

PROCESSOS FERMENTATIVOS PARA A PRODUÇÃO DE LEVEDURAS DE PANIFICAÇÃO A PARTIR DO SUCO DE SISAL

Ana Rosa Pereira de Oliveira¹; Pablo Rodrigo Fica Piras²

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: anarosa.88@hotmail.com
2. Orientador, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: pafipi@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: Sisal, Levedura, Biomassa.

INTRODUÇÃO

O sisal – Agave sisalana Perrine, Amarilidaceae – é planta originária do México, é importante fibra dura no comércio mundial. É cultivado em regiões semi-áridas de países subdesenvolvidos e em desenvolvimento. No Nordeste destacam-se os estados de Paraíba e Bahia (SEAGRI, 1995).

A composição aproximada do resíduo líquido de sisal (RLS, Agave sisalana Perr.) tem sido analisada recentemente, como parte de um grupo de trabalhos realizados na Faculdade de Farmácia da UFBA em percentagem: umidade 93,5; cinzas 0,5; proteína bruta 0,2; lipídios totais 0,4; carboidratos 5,3; ferro 0,014; cálcio 0,134 (CAMPOS, 2010). O suco ou a seiva vegetal são os resíduos provenientes do desfibramento do sisal, consiste na separação da polpa e suco da fibra mediante esmagamento, que em poucos casos são utilizados como adubo ou alimento para ruminantes (ANDRADE, 2010).

Saccharomyces cerevisiae é uma levedura que se reproduz através de brotamento, e é utilizada para a fabricação do pão, onde o dióxido de carbono produzido pelo crescimento da massa gera o crescimento do pão. O ciclo de vida de *S. cerevisiae* é muito rápido, quando comparado com o de outros microrganismos, alcançando uma fase exponencial em 24 horas, dependendo das condições da cultura.

Baseado em Carvalho & Sato (2001), mencionado por Malta (2006), a fermentação descontínua é também conhecida por fermentação por batelada ou processo descontínuo de fermentação. Tem a característica principal de no instante inicial o mosto é inoculado com microrganismos e incubado, de modo a permitir que a fermentação ocorra sob condições ótimas. No decorrer do processo fermentativo nada é adicionado.

A biomassa de levedura, em sua forma integral ou de seus derivados, apresenta elevado valor nutritivo, baixo custo de produção e tem sido largamente utilizada como ingrediente na formulação de um amplo espectro de produtos alimentícios para humanos (ALVIM; SGARBIERI; CHANG, 2001).

Neste trabalho, utilizou-se o suco de sisal para produção de biomassa pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*. O crescimento da biomassa foi acompanhado por fermentações com o suco de sisal bruto e com adição de sacarose monitorando-se o teor de sólidos solúveis (°Brix) e o pH do mesmo. Tendo como objetivo aprofundar a caracterização do suco residual de sisal, estabelecer as condições favoráveis (pH, temperatura, formulação do meio, aeração, agitação, estratégia de alimentação) para conduzir a fermentação de produção de levedura, verificar a aplicabilidade à fermentação de massas e por fim contribuir à síntese do processo de produção de levedura de panificação a partir de suco de sisal otimizado.

METODOLOGIA

1. Caracterização do Suco de Sisal:

1.1. Coleta do sisal e extração do suco de sisal:

O sisal foi coletado no campus da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), cortando-o em pequenos pedaços. O sisal foi higienizado e depois moído num moinho de martelos, onde se obteve o suco com presença da fibra. Este suco foi então filtrado em um

tecido de algodão seco e limpo, colocado em vasilhames plásticos e conservado no congelador.

1.2. Caracterização do suco de sisal:

A caracterização do suco de sisal foi feita através de análises físico-químicas a partir da determinação de umidade por Secagem direta em estufa a 105°C, de cinzas por Incineração em mufla a 550°C, determinação de proteínas, pelo Método de Kjeldahl clássico, e de lipídeos por Extração direta em Soxhlet, de acordo com a metodologia recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Determinou-se também o teor de sólidos solúveis (°Brix) e o pH do suco.

2. Produção de biomassa

Inicialmente foi medido em uma proveta 250mL do suco de sisal transferindo-o para um erlenmeyer de 500mL, foi feita a esterilização do suco por 15 minutos à 121°C. Após a esterilização, o caldo de sisal atingiu a temperatura ambiente, foram medidos o °Brix e o pH e logo após, inoculou-se 5g (20g/1L) de fermento liofilizado. O erlenmeyer com o suco de sisal, após a inoculação, foi incubado no shaker à 30°C sob uma agitação de 100 rpm. A cada hora amostras foram coletadas para análises do teor de sólidos solúveis (°Brix) no refratômetro, do pH e do crescimento da biomassa. Em outro experimento, após a esterilização, foi adicionado 30g açúcar (sacarose) e 2g de levedura no caldo de sisal bruto para a correção de carboidratos do caldo de sisal.

2.1. Determinação de Biomassa (peso seco):

Foi coletada uma amostra de 10mL do suco de sisal a cada hora, durante 24 horas, transferindo-se para um tubo de centrífuga. A amostra foi centrifugada por 10 minutos com rotação de 4000rpm, o sobrenadante foi colocado em um tubo de ensaio e a biomassa obtida no fundo do tubo de centrífuga, transferida para um cadinho previamente pesado. O cadinho com a amostra foi colocado na estufa à 105°C, até atingir peso constante.

2.2. Método DNS

O método DNS foi descrito segundo de Miller (1959).

3. Cálculo da Formação da Biomassa:

O cálculo da concentração de biomassa é dado pela seguinte equação:

$$[Biomassa] = \text{Peso do cadinho com amostra seca} - \text{Peso do cadinho previamente pesado}$$

A partir desse resultado obtido para uma amostra de 10mL (quantidade centrifugada), fez-se a equivalência para o volume de amostra que foi utilizado inicialmente de caldo bruto, e posteriormente o valor da formação de biomassa para um litro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas de sisal foram colhidas no próprio campus principal da UEFS, em Novo Horizonte, Feira de Santana. O suco de sisal, após a sua extração, foi colocado em vasilhames plásticos e conservado no congelador para evitar a fermentação indesejada do mesmo. Os resultados obtidos, expressos na tabela 1, com as análises foram superiores aos encontrados na literatura (CAMPOS, 2010), devido à variação da planta, ao tipo de cultivo e à composição do próprio sisal.

Tabela 1: Composição centesimal do resíduo líquido do sisal.

Análises	Composição (%)	
	Bibliografia*	Este trabalho
Umidade	93,5	92,6
Cinzas	0,5	1,4
Proteína bruta	0,2	1,4
Lipídios totais	0,4	2,2
Carboidratos	5,3	2,4

*Valores referenciados por Campos,2010.

Após esta caracterização, foram feitas três fermentações com o suco de sisal para avaliar o crescimento da biomassa. As fermentações foram realizadas sob condições favoráveis, a

temperatura de 30°C sob uma agitação de 100rpm, ao crescimento da levedura atuante, neste caso, *Saccharomyces cerevisiae*.

Primeiramente, realizou-se uma fermentação em triplicata e analisada os sólidos solúveis (°Brix), o pH e a biomassa final produzida (tabelas 2 e 3). O teor de sólidos solúveis (°Brix) sofreu oscilações em todas as amostras, podendo ter ocorrido erros durante a leitura e também, entre os erlenmeyers utilizados já que foi feito em triplicata. Assim não se pode verificar o real consumo de açúcares da levedura a partir desse parâmetro.

Tabela 2: Análise em triplicata do teor de sólidos solúveis e pH em 24 horas de fermentação

Tempo (hora)	Sólidos Solúveis			pH		
	1	2	3	1	2	3
1	7,50	8,50	6,25	5,0	5,0	5,0
2	7,00	8,50	6,25	5,0	5,0	5,0
3	7,00	9,50	5,50	5,0	5,0	5,0
4	6,25	9,00	5,00	5,0	5,0	5,0
5	6,80	9,00	5,30	5,0	5,0	5,0
6	6,25	9,00	5,15	5,0	5,0	5,0
18	6,50	9,25	5,80	5,0	5,0	5,0
20	7,75	9,50	5,15	5,0	5,0	5,0
22	7,50	9,00	5,10	5,0	5,0	5,0
24	6,75	9,00	6,00	5,0	5,0	5,0

Teor de sólidos solúveis em °Brix

Tabela 3: Análise em triplicata da produção de biomassa após 24 horas de fermentação.

Amostra	1	2	3
Biomassa (g/1L)	8,34	9,66	8,81

No segundo experimento, o crescimento da biomassa foi analisado a cada hora de fermentação, assim como, foi medido o teor de sólidos solúveis e o pH, valores expressos na tabela 4. A oscilação dos valores dos sólidos solúveis (°Brix) permaneceu durante toda fermentação. O crescimento da biomassa durante cada hora da fermentação sofreu pequenas variações, na terceira hora atingiu seu ponto máximo de 20,45 g/1L, sendo este valor estatisticamente igual ao valor de inoculação inicial (20g/L).

Tabela 4: teor de sólidos solúveis, pH e valores de biomassa durante 24 horas de fermentação.

Tempo (hora)	Sólidos solúveis	pH	Biomassa (g/1L)
1	10,00	5	20,51
2	9,00	5	21,82
3	9,25	5	22,45
4	10,00	5	21,55
5	10,50	5	19,30
6	10,00	5	21,20
7	10,50	5	20,19
8	10,00	5	19,37
22	11,00	5	17,52
23	12,00	5	16,66
24	11,15	5	17,55

A biomassa inicial inoculada, na terceira fermentação, foi a mesma das fermentações anteriores (20g/L). A correção do percentual de carboidrato (sacarose) no caldo de sisal

proporcionou um aumento na concentração da biomassa, expresso na tabela 5, em relação às fermentações realizadas anteriormente no caldo de sisal bruto. Houve um crescimento da biomassa de, aproximadamente, cinco vezes em relação as duas primeiras horas da fermentação feita com o caldo bruto (tabela 4) sem adição de qualquer outro substrato para o crescimento da levedura.

Tabela 5: Concentração de Biomassa durante cada hora de fermentação após correção do caldo com 30g de sacarose.

Tempo (h)	Biomassa (g/L)
0	20
2	115,14
4	89,15
6	50,71
8	41,05
14	32,72
16	23,54

A quantidade de oxigênio presente no meio pode ter sido o fator primordial para a baixa produção de biomassa e conseqüente morte das células após a terceira hora de fermentação. Os inibidores, como os esteróides (em particular a hecogenina) presentes no caldo, que não foram inativados durante a esterilização, também podem ter acarretado este comportamento da levedura. Mesmo com crescimento exíguo, ou sem crescimento, a biomassa coletada apresentou aparência sensorial característica do suco do sisal (aroma vegetal e cor verde), o que foi passado à massa de panificação quando utilizada como fermento.

CONCLUSÃO

A caracterização do suco de sisal é de suma importância, já que, poucos são os dados encontrados da mesma na literatura, como por exemplo, a citada neste trabalho de CAMPOS, 2010. O crescimento de biomassa não foi estatisticamente considerável utilizando o suco de sisal bruto, apenas a esterilização para a inativação de inibidores como os esteróides (em particular a hecogenina) não foi parâmetro para melhorar o crescimento. O teor de sólidos solúveis (°Brix) sofreu oscilações durante as fermentações e o pH permaneceu constante (pH=5) inibindo crescimento microbiano. Houve uma maior produção de biomassa quando foi corrigido o percentual de carboidratos com a adição de 30g de açúcar (sacarose), sendo que o pico de crescimento acontece nas três primeiras horas.

Mesmo com crescimento exíguo, ou sem crescimento, a biomassa coletada apresentou aparência sensorial característica do suco do sisal (aroma vegetal e cor verde), o que foi passado à massa de panificação quando utilizada como fermento.

REFERÊNCIAS

- BORZANI, Walter. *Biotechnologia industrial*. Sao Paulo: E. Blucher, 2001. 1v.
- CAMPOS, M.I. 2010. *Fermentação de suco de sisal para a produção de goma xantana*. Dissertação MSc, Fac. Farmácia, UFBA.
- SEAGRI.2010. *Cultura Sisal*. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/Sisal.htm#Aspectos%20Gerais>> Acesso em: 31 mai 2011.
- ALVIM, I.D; SGARBIERI, V.C.; CHANG, Y.K. *Desenvolvimento de farinhas mistas extrusadas à base de farinha de milho, derivados de levedura e caseína*. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas: 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v22n2/a12v22n2.pdf>>. Acesso em: 01 de jun de 2011.
- ANDRADE W. 2010. *O Sisal do Brasil*. Disp. em: <http://www.braziliansisal.com/?page_id=17&lang=pt>. Acesso em: 4 fev de 2011