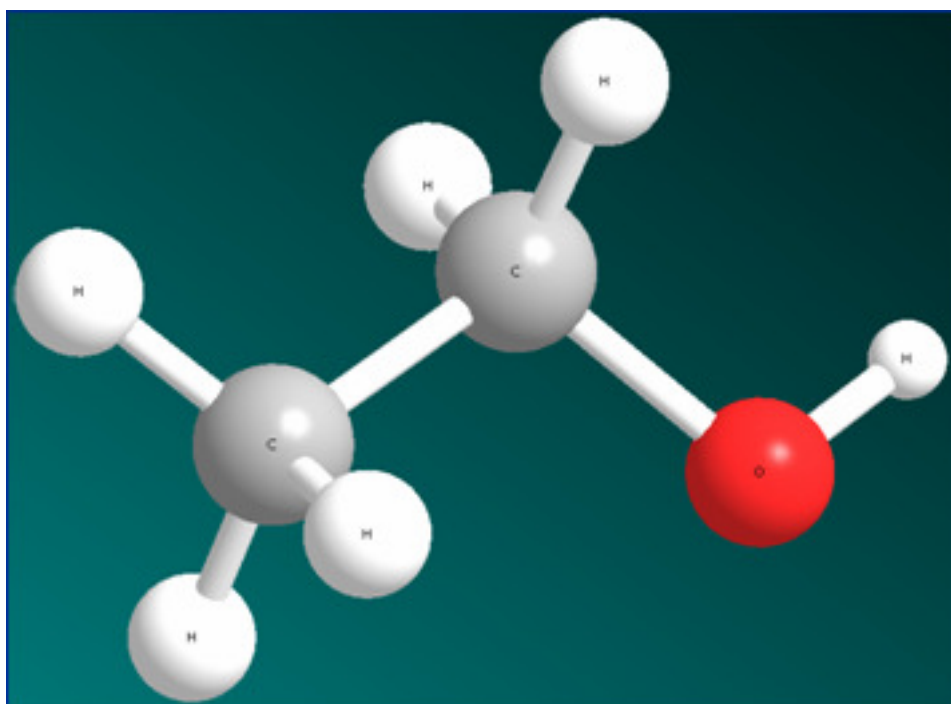
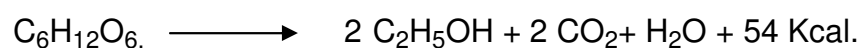


Figura 6– Modelo de uma molécula de etanol

(FONTE: www.secinfanteh.net/estagiofq/10_ano/q7/aula_4/q7-4.ppt)

8.1. MATÉRIAS-PRIMAS PARA FERMENTAÇÃO

Conforme Lima et al. (2001), qualquer produto que contenha açúcar ou outro carboidrato constitui-se em matéria-prima para obtenção de etanol. Os substratos (mostos) têm de ser adequados ao desenvolvimento do microrganismo e à finalidade de sua atividade, que é produzir uma determinada substância. Além de uma composição capaz de suprir as exigências do microrganismo, para seu melhor desempenho, deve estar devidamente condicionado em termos de pH, temperatura, assepsia ou esterilidade.

De acordo com informações da Copersucar (1994), qualquer produto que contenha uma quantidade considerável de carboidratos constitui-se em matéria-prima para obtenção de álcool. Entretanto, para que seja viável economicamente, é preciso que se considere o seu volume de produção, rendimento industrial e o custo de fabricação. O tipo de carboidratos presentes nas matérias-primas pode ser classificada em três tipos: materiais açucarados, materiais amiláceos e materiais celulósicos.

8.2. MOSTO

Segundo Borzani et al (2001), em microbiologia o mosto é conhecido como meio de cultura e conhecido como mosto ou meio de fermentação nas indústrias da área de fermentação. Para o preparo do mosto natural, devem-se extrair os carboidratos (açúcares) da matéria-prima, e, se necessário, torná-los disponíveis para fermentação.

Conhecendo-se as propriedades fisiológicas e as exigências nutricionais das leveduras, pode-se propiciar boas condições para esses microrganismos e favorecer a fermentação alcoólica, a fim de que esta seja mais regular, homogênea e pura. Isto se consegue adicionando ao mosto os nutrientes necessários, corrigindo a reação do meio, empregando anti-sépticos ou antibióticos e conduzindo a fermentação à temperatura adequada. Os elementos nutricionais, a quantidade e a necessidade de se

adicionar ou não outros elementos corretivos dependem da matéria-prima utilizada, como mostrada na Tabela 1.

Substratos que contenham sacarose ou glicose requerem um menor número de etapas para a produção de etanol que os outros tipos de substrato. De fato, melaços e outros xaropes com alta concentração de açúcar só precisam ser diluídos antes da fermentação.

Tabela 1. Concentrações de nutrientes minerais no mosto para se obter adequada fermentação alcoólica.

Nutriente mineral	Concentração em mg/L	Nutriente mineral	Concentração em mg/L
NH ₄ ⁺	40 – 5900	Co ⁺⁺	3,5
P	62 – 560	Co ^{++ **}	10
K ⁺	700 – 800	Zn ⁺⁺	0,5 – 10
Ca ⁺⁺	120	Cu ⁺⁺	7
Mg ⁺⁺	70 – 200	Mn ⁺⁺	10 – 33
SO ₄ ⁻	7 – 280	Mn ^{+++*}	10 (10-80)
Na ⁺	200	Fe ⁺⁺	0,2

(Fontes: Lima et al. (2001). Tecnologia das Fermentações)

8.3. INÓCULO

Segundo Borzani et al (2001), inóculo que também é conhecido como pé-de-cuba ou pé-de-fermentação, é um volume de suspensão de microrganismo de concentração adequada capaz de garantir, em condições econômicas, a fermentação de um dado volume de mosto.

Copersucar (1994), faz a definição do inóculo como uma quantidade de células suficiente para dar início a um processo fermentativo de forma rápida e econômica, e é obtido, a partir de um tubo de cultura pura, por transferências sucessivas em

quantidades e concentrações crescentes do substrato, até que se atinja um volume suficiente para inocular o meio contido nos fermentadores (também chamados de dornas de fermentação).

Para se chegar ao processo de reprodução do inóculo, é necessário o uso de um meio de cultura, para manutenção ou mesmo para o transporte de microrganismos. No caso da fermentação alcoólica com *Saccharomyces* adquirido comercialmente, o meio será usado na multiplicação do microrganismo que foi comprado liofilizado, para obtenção da cultura pura em frasco e posterior fermentação no substrato escolhido.

9. LEVEDURA E ALGUNS DE SEUS SUBPRODUTOS.

Conforme Copersucar (1994), durante o processo de fermentação alguns produtos são gerados em função de diversos fatores, interferindo na eficiência fermentativa.

9.1. ETANOL

O etanol é denominação genérica de uma classe de compostos químicos ternários, constituídos por carbono e oxigênio. Sua característica é apresentar uma ou mais hidroxilas ligadas a um radical alcoíla. Muitas vezes a palavra álcool é utilizada para denominar o álcool etílico ou etanol, que é o membro mais conhecido da classe Copersucar (1996).

9.2. GÁS CARBÔNICO

Conforme a Copersucar (1994), o gás carbônico é o principal produto da fermentação, porque em geral se produz quase 1 kg de gás para 1kg de Etanol. No momento o gás não é aproveitado diretamente como produto. Junto com o desprendimento do gás carbônico ocorre evaporação de álcool e estes são conduzidos a uma torre de lavagem (recuperação do etanol) e o gás carbônico liberado, apresentam alguns estudos para reaproveitamento, como no processo de branqueamento de açúcar.

9.3. GLICEROL

Conforme Baugh (Informação verbal)⁴ o glicerol é um esforço da Levedura, e está associado à temperatura alta com teor de álcool elevado, a levedura para de se

⁴ Palestra proferida por Lon C. Baugh sobre fermentação na Usina São José em março de 2008.

alimentar e produz trialose (03 carbonos) preenchendo os orifícios da parede celular, como mecanismo de defesa, abaixando a concentração de betaglucano, manano e aumento da trialose. Ocorrendo retardo na fermentação e mudanças químicas da parede celular.

Segundo consta no Copersucar (1996), o glicerol tem a função de proteger a célula, pois equilibra a pressão osmótica dentro e fora da célula. Quando a pressão osmótica fora da célula aumenta (o teor de substâncias dissolvidas, sais e açúcar) a Levedura precisa fazer mais glicerol (ou reter mais glicerol dentro) para evitar o ressecamento e a perda de funcionamento das proteínas e de outros compostos frágeis.

10. CONCLUSÃO

Neste estudo foi possível concluir que “a responsável” pela produção de uma energia mais limpa, a Levedura, requer cuidados durante o processo, cuidados esses que visam um melhor desempenho para a obtenção do Etanol e Levedura como fontes de alimento, e essa vem sendo muito aproveitada pelo setor sucroalcooleiro.

O processo consiste na oxidação parcial de uma substância orgânica (oxidação anaeróbica), ocorrendo à quebra da sacarose, por ação de enzima gerada por leveduras tendo como produto final o Etanol e o Gás Carbônico, além da Levedura seca e outros produtos secundários.

Assim como no meio em que vivemos ocorrem desestabilidade, no processo de fermentação alcoólica não é diferente, para manter uma levedura saudável, gerando bom desempenho é necessário cuidados, pois, qualquer mudança nos parâmetros, pode gerar perdas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIOTECNOLOGIA: Disponível em: <http://epocanegocios.globo.com/Revista/Epocanegocios/> acesso em 01/06/2009.

BORZANI, W,; SCHIMIDELL, W .LIMA,U. AQUARONE, E (coord). **Biotecnologia Industrial: fundamentos**. São Paulo: Edgard Blücher 2001, v 1, p. 5.

COPERSUCAR – **Atualização em Processo de Fermentação Alcoólica**. Boletim técnico Copersucar, 1994.

COPERSUCAR – **Procedimentos Operacionais na Fermentação para Minimização de Custo de Produção**. Boletim técnico Copersucar, 1996.

FERMENTEC. **Fermentando com Alta Eficiência**. Fermentec, 2008.

FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M., **Microbiologia dos alimentos**, São Paulo: Editora Atheneu, 2003, p. 4 – 96.

LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZONI, W. SCHIMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial Processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: E. Blücher, v. 3, 2001, p. 90-122.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Tecnologia das Fermentações**. São Paulo, Edgard Blücher, (Biotecnologia 1), 1975.

NAKANO, V. M. **Teoria da fermentação e maturação.** In: WORKSHOP ADEGAS, 2000, Brasília. Anais. Brasília: AMBEV, 2000, 96 p.

PATARO, C.; SANTOS, A.; CORREA, S.R.; MORAIS, P.B.; LINARDI, V.R.; ROSA, C.A. Physiological characterization of yeasts isolated from artisanal fermentations in na cachaça distillery. **Revista Microbiológica.**, v. 29, 1998, p. 69 - 79.

PELCZAR, M., REID, R.; CHAN, E. C. S.; **Microbiologia.** v.1, São Paulo: McGraw,1980.

STEHLIK-TOMAS, V.; ZETIC, V.G.; STANZER, D.; GRBA, S.; AND VAHCIC, N; Zn, Cu and Mn Enrichment in *S. cerevisiae*, **Food Technology. Biotechnology.** v.42 (2), 2004, p.115 – 120.

SCHIMIDELL, W.,; **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica,** São Paulo, v.2, 2001, p. cap. VIII, p. 194 -196.

GLOSSÁRIO

BRIX – Porcentagem em peso de sólidos solúveis contidos em uma solução açucarada.

FRUTOSE e GLICOSE – É um açúcar que existe em pequena proporção na cana de açúcar e resultante da quebra da sacarose na fermentação (monossacarídeo).

MOSTO – solução açucarada que alimenta as leveduras, pronto a sofrer fermentação.