



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS DE GURUPI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

IGOR ALVES LOPES

**CINÉTICA DE CRESCIMENTO DE LEVEDURA EM MOSTO DE
CAGAITA PARA PRODUÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA**

GURUPI (TO)
2018

IGOR ALVES LOPES

CINÉTICA DE CRESCIMENTO DE LEVEDURA EM MOSTO DE
CAGAITA PARA PRODUÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA

Monografia apresentada à UFT – Universidade
Federal do Tocantins – Campus Universitário de
Gurupi para obtenção do título de Engenheiro
Agrônomo, sob orientação do Prof. Dr. Clóvis
Maurílio de Souza

GURUPI (TO)
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

S237a Lopes, Igor Alves.
Cinética de crescimento de levedura em mosto de cagaita para produção
de bebida fermentada. /
Igor Alves Lopes. – Gurupi, TO, 2018.
36 f.
Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus
Universitário de Gurupi - Curso de Agronomia, 2018.
Orientador: Clóvis Maurílio de Souza
1. Cerrado. 2. Produção. 3. Conhecimento. 4. Monografia. I.
Título

CDD 630

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de
qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada
a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo
artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

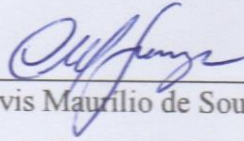
IGOR ALVES LOPES

CINÉTICA DE CRESCIMENTO DE LEVEDURA EM MOSTO DE
CAGAITA PARA PRODUÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA

Monografia apresentado à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Gurupi, Curso de Agronomia, foi avaliado para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

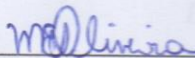
Aprovada em: 07 / 12 / 2018

BANCA EXAMINADORA



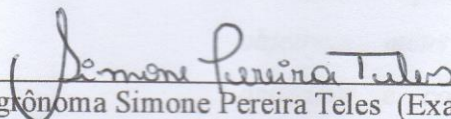
Prof. Dr. Clóvis Maurílio de Souza (Orientador)

Universidade Federal do Tocantins (UFT)



Prof.ª Dra. Mara Elisa Soares de Oliveira (Examinadora)

Universidade Federal do Tocantins (UFT)



Eng.ª Agrônoma Simone Pereira Teles (Examinador)

Universidade Federal do Tocantins (UFT)

Dedico este trabalho primeiramente a DEUS, por me ter concedido sabedoria e perseverança, a minha amada família, meu alicerce e apoiadora dos meus sonhos e objetivos, meus grandes amigos por suas amizades e companheirismo e aos meus professores da UFT, responsáveis pelo excelente aprendizado.

AGRADECIMENTOS

À DEUS pelas oportunidades, sabedoria, perseverança e vitórias que tem me proporcionado.

À minha amada família por ter me apoiado nas minhas decisões, meus sonhos e objetivos, meu Pai Nestor, minha mãe Raimunda e meu irmão Yuri.

À Brenda que assim como eu, nesse último ano estive muito ansiosa pela minha formatura, e estive sempre do meu lado nas horas que estive desanimado.

Aos meus grandes amigos (as) que sempre estiveram ao meu lado, seja nos estudos, em horas de diversão, na alegria ou no sufoco, agradeço a todos, pois aprendi algo com todos vocês, mesmo que pouco, agradeço a todos pelo prazer de tê-los como amigos, em especial aos amigos da turma 2013/1.

Agradeço a equipe de professores da UFT do curso de Agronomia e Engenharia Florestal pelo aprendizado e experiências.

Ao Prof. Dr. Clóvis Maurílio de Souza, pela excelente orientação, pela paciência e pelo aprendizado.

Aos participantes da banca examinadora, Prof. Dr. Clóvis Maurílio de Souza, Prof.^a. Dra. Mara Elisa Soares de Oliveira, Eng.^a Agrônoma Simone Pereira Teles.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a minha formação, tanto profissional, quanto pessoal.

RESUMO

Objetivo deste trabalho foi realizar o estudo inicial da cinética de crescimento de levedura para servir como base para futuros estudos visando determinar a potencialidade do mosto de cagaita como fonte de substrato na fermentação alcoólica de *S. cerevisiae* visando a produção de bebida fermentada. Os frutos foram coletados na região sul do estado de Tocantins e após clarificação foi realizado a inoculação com concentração inicial de $1,8 \times 10^3$ Células por ml. Os parâmetros analisados foram, pH, teor de sólidos solúveis e densidade ótica a 550nm e taxa de crescimento celular. Como resultados observamos que o TSS (Teor de sólidos solúveis Totais) inicial apresenta valor bem acima do encontrado em outras frutas como cajá, melancia e caju, os valores de pH inicial do mosto encontra-se abaixo da maioria dos dados da literatura e abaixo do considerado ideal para o crescimento de leveduras e ainda que a velocidade de crescimento abaixo da maioria dos dados disponíveis na literatura são possivelmente decorrentes de fatores nutricionais ou em relação à cepa utilizada.

Palavras-chaves: *Eugenia dysenterica*, fermentação submersa, bebida.

ABSTRACT

The objective this work was the initial study of growth kinetics of yeast to serve as a basis for future studies to determine the potential of the wort cagaita as a source of substrate in the fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* aimed at producing of fermented drink. Fruits were collected in the southern state of Tocantins and after clarification was conducted inoculation with initial concentration of 1.8×10^3 cells per ml. The analyzed parameters were pH, soluble solids, and optical density at 550nm and cell growth rate. As a result we observe that the initial TSS(soluble solids content) presented value well above that found in other fruits like cajá, watermelon and cashew, the values of initial pH of the wort is below the majority of the literature data and below the considered ideal for the growth of yeasts and although the growth rate was lower than most of the data available in the literature is possibly arising from nutritional factors or relative to the strain used.

Keywords: *Eugenia dysenterica*, Submerged fermentation, Drink;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 — Micropipeta, micro tubos, materiais usados.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 — Consumo de sacarose e aumento da densidade óptica 550nm em função do tempo de fermentação.

Gráfico 2 – Variação do pH e da densidade ótica, em função do tempo de fermentação.

Gráfico 3 – Dados de log natural do valor de biomassa versus tempo para determinação de μ_{max} .

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
REFERÊNCIAS	21

1. INTRODUÇÃO

Devido à grande diversidade de frutas tropicais existente no país, podemos observar um aumento do consumo e o surgimento de diversos trabalhos com o enfoque na produção de bebidas fermentadas, tais como: cajá, figo da índia, jaca e melancia. (Torres Noto et. al., 2006; Chagas, 2008; Assis Neto, 2010; Fontan, 2011). Tais trabalhos surgem da necessidade de melhorar o aproveitamento destas frutas bem como para agregação de valor as mesmas, possibilitando assim o surgimento de novas fontes de obtenção de renda.

Entre as leveduras mais utilizadas na fermentação alcoólica, *Saccharomyces cerevisiae* merece destaque principalmente por seu vasto uso em diversos processos dentre os quais panificação, cervejaria, destilaria, entre outros e seu uso foi possível desde então, devido à sua capacidade de converter rapidamente açúcares em etanol, ácidos orgânicos e gás carbônico.

O processo de fermentação alcoólica realizado por *S. cerevisiae* é resultado da transformação dos açúcares redutores presentes no mosto em álcool, dióxido de carbono (CO₂) e em menor escala gliceróis, álcoois superiores, aldeídos, ésteres e acetatos. Tais compostos minoritários conferem coloração e sabor característicos da bebida fermentada (Gava, 1984; apud Fontan, 2011; Janzantti, 2004).

Segundo a legislação brasileira, fermentados de fruta são bebidas com graduação alcoólica que varia de 4 a 14% v/v a 20°C, obtidos a partir da fermentação de mosto de fruta sã, fresca e madura de uma única espécie, do respectivo suco integral ou concentrado, ou polpa, que poderá nestes casos, ser adicionado de água. (Brasil, 2009).

A cagaita (*Eugenia dysenterica*) é uma árvore frutífera que ocorre no cerrado ou cerradão e frutifica entre outubro e dezembro. Com até 10 m de altura e com frutos globoso, amarelo-claro e levemente ácidos são muito apreciados e seu uso alimentar é amplo. De acordo com Calbo (1990), pode ser utilizado na fabricação de vinagre, álcool, geleias e sorvetes sendo consumido principalmente na forma in natura.

Apesar do agradável sabor ácido e textura macia, a cagaita deve ser consumida observando alguns cuidados. Isso porque o fruto, se consumido aquecido pelo sol e em grande quantidade, tem um forte efeito laxativo. Essa é uma das explicações populares para o nome “cagaita”. Já as folhas têm efeito constipador. Além das atribuições medicinais e de produzir um suco muito saboroso, o fruto é utilizado na fabricação de produtos beneficiados, como picolés e sorvetes. Pesquisas acadêmicas apontam que a

cagaita é rica em vitamina C e antioxidantes. A polpa, com ou sem a casca, é energética, com baixo teor calórico. (Cerratinga, 2018)

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi realizar o estudo inicial da cinética de crescimento de levedura, visando determinar a potencialidade de cagaita como fonte de substrato na fermentação de *Saccharomyces cerevisiae* para a produção de bebida alcoólica fermentada.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A produção da bebida alcoólica fermentada de cagaita foi realizada no Laboratório de Processamento de Produtos Agropecuários da Universidade Federal do Tocantins, Campus Universitário de Gurupi.

Quanto a matéria prima, a coleta dos frutos foi realizada na região sul do estado de Tocantins, no município de Figueirópolis. Os frutos maduros, de caducidade espontânea, foram coletados do chão, manualmente.

Para o preparo do mosto e realização do experimento foram selecionados somente frutos maduros de bom aspecto (sem injúria física, podridão ou contaminação visível) que foram lavados em água clorada e enxaguados em água corrente.

Realizou-se o despulpamento manual, seguido de passagem em peneira, para a remoção das sementes, e separação do bagaço. A polpa foi embalada em sacos plásticos e congelada a -10°C sem aditivo químico até seu uso nos trabalhos.

Para a preparação do mosto a polpa foi descongelada, por 12 horas, a temperatura ambiente (28°C) em seguida a polpa foi sulfitada para inibir a ação de leveduras acéticas e lácticas, além de facilitar a dissolução de taninos que dão cor a bebida, com a adição de metabissulfito de potássio na proporção de $0,1\text{g. L}^{-1}$. O metabissulfito foi adicionado uma única vez antes da adição do inóculo.

O microrganismo *S. cerevisiae* utilizado neste experimento foi obtido através de fermento biológico comercial liofilizado para panificação (marca Fleischmann®) proveniente do comércio local da cidade de Gurupi – TO.

A fração inicial do mosto foi preparada com 10% v/v com adição de $0,75\text{ g.L}^{-1}$ de fermento biológico com a qual se obteve uma concentração inicial de $1,8 \times 10^3$ Células por ml. o mesmo foi mantido a 28°C por 12 h.

O inóculo foi transferido ao fermentador principal constituído por um Erlenmeyer de 500 ml contendo 300 ml de volume de trabalho, o cultivo foi realizado a baixa concentração de oxigênio em placa agitadora a 160 rpm a 28°C .

Durante o processo fermentativo foram coletadas alíquotas de 10 ml, em intervalos constantes a cada hora durante a observação da fase *lag* – 8 primeiras horas – e com início da fase *log* as alíquotas passaram a serem retiradas a cada trinta minutos – entre a 8ª e a 20ª hora.

Os parâmetros analisados foram, pH obtido por medição direta com uso de pHmetro de bancada, teor de sólidos solúveis totais expressos em °Brix medido com refratômetro de bancada e densidade ótica a 550nm em espectrofotômetro.

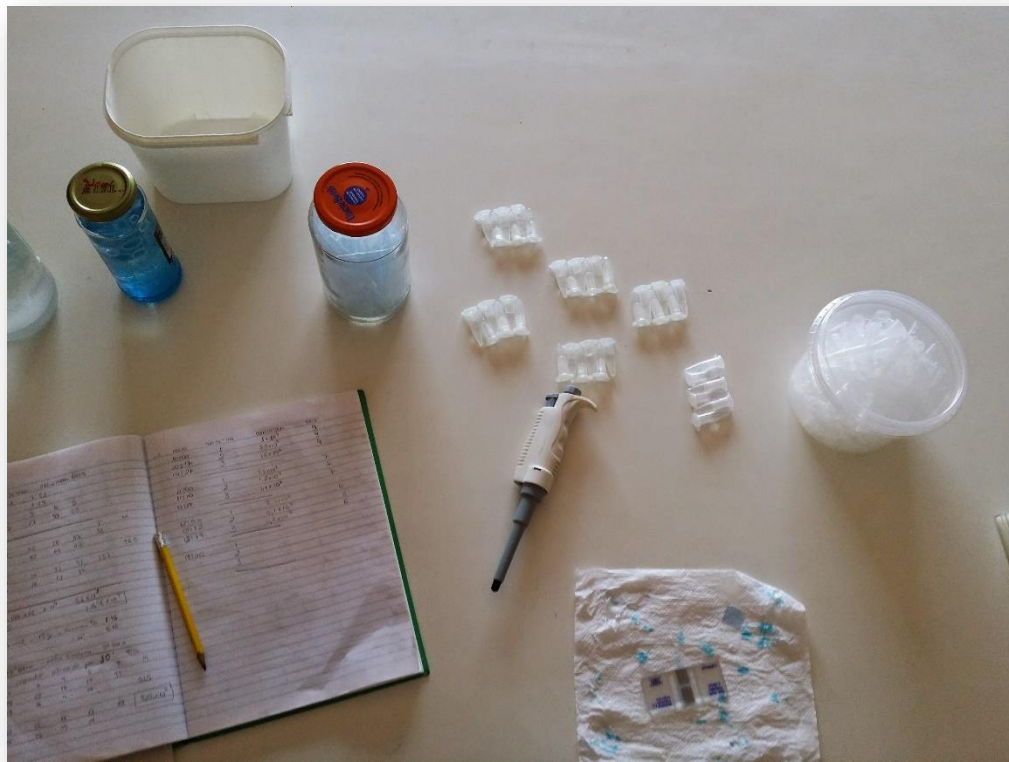
Durante a fase exponencial de crescimento celular no processo fermentativo, a taxa de crescimento é proporcional à concentração celular. Admitindo-se que nessa fase a velocidade específica de crescimento celular é constante, ela pode ser determinada a partir da Equação 02 (Stroppa et al., 2009):

$$\frac{dx}{dt} = \mu X \Rightarrow \ln X = \ln X_0 + \mu \cdot t$$

Onde μ é a Velocidade Específica de Crescimento (h^{-1}).

A quantificação de células foi determinada por contagem em câmara de Neubauer. As amostras foram retiradas do fermentador e procedeu-se diluição seriada em água peptonada com posterior homogeneização dos tubos em agitador do tipo vórtex. Azul de metileno (0,1%) foi adicionado para a coloração de células inviáveis e a contagem foi realizada em microscópio ótico (Figura 1).

Figura 1 – Micropipeta, micro tubos, materiais usados.

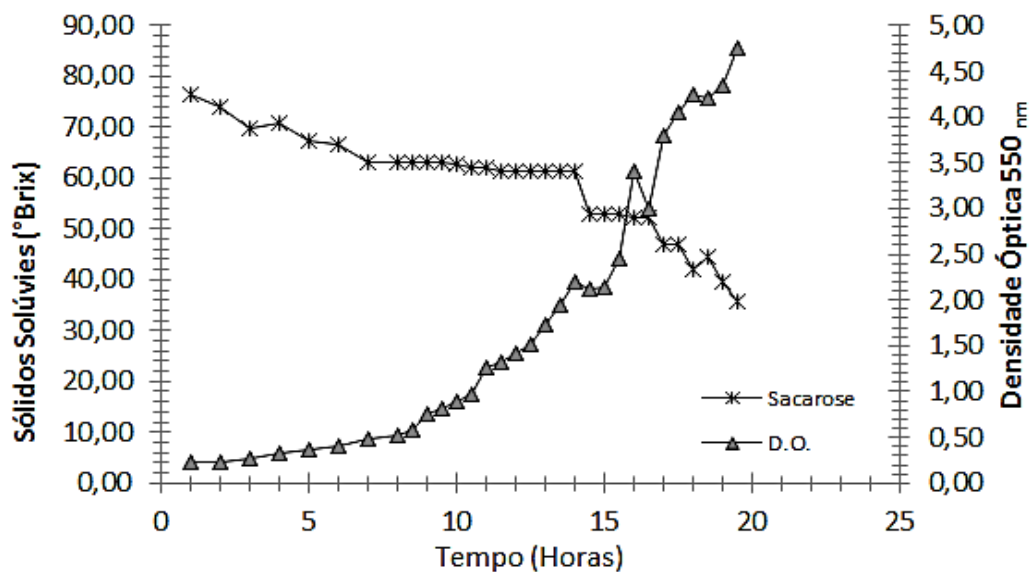


4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O mosto de cagaita utilizado apresentou inicialmente TSS (Teor de Sólidos Solúveis Totais) de 11,6° Brix e pH inicial de 3,12.

Analisando os resultados do gráfico 1 verifica-se que durante o processo fermentativo houve um constante declínio do teor de sólidos solúveis em decorrência do consumo do substrato pelo microrganismo para produção de biomassa, até atingir níveis próximos de 5,9° Brix após 19 horas de fermentação. Apesar de a coleta ser realizada até a 20ª hora, ainda se observa uma tendência de continuidade do crescimento celular evidenciado pela curva de crescimento e ao não esgotamento de substrato no mosto.

Gráfico 1 – Consumo de sacarose e aumento da densidade óptica 550nm em função do tempo de fermentação.



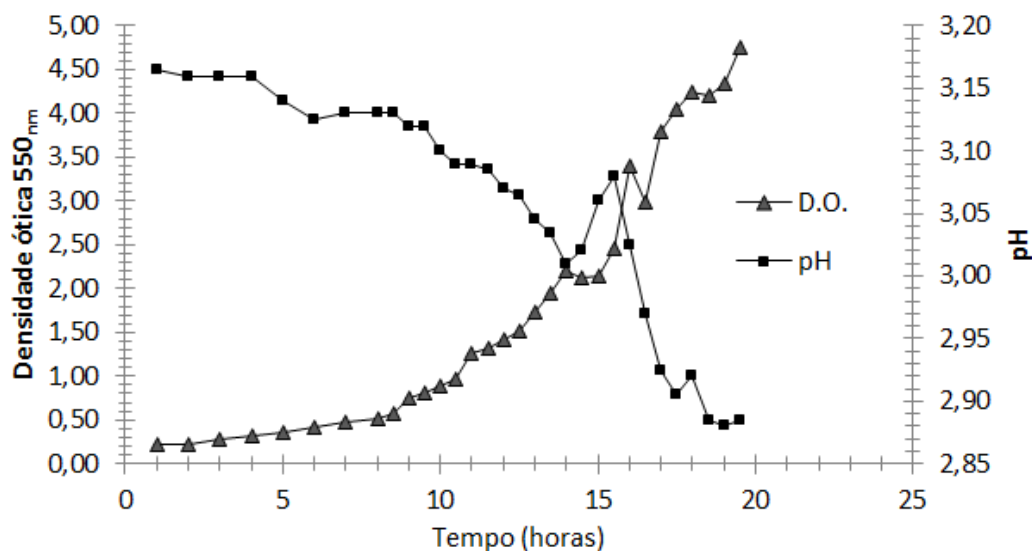
O gráfico 2 mostra as variações do pH e da densidade óptica 550nm durante o processo fermentativo. Pode-se observar que o pH decresceu de 3,17 para 2,89, e em contrapartida, o crescimento celular evidenciado pela leitura realizada ainda continua exponencialmente crescente até o final do período. Esta redução no pH é resultado principalmente do aumento da acidez total ao longo do processo fermentativo e são decorrentes da produção de ácidos orgânicos, como ácido lático e succínico pelas leveduras (Borzani et al.,1983).

Podemos observar que mesmo a faixa de pH do ensaio estando fora do considerado ideal para o crescimento da levedura – 4 a 4,5 – (Lopes et al., 2005), não houve inibição do crescimento. Há duas possibilidades para explicar tal fato, a primeira se refere à tolerância da

cepa inoculada a baixos valores de pH e elevadas concentrações de ácidos no substrato e a segunda estaria associada à presença de leveduras selvagens já presentes no mosto antes da inoculação também com tal tolerância.

Esta resistência influencia diretamente na acidez do produto final e está relacionado com a estabilidade e coloração da bebida fermentada favorecendo assim a qualidade e aceitação comercial do produto e diminuição da probabilidade de contaminação consequentemente aumentando a durabilidade do produto.

Gráfico 2 – Variação do pH e da densidade ótica, em função do tempo de fermentação.

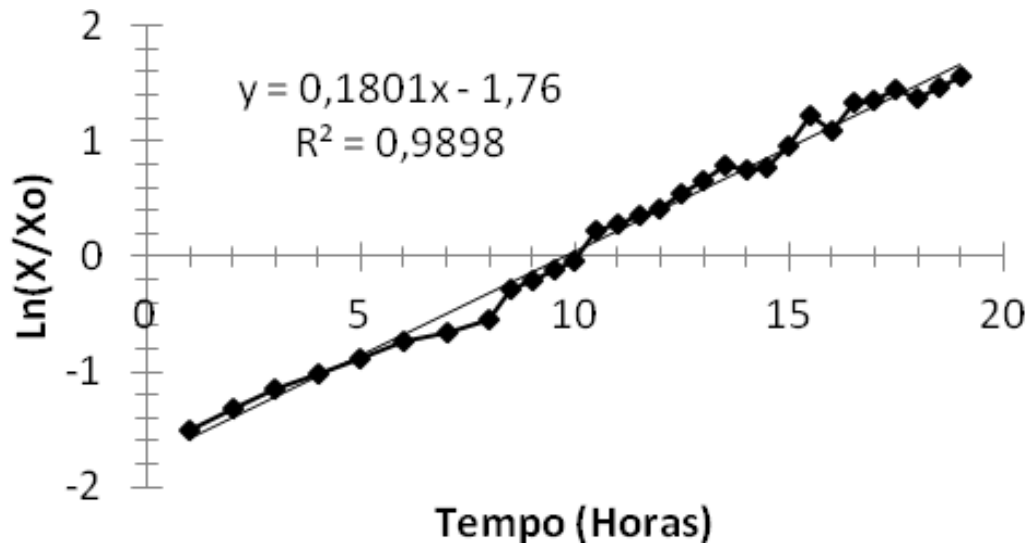


Com base na cinética de crescimento realizada pela levedura no mosto de cagaita foi possível calcular a velocidade de crescimento celular μ_{\max} . Sendo essa obtida pelo coeficiente de inclinação da reta encontrado no gráfico 3 a qual é de $0,1801 \text{ h}^{-1}$. O coeficiente de correlação (R^2) da regressão linear pode ser considerado elevado ($0,9898$), mostrando bom ajuste aos dados experimentais.

Em comparação a revisão sobre parâmetros cinéticos elaborados por Alves (1996) em que ele relata valores de μ_{\max} entre $0,19$ e $0,64 \text{ h}^{-1}$ este trabalho apresenta um μ_{\max} baixo ($0,1801$). A velocidade específica de crescimento pode ter sido influenciada por fatores nutricionais inerentes do mosto bem como as condições de cultivo tais como aeração, pH e temperatura.

Também devido a mesma ser oriunda de cepas utilizadas na panificação, pois essas são especializadas principalmente na produção de gás carbônico ao contrário de leveduras utilizadas para a produção de etanol na vinificação.

Gráfico 3 – Dados de log natural do valor de biomassa versus tempo para determinação de μ_{max} .



5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O TSS (Teor de sólidos solúveis Totais) inicial apresenta valor bem acima do encontrado em frutas como cajá, melancia e caju, demonstrando a potencialidade da polpa de cagaita para sua utilização como substrato na produção de bebida fermentada;

O pH inicial do mosto encontra-se abaixo da maioria dos dados da literatura e abaixo do pH considerado ideal para o crescimento de leveduras;

A velocidade de crescimento celular baixa possivelmente é decorrente de fatores nutricionais ou em relação à cepa utilizada;

Ainda para produção de bebida fermentada, trabalhos futuros são necessários para analisar a possível viabilidade da cagaita.

REFERÊNCIAS

ALVES, J. G. L. F. 1996. **Estudo da influência da temperatura na cinética de crescimento anaeróbico de *Saccharomyces cerevisiae***. 69 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.

ASSIS NETO, E.F.; CRUZ, J.M.P.; BRAGA, A.C.C.; SOUZA, J.H.P. 2010. Elaboração de bebida alcoólica de Jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. 04. 186-197.

BORZANI, W.; AQUARONI, E.; LIMA, U.A. **Engenharia Bioquímica**, v.3 São Paulo.1983.

CERRATINGA, Produção sustentável e consumo consciente. Disponível em: < <http://www.cerratinga.org.br/cagaita/> > acessado em: 28 de novembro de 2018

CHAGAS, N. V.; ROSA, M. R.; REIS, A. H.; TORRES, T. R.; SANTOS, J. M. T.; RIGO, M. 2008. Estudo de Cinética de Fermentação Alcoólica por Células de *Saccharomyces Cerevisiae* em Mel Diluído. **Revista Ciências Exatas e Naturais**. 10. 201-204

CALBO, M. E. R.; LIMA, J. N. C.; CALBO, A. G. 1990. Fisiologia pós-colheita de frutos de cagaita. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília. 2. 15-18.

FONTAN, R. C. I.; VERISSIMO, L.A.A.; SILVA, W. S.; BONOMO, R. C. F.; VELOSO, C. M. 2011. **Cinética da Fermentação alcoólica na elaboração de vinho de melancia**. Cipa. 29. 203-210.

JANZANTTI, N. S. 2004. **Compostos voláteis e qualidade de sabor de cachaça**. 179f. Tese (Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas. São Paulo.

LOPES, R. V. V.; SILVA, F. L. H. 2006. Elaboração de fermentados a partir do figo-da-índia. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**. 6. 76-80.

LOPES, R. V. V.; ROCHA, A. S.; SILVA, F. L. H.; GOUVEIA, J. P. G. 2005. Aplicação do planejamento fatorial para otimização do estudo da produção de fermentado do fruto da palma forrageira. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. 7. 25-32

STROPPIA, C. T.; ALVES, J. G. L. F.; FIGUEIREDO, A. L. F.; CASTRO, C. C. 2009. Parâmetros cinéticos de linhagens de levedura isoladas de alambiques mineiros. **Ciência e Agrotecnologia**. 33. 1978-1983.

TORRES NETO, A. B.; SILVA, M. E.; SILVA, W. B.; SWARNAKAR, R.; SILVA, F. L. H. 2006. Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). **Química Nova**. 29. 489-492.