



XI SILUBESA

Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental

28/03 a 02/04/2004 - Natal - Rio Grande do Norte - Brasil

II-062 - APROVEITAMENTO DO SORO DE QUEIJO NA PRODUÇÃO DE ETANOL VISANDO MINIMIZAR SEU IMPACTO AMBIENTAL

Eliane Rolim Florentino(1)

Engenheira Química – DEQ/CCT/UFPB – Mestre em Engenharia Civil sub área Engenharia Sanitária e Ambiental pela UFPB – Doutoranda do PPGEQ/UFRN. Prof^{ra}. do DQ/CCT/UEPB.

Sanderson de Freitas e Silva(2)

Aluno de Graduação de Engenharia Química - CT/UFRN.

Franklin Mastroiano da Silva(3)

Aluno de Graduação de Engenharia Química - CT/UFRN.

Everaldo Silvino dos Santos(4)

Engenheiro Químico – DEQ/CT/UFRN, Mestre em Engenharia Química pela FEQ/UNICAMP, Doutor em Engenharia Química pela FEQ/UNICAMP, Prof. do DEQ/CT/UFRN.

Gorete Ribeiro de Macedo(5)

Engenheira Química – DEQ/CT/UFRN, Mestre em Engenharia Química pela Escola Politécnica da USP, Doutor em Engenharia Química pela Escola Politécnica da USP, Prof^{ra}. do DEQ/CT/UFRN.

Endereço(1): Rua Prof. Emidio Cardoso, 2961, Bl. "B", Aptº 101 – Capim Macio - Natal-RN – CEP: 59078-420 Tel: (84) 207 3570



elianerf@yahoo.com.br

RESUMO

Neste trabalho utilizou-se o soro de queijo de coalho como fonte de nutrientes de uma fermentação alcoólica usando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Inicialmente extraiu-se o aglomerado protéico pela coagulação/floculação com o polieletrólito natural Quitosana, com precipitação das hidro-proteínas. Ao soro desproteínizado foi adicionado 100g/L de sacarose e inoculado com 5% do meio ativo contendo $1,5 \times 10^7$ UFC/mL da levedura *Saccharomyces cerevisiae* incubando-se durante 48 horas a 30°C com agitação de 180 rpm nas primeiras 12 horas. Durante o processo fermentativo foram avaliados 5 parâmetros: pH, açúcares redutores, nº de células de leveduras, massa seca e quantidade de etanol formada. Ao final do processo os resultados definiram uma produção de 46,8g de álcool por litro de fermentado.

PALAVRAS-CHAVE: Soro de Queijo, Produção de Etanol

INTRODUÇÃO

O soro é um subproduto do leite obtido durante a produção de queijo. No Brasil, os queijos tiveram um consumo recorde nestes últimos anos. Aliado a este aumento existe também a necessidade de se criar alternativas para a utilização do soro, principalmente pelos laticínios de pequeno e médio porte. O soro é um agente poluente potencial quando descartado no meio ambiente sem tratamento prévio. Sua descarga em cursos d'água pode provocar a destruição da fauna e da flora, principalmente por ser um resíduo com alta concentração de matéria orgânica, sujeita à rápida alteração pelos microrganismos e possuindo, conseqüentemente, uma elevada Demanda Bioquímica de

Oxigênio (DBO). Um litro de soro possui uma demanda de cerca de 30.000 a 50.000 mg de oxigênio, este valor é aproximadamente 100 vezes maior do que o de um esgoto doméstico. Uma fábrica com uma produção média de 10.000 L de soro/dia polui o equivalente a uma população de 5.000 habitantes (Siqueira *et al.*, 2002). Em média, para fabricação de 1 kg de queijo necessita-se de 10 litros de leite, recuperando-se 9,0 litros de soro. Considerando que a produção de queijos no Brasil está em torno de 450 mil toneladas/ano (Richards, 2002) isso corresponde a 4.050.000 toneladas de soro de queijo; o qual possui em sua composição 6,9% de sólidos totais (0,6% de sais minerais, 0,3% de gordura, 0,9% de proteínas, 5,0% de lactose, 0,1% de ácido láctico, resultante da fermentação da lactose). Esse volume equivale à aproximadamente 24.300 toneladas de sais minerais, 36.450 toneladas de proteínas, 12.150 toneladas de gordura e 202.500 toneladas de lactose evidenciando, dessa forma, seu potencial como agente poluente. Descartar soro sem um tratamento eficiente não é só um crime previsto por lei, mas é um desperdício (Santos, 2001). O presente trabalho tem como objetivo o aproveitamento do soro na produção de etanol por via fermentativa, com a finalidade de buscar alternativas para minimizar o impacto ambiental causado pelo despejo do soro no meio ambiente. Existem diversos métodos que podem ser utilizados para o aproveitamento do soro, porém nem todos são aplicáveis a qualquer indústria em função do investimento na tecnologia. A utilização do soro, em processos fermentativos, vem sendo estudada por vários pesquisadores (Hahn-Hagerdal, 1985; Silva e Castro-Gomez, 1995; Rubio-Teixeira *et al.*, 2000), uma vez que seu elevado conteúdo de lactose garante sua condição para ser utilizado como fonte de carbono por vários microrganismos.

MATERIAIS E MÉTODOS

MATÉRIA PRIMA

Para produção de etanol cultivou-se a *Saccharomyces cerevisiae* no soro de queijo Tipo Coalho, proveniente de queijeiras artesanais localizadas na região do Seridó no Estado do Rio Grande do Norte. O soro foi coletado logo após a sua obtenção, e colocado em recipientes plásticos, que permitiram seu resfriamento a 4°C, acondicionados em caixa de isopor contendo cubos de gelo. Após transporte para o Laboratório de Microbiologia e Engenharia Bioquímica do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, onde foi caracterizado do através das seguintes determinações: teor de umidade – determinado através de secagem em estufa à 105°C até peso constante; proteínas foi estimada pelo método biureto, teor de lactose, medido pelo método de Lane-Eynon que fundamenta-se na redução de um volume conhecido do reagente de cobre alcalino (Fehling) à óxido cuproso; o teor de gordura, acidez, densidade a 15°C e sais minerais seguiram os métodos analíticos oficiais do Ministério da Agricultura (Brasil, 1993). Antes da fermentação efetuou-se a extração das proteínas utilizando-se o polieletrólito Quitosana.

MICROORGANISMO

No presente trabalho o microrganismo utilizado foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae* obtida na forma de tabletes (Fermento Fleischmann Royal) adquirida em supermercados local.

PREPARO DO INÓCULO

Inicialmente dissolvia-se um tablete do fermento Fleischmann Royal em 100 mL do caldo glicosado 1% estéril. Em seguida, transferia-se uma alíquota desse caldo para placas de Petri contendo o meio YEPDA e incubava-se a 30°C durante 48 horas. O inóculo foi preparado transferindo-se colônias da *Saccharomyces cerevisiae* em placas para um Erlenmeyer de 250mL contendo 100mL do soro desproteínizado e incubando-se a 30°C com agitação de 180 rpm durante 24 horas.

EXPERIMENTO EM INCUBADOR ROTATIVO

O monitoramento do aumento da produção do etanol foi realizado em Erlenmeyer de 250mL contendo 100mL do soro desproteínizado, adicionado das seguintes substâncias, em g/l:

2,0 KH₂PO₄

2,0 (NH₄)₂SO₄

1,0 MgSO₄.7H₂O

0,5 Extrato de leveduras

0,1 MnSO₄

100,0 Sacarose

Os frascos foram inoculados com 5,0 mL do inóculo, correspondendo à $1,5 \times 10^8$ UFC/mL e incubado durante 48 horas à 30°C com agitação de 180 rpm nas primeiras 12 horas.

PROCEDIMENTO ANALÍTICO

As amostras foram coletadas assepticamente a cada 4 horas para determinação de pH, açúcares redutores, grau alcoólico, massa seca e concentração de células de levedura usando-se os seguintes métodos:

pH

O potencial hidrogeniônico foi determinado utilizando-se um Potenciômetro Digimed DM21.

AÇÚCARES REDUTORES

A concentração dos açúcares redutores foi determinada pelo método DNS. Nesse método a dosagem dos açúcares com poder redutor é realizada com base na redução, em solução alcalina, do ácido 3,5-dinitrosalicílico.

GRAU ALCOÓLICO

A quantidade de etanol formada foi determinada através da leitura direta em ebulliômetro modelo 3300.

MASSA SECA E CONCENTRAÇÃO CELULAR

A massa seca e a concentração celular foram obtidas por secagem em estufa a 105°C, até peso constante, e pela contagem de células em placas (UFC/mL), respectivamente.

RESULTADOS

CARACTERIZAÇÃO DO SORO

A Tabela 1 apresenta os resultados médios das análises que foram efetuadas na caracterização do soro de queijo de "Coalho" *in natura*.

Tabela 1: Caracterização do soro de queijo de "Coalho" *in natura*.

Densidade A 15°C (kg/m³)	Gordura (%)	Extrato Seco Total (%)	Umidade (%)	Sais minerais (%)	Lactose (%)	Proteína (%)	Cálcio (%)	Fósforo (%)	pH	Acidez °D
1.025,3	1,05	7,64	92,36	0,61	4,20	1,78	0,27	0,06	6,41	15

Existem vários fatores que sozinhos, ou combinados, podem viabilizar o aproveitamento do soro. As condições da matéria-prima, o processo utilizado, bem como as variáveis do processo, possibilita a obtenção de produtos com diferentes potenciais de aplicação na indústria alimentícia. O potencial de aproveitamento do soro depende ainda de suas características físico-químicas e microbiológicas. Devido ao alto valor nutritivo do soro e suas condições de umidade, temperatura e pH, favoráveis ao crescimento microbiano, sua vida útil é extremamente curta.

O soro analisado apresentou média protéica acima dos valores médios encontrados na fabricação de outros queijos fabricados por coagulação enzimática. Provavelmente, resultado de técnicas inadequadas de fabricação, desconhecimento microbiológico e comportamento obsoleto dos produtores. Vale ressaltar que 50% das proteínas estão sendo normalmente lançadas no meio ambiente.

Analisando os resultados observa-se que a média de gordura no soro do queijo analisado (1,05%) é bem maior que os

outros tipos de soro obtidos por coagulação enzimática, como por exemplo, os tipos "Minas Frescal" e "Minas Padronizado", que em escala industrial usando técnicas apropriadas apresentam teor de gordura na faixa de 0,2 a 0,5%. Dessa forma, presume-se a necessidade de técnicas apropriadas para a minimização das perdas inerentes a má manipulação do queijo de coalho artesanal. O valor médio de 1,05% representa 29% das gorduras totais do leite, considerando-se para o leite de 3,6% de gordura. Essa gordura constitui principal problema nos sistemas de tratamento.

A média de acidez encontrada foi maior que a média encontrada nos soros doces oriundos de queijos fabricados a partir de leite pasteurizado.

FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

A Figura 1 mostra os resultados obtidos de uma fermentação em incubador rotativo, em que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* cresceu sob agitação por 12 horas. Após esse tempo, suficiente para aumentar a massa celular, a agitação foi interrompida para permitir a fermentação alcoólica. Nesse caso, interrompeu-se a fermentação após 48 horas.

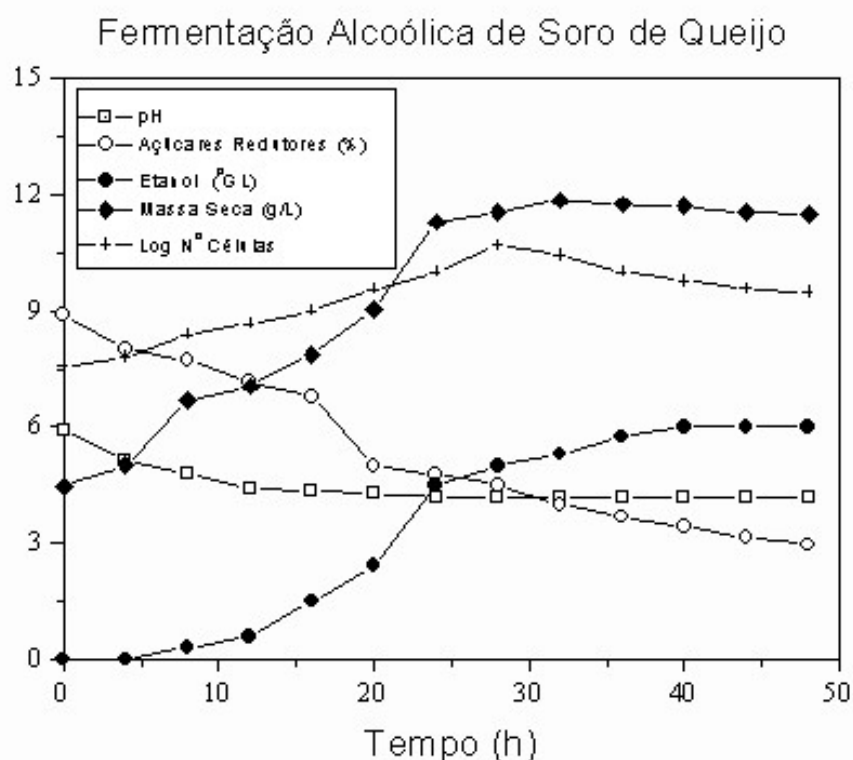


Figura 1: crescimento, consumo de açúcares e produção de etanol pela levedura *S. cerevisiae*

De acordo com a curva de crescimento da *S. cerevisiae* foi observado que o período de adaptação inicial da célula na síntese das enzimas responsáveis pela quebra da molécula de sacarose em moléculas de frutose e glicose durou cerca de 3 horas, conforme curva de crescimento de contagem de células. O reduzido tempo dessa fase (Lag) deve-se, provavelmente, a adaptação do microrganismo ao soro no meio de cultivo inicial, favorecendo dessa forma ao desenvolvimento celular. Esse fato pode ser confirmado pelo aumento da massa celular, que é favorecida pela agitação, desde o início da fermentação até o final da mesma. Observa-se que após trinta e duas horas de fermentação obtém-se a fase estacionária. Analisando a concentração dos açúcares redutores verificou-se o favorecimento da produção de etanol após a interrupção da agitação. A maior taxa de consumo de açúcares ocorreu entre 16 e 20 horas após o início do processo fermentativo. Após essa fase verificou-se um consumo gradativo ao longo do processo. Ao final do processo a concentração de açúcares redutores chegou a nível mínimo de 2,90 %. Esse valor refere-se, provavelmente, a lactose que não foi totalmente hidrolizada. Sabe-se que a *Saccharomyces cerevisiae* não possui a enzima β -galactosidase, dessa forma, essa levedura é incapaz de hidrolisar a lactose do soro. Uma possível explicação para a

redução do teor de lactose ao final do processo é devido a hidrólise parcial da lactose pelos microrganismos oriundos da flora láctea e de contaminantes do leite cru, que ficaram retidas no soro. Quanto à produção de etanol sua detecção num nível significativo ocorreu entre 18 e 48 horas com uma produção de 46,8g de álcool por litro de fermentado.

CONCLUSÕES

O aproveitamento do soro para produção de etanol apresentou-se como um possível meio para reduzir o impacto ambiental causado por esse resíduo.

O álcool produzido a partir do soro de queijo pode ser aproveitado para álcool comercial; produção de cachaça e como substrato para uma fermentação acética.

A adição da sacarose no soro de queijo pode aumentar a produtividade de etanol utilizando a *Saccharomyces cerevisiae*, obtendo uma fermentação com alto rendimento, redução do tempo de fermentação, eficiência no processo e diminuição dos custos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Ministério da Agricultura Secretária Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal [LANARA]. Métodos Analíticos Oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes – métodos físico-químicos, 1993.
2. HAHN-HAGERDAL, B. Comparison between immobilized *Kluyveromyces fragilis* and *Saccharomyces cerevisiae* coimmobilized with β -galactosidase, with respect to continuous ethanol production from concentrated whey permeate. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 27, p. 914-916, 1985.
3. RICHARDS, N. S. P. S. Soro lácteo – Perspectivas industriais e proteção ao meio ambiente. *Revista Food Ingredients – Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria de Alimentos e Bebidas*, nº 17, p.20-24, 2002.
4. RUBIO-TEIXEIRA, M., ARÉVALO-RODRÍGUEZ, M., LEQUERICA, J. L., POLAINA, J. Lactose utilization by *Saccharomyces cerevisiae* strains expressing *Kluyveromyces lactis* LAC genes. *Journal of Biotechnology*, v.84, p.97-106, 2000.
5. SANTOS, J. P. V., FERREIRA, C. L. L. F. Alternativas para o aproveitamento de soro de queijo nos pequenos e médios laticínios. *Revista do Instituto de Laticínios*, v.56, nº321, p.44-50, 2001.
6. SILVA, C. A., CASTRO-GOMEZ, R. J. H., Estudo de um processo fermentativo utilizando soro de leite e a levedura *Kluyveromyces fragilis*. *Semina Ci. Agr.*, v. 16, nº 01, p.17-21, 1995.
7. SIQUEIRA, I. M. C., SOUZA, M. R., CERQUEIRA, M. M. O. P., GLORIA, M. B.^a Importância e utilização dos derivados de soro de queijo. *Revista Higiene alimentar*, v.16, nº37, 2002.