



CONTAMINAÇÕES EM CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR: UMA AVALIAÇÃO TEMPORAL

L. A. M. Lisboa^{1*}; I. M. Pascoaloto²; R. da S. Viana³; P. R. M. Lopes⁴;
P. A. M. de Figueiredo⁴

¹Fundação Dracense de Educação e Cultura, Dracena, SP, Brasil.

²UNESP – Univ Estadual Paulista, Campus de Ilha Solteira, Ilha Solteira, SP, Brasil

³Faculdade Tecnológica de Araçatuba, Araçatuba, SP, Brasil

⁴UNESP – Univ Estadual Paulista, Campus de Dracena, Dracena, SP, Brasil

Article history: Received 03 September 2015; Received in revised form 21 September 2015; Accepted 23 September 2015; Available online 30 September 2015.

RESUMO

A qualidade do caldo de cana-de-açúcar utilizado durante a produção de etanol é fundamental para uma produção de etanol eficiente, ausente de contaminantes químicos e biológicos que prejudicam e aumentam o custo do processo no setor sucroalcooleiro. Por conseguinte, o objetivo deste trabalho foi analisar dois períodos anuais de processamento da cana-de-açúcar em quatro anos consecutivos na determinação dos aspectos microbiológicos no caldo dentro da cuba de fermentação. Coletaram-se 100 amostras de uma usina sucroalcooleira, localizada no Estado de São Paulo, com avaliação das seguintes características: leveduras (vivas, mortas, totais e concentração), bastonetes (quantidade e concentração), brotações; brotos vivos; viabilidade do fermento e razão de contaminação. A partir dos resultados concluiu-se que o caldo da cana-de-açúcar processado e analisado em períodos de menores índices pluviométricos apresentaram maior viabilidade do fermento, menor quantidade de bactérias e, conseqüentemente, menor razão de contaminações. Portanto, tem-se que a elevada umidade favoreceu o acúmulo de resíduos e aumentou o potencial de contaminação. Assim, foi ressaltada a necessidade de manejo adequado da cultura a fim de minimizar perdas de rendimento na produção de etanol.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar, bactérias, leveduras, precipitação.

CONTAMINATIONS IN SUGARCANE JUICE: A TIME EVALUATION

ABSTRACT

The quality of the sugarcane juice used for ethanol production is essential for the efficiency towards the production of ethanol, with no chemical and biological contaminants that harm and increase the cost of process in the sugar and alcohol sector. Therefore, the aim of this study was to analyze two annual periods of the sugarcane processing in four consecutive years in order to determine the microbiological aspects in the broth within the fermentation vat. Were collected 100 samples from a sugarcane plant, located in São Paulo state, with the following assessment: yeast (active, inactive and total concentration), rods

* lisboa@dracena.unesp.br

(amount and concentration), shoots; living shoots; viability of yeast and reason of contamination. From the results it was concluded that the sugarcane juice processed and analyzed in such of lower rainfall periods presented higher viability of yeast, less amount of bacteria and, consequently, less contamination rate. Therefore, the high humidity favored the accumulation of waste and increased potential for contamination. In conclusion, the need for adequate crop management minimizes yield losses in the production of ethanol.

Keywords: Sugarcane, bactéria, yeast, precipitation.

INTRODUÇÃO

Com o crescimento acelerado, o aumento de tecnologias, os efeitos das alterações climáticas e a volatilidade dos compostos provenientes do petróleo, tem havido uma tendência mundial cada vez maior de adotar políticas para promover o uso de fontes renováveis de energia (ROBERTSON et al., 2008).

O biocombustível que apresenta maior relação custo de produção versus benefício de uso e comercialização é o etanol devido à sua baixa toxicidade e alta biodegradabilidade em água e solos, reduzindo danos e possíveis consequências por vazamentos. Outro ponto positivo é a alta concentração de oxigênio (35%), o que resulta em uma combustão mais completa quando misturado com outros combustíveis, diminuindo as emissões de gases de efeito estufa (SRINIVASA RAO et al., 2009).

O Brasil desenvolve um importante papel no cenário mundial de tecnologias voltadas à produção de fontes de energia renováveis, devido às extensas áreas de terra disponibilizadas para a cana-de-açúcar que, segundo RIBEIRO (2008), é a terceira cultura mais cultivada no país, ficando atrás somente da soja e do milho. Com o aumento da demanda de etanol o número de destilarias de álcool através do território nacional vem aumentando (BATISTOTE et al., 2010).

Para produção de etanol de cana-de-açúcar é necessária a fermentação alcoólica do caldo, que consiste no processo biológico no qual o açúcar é transformado em etanol e dióxido de carbono pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (RIBEIRO, 2010). DAMASCENO (2010)

descreve o etanol como um composto químico constituído de carbono, hidrogênio e oxigênio, tendo como característica principal a presença de uma hidroxila ligada a um radical etila.

Esse tipo de fermentação depende da existência de condições ideais para que estes organismos se estabeleçam e se proliferem de forma contínua por todo o mosto. Tais micro-organismos possuem, geralmente, forma unicelular, com diâmetros que variam de 2 a 8 micrômetros e sua reprodução é realizada por brotamento (TOSETTO, 2008).

Entretanto, mesmo em ambiente favorável, muitas vezes a fermentação é dificultada em função de contaminação bacteriana, resultando em perdas de eficiência no processo fermentativo. Além de consumir parte do substrato de produção, as bactérias também produzem metabólitos tóxicos que inibem as leveduras, favorecendo a floculação e ocasionando menores rendimentos na geração do etanol (DE CARVALHO & MONTEIRO, 2011).

CEBALLOS-SCHIAVONE (2009) relata que a presença de contaminantes na fermentação influencia diretamente na produtividade e no rendimento final do processo pela degradação da sacarose e produção de ácidos orgânicos, que ocasionam perda de açúcar e intoxicação das leveduras.

O ácido acético, por exemplo, produzido tanto pelas leveduras como também pelas bactérias, tem um poder de toxidez até trinta vezes mais que o etanol, devido à sua capacidade de penetração no citoplasma das leveduras, promovendo

uma acidificação intracelular que afeta o sistema motriz de transporte na célula (COSTA et al., 2008). Este composto pode apresentar ação antibacteriana não seletiva, cujo prejuízo está relacionado ao desempenho das leveduras.

TOSETTO (2008) afirma que os ácidos presentes no meio fermentativo podem culminar na queda da viabilidade celular que, associados a outras condições estressantes, podem cessar o metabolismo do fermento e mesmo o levar à morte.

Segundo GALLO (1991), os primeiros cuidados de controle começam ainda no campo para evitar a contaminação bacteriana de processos fermentativos em produção de etanol. Uma matéria prima muito contaminada, aliada a problemas de eficiência no tratamento do caldo, levam um grande número de micro-organismos contaminantes e seus metabólitos para a cuba de fermentação.

Dessa maneira, as condições de cada etapa do processo de produção de etanol,

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em uma usina sucroalcooleira, localizada no município de Guararapes no Estado de São Paulo, Brasil. O delineamento experimental utilizado foi um fatorial de 4x2 sendo coleta em quatro anos consecutivos em duas épocas diferentes no ano (meses de junho e dezembro).

Foram coletadas 100 amostras do caldo, obtido após a moagem, durante os

desde a colheita da cana-de-açúcar até a etapa final do processo de fermentação, devem ser acompanhadas e controladas para evitar o favorecimento da seleção e do desenvolvimento de micro-organismos que acarretem em mudanças indesejáveis no produto final obtido. Isto posto, é imprescindível o conhecimento da influência das condições climáticas presentes no momento da colheita e do transporte do material vegetal do campo até a unidade processadora da usina, na quantidade de possíveis contaminantes durante o processo de fermentação para obtenção do etanol.

Portanto, o trabalho propôs avaliar a microbiologia do caldo de cana-de-açúcar em função de coletas realizadas em diferentes épocas durante 4 anos. Neste sentido, visou-se verificar a presença de micro-organismos contaminantes em cubas de fermentação.

meses de junho e dezembro com o intuito de determinar a influência de baixas e altas precipitações na contaminação do material analisado, no período entre 2008 e 2011.

Os dados de precipitação em milímetros de chuva foram coletados junto à estação meteorológica da própria unidade produtora, durante todo o período de condução do experimento, que estão apresentados nas Figuras 1 e 2.

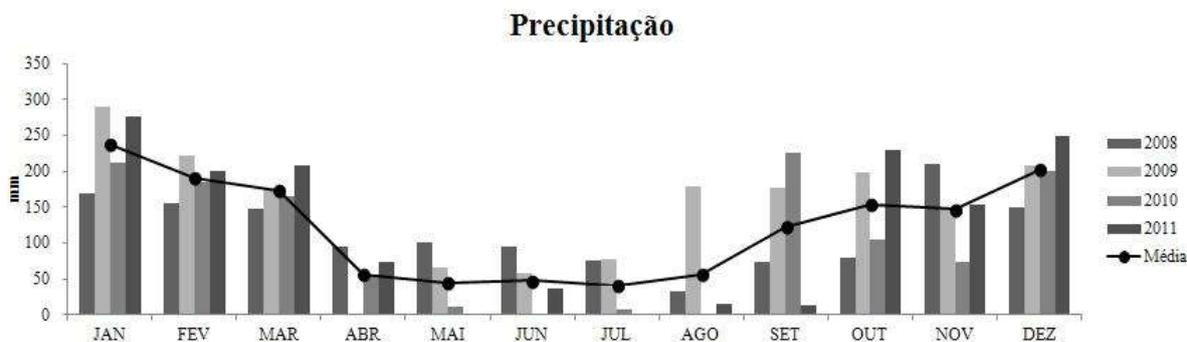


Figura 1. Precipitação mensal no período de 2008 a 2011 na localidade da usina sucroalcooleira. Guararapes - SP, 2015.

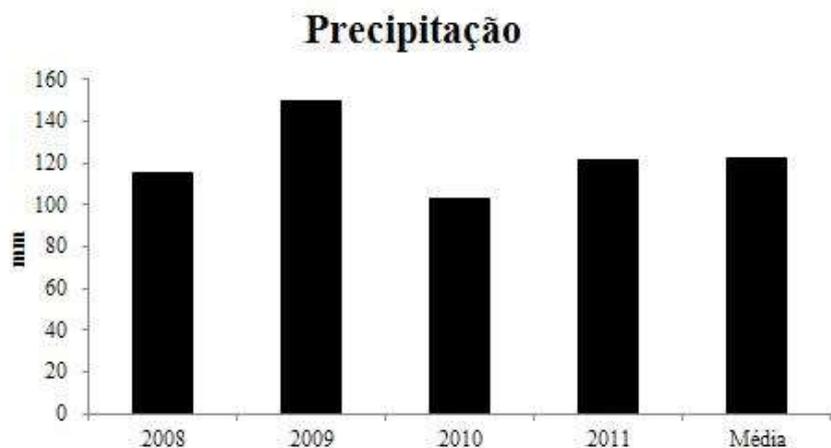


Figura 2. Precipitação no período de 2008 a 2011 na localidade da usina sucroalcooleira. Guararapes - SP, 2015.

As amostras coletadas foram submetidas a análises laboratoriais seguindo a metodologia proposta por SILVA (2003) e OLIVEIRA (2004). Foram analisadas as seguintes características: Leveduras Vivas (LV); Leveduras Mortas (LM); Concentração de Leveduras (CL); Bastonetes (Bast); Brotações (Brot); Brotos Vivos (BV);

Concentração de Bastonetes (CB); Viabilidade do Fermento (VF) e Razão de Contaminação (RC).

Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($P < 0,05$) (BANZATO & KRONKA, 2006), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) através do software Assistat (SILVA & AZEVEDO, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos de quantidade de leveduras vivas, leveduras mortas e leveduras totais presentes no material

coletado das cubas estão apresentados na Figura 3.

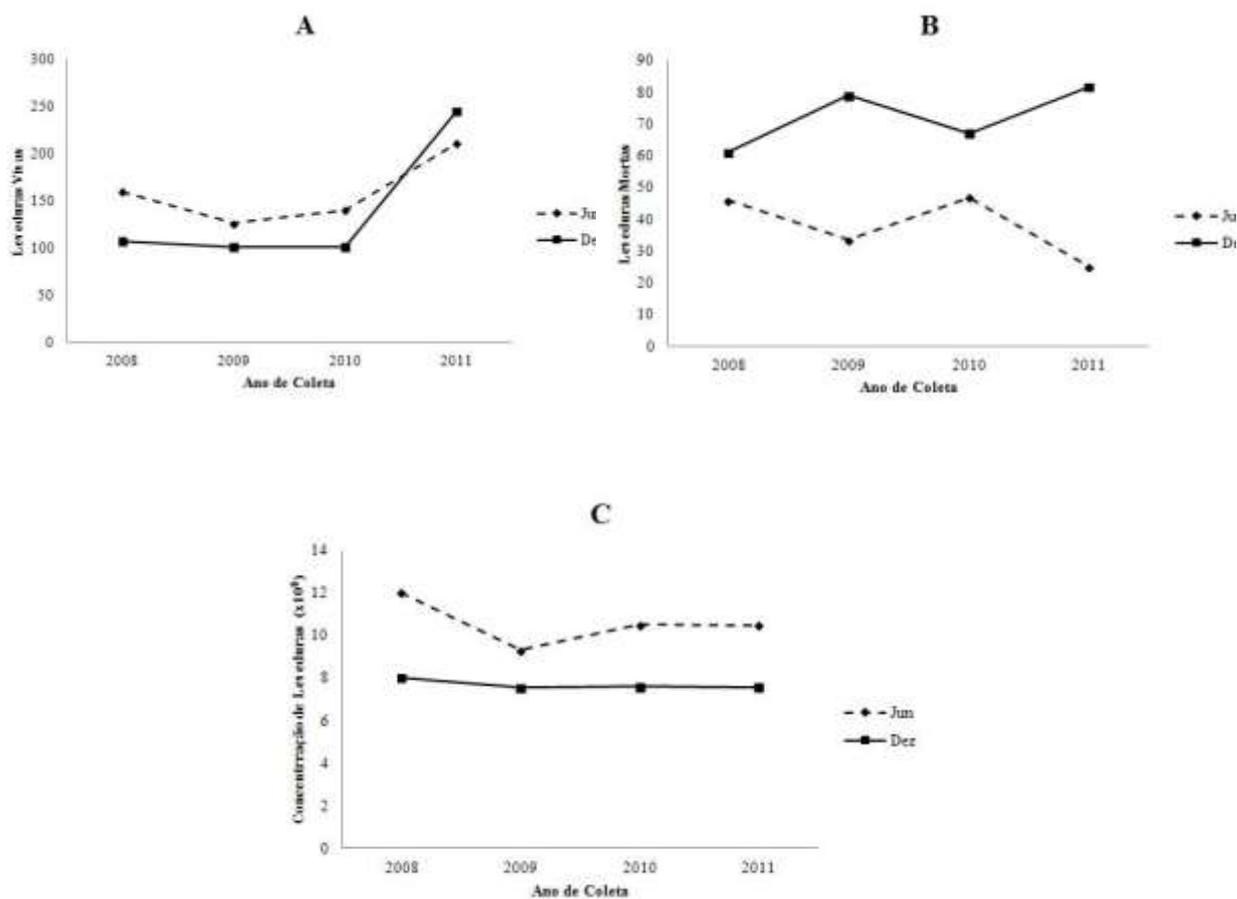


Figura 3. Quantidade de Leveduras Vivas (LV), Leveduras Mortas (LM) e Concentração de Leveduras (CL) no caldo de cana-de-açúcar. Guararapes - SP, 2015.

A quantidade de Leveduras Vivas (Figura 3A) foi influenciada pela época de coleta no ano, mostrando que período com menor intensidade de chuvas (junho), influenciou positivamente no desenvolvimento da levedura dentro da indústria. Esse fato pode ser explicado devido ao menor transporte de resíduos que ficam aderidos na matéria prima das áreas de colheitas para os locais de processamento da cana-de-açúcar.

Essa influência do período de colheita é reforçada com os valores encontrados da quantidade de Leveduras Mortas (Figura 3B) apresentada em dezembro, época de maior índice pluviométrico (Figura 1), que por sua vez também apresentou menores concentrações de leveduras no mosto.

Segundo AMORIM & OLIVEIRA (1982), as épocas do ano que apresentam

maior intensidade de chuvas influencia de maneira negativa a qualidade da matéria prima para processamento dentro das indústrias sucroalcooleiras, devido à umidade elevada no ambiente de colheita que favorece o acúmulo de resíduos nos colmos de cana-de-açúcar processados (AMORIM, 2005).

As amostras de dezembro apresentaram os maiores valores médios de Leveduras Mortas e menor Concentração de Leveduras (Figura 3C). Em dezembro de 2009, cuja pluviosidade foi maior (Figura 2), houve a menor média para Concentração de Leveduras. Tal fato evidencia que o desenvolvimento da levedura foi influenciado pela contaminação bacteriana, o que se observa pela maior Concentração de Bastonetes e menor Viabilidade do Fermento (Tabela 2) (AQUATI, 1990). Corroborando com

NARENDRANATH (2003), esse efeito contaminante no mosto prejudica o desenvolvimento de *Saccharomyces cerevisiae*.

Os valores médios para Concentração de Bastonetes (CB);

quantidade de Bastonetes (Bast), Viabilidade do Fermento (VF), Brotações (Brot) e Brotos Vivos (BV) no caldo de cana-de-açúcar estão expostos nas Figuras 4 e 5 abaixo.

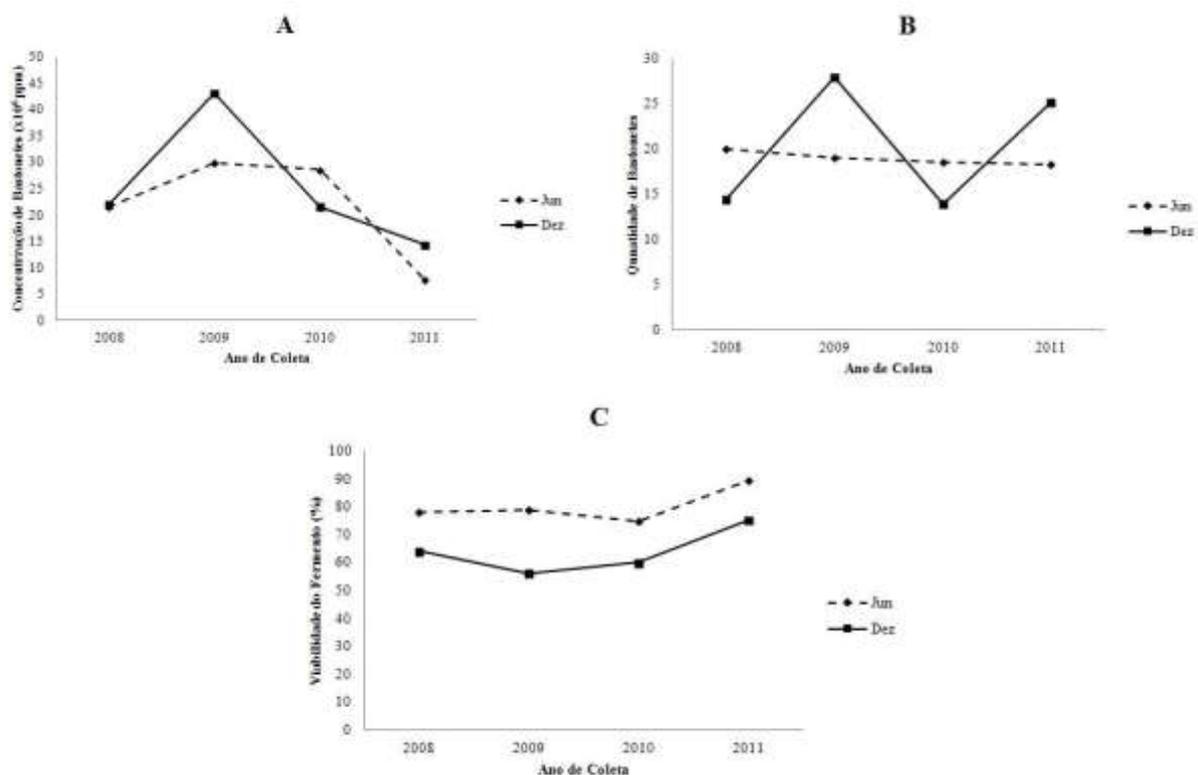


Figura 4. Concentração de Bastonetes (CB), quantidade de Bastonetes (Bast) e Viabilidade do Fermento (VF) no caldo de cana-de-açúcar. Guararapes - SP, 2015.

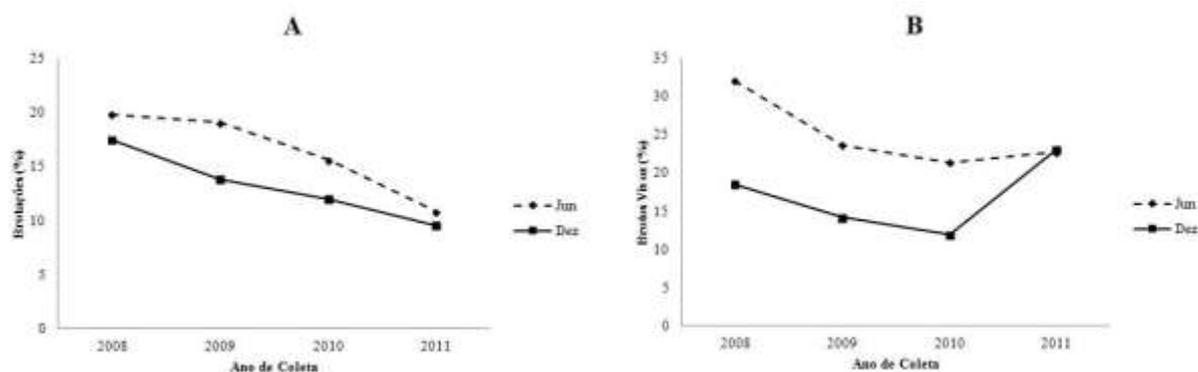


Figura 5. Brotações (Brot) e Brotos Vivos (BV) no caldo de cana de açúcar. Guararapes - SP, 2015.

Entre os períodos anuais de coleta foram observadas diferenças significativas com porcentagem de Brotações (Figura 5A), maior número de Brotos Vivos (Figura 5B) e Viabilidade do Fermento (Figura 4C) nas amostras de junho, indicando uma menor contaminação do caldo nas cubas já que a quantidade de micro-organismos indesejáveis foi menor e conseqüentemente a produção de ácidos inibidores também.

Segundo DE CARVALHO & MONTEIRO (2011), o pH e outros fatores podem influenciar o aumento da contaminação do mosto com bastonetes, diminuindo o desenvolvimento das leveduras no caldo.

AMORIM et al. (1996) relatam que a porcentagem ideal de brotamentos varia entre 5 a 15%. Levando este intervalo como base, observa-se que em todos os anos, exceto 2008, os valores encontraram-se dentro do ideal no mês de dezembro, quando há maior precipitação.

Para CEBALLOS-SCHIAVONE (2009), a presença de bactérias no mosto diminui a eficiência da fermentação alcoólica, devido à fermentação láctica realizada pelos bastonetes. É de suma importância reconhecer as fontes potenciais de contaminação por bactérias nestas usinas, de modo que medidas apropriadas para minimizar as perdas de

eficiência no processo (NARENDRANATH, 2003).

DE CARVALHO & MONTEIRO (2011) afirmam que, para evitar a multiplicação excessiva de bactérias, deve-se utilizar produtos químicos e bactericidas que preservem a composição natural do caldo, sendo que o uso do tratamento térmico também auxilia nesse processo. Ainda assim, a utilização de antibacterianos e o próprio tratamento térmico não minimizam a ação negativa dos compostos liberados pelas bactérias existente no meio, que agem diretamente nas leveduras, causando prejuízos ao processo de fermentação. (CEBALLOS-SCHIAVONE, 2009).

Salienta-se que as brotações das leveduras são importantes para manter a viabilidade do fermento no processo de fermentação. As células fermentativas são originadas desse processo de brotação a partir de “células-mãe” das leveduras, em que cada broto vivo originará uma nova levedura. Dessa forma, ocorre o aumento no número de organismos vivos, tornando o processo fermentativo mais eficiente (TOSETTO, 2008).

Na Tabela 1 estão demonstrados os valores referentes à Razão de Contaminação (RC). Não foi encontrada interação significativa entre meses de amostragem e os anos analisados.

Tabela 1. Razão de Contaminação (RC) dos micro-organismos contaminantes presentes no caldo de cana-de-açúcar. Guararapes - SP, 2015.

	Mês		Ano			
	Jun	Dez	2008	2009	2010	2011
RI** (% 10 ⁷ ppm)	2,30 B	3,36 A	2,35 bc	4,59 a	2,99 b	1,39 c
DMS	0,62		1,16			

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$); Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas referem-se às diferenças nas duas épocas de avaliação e letras minúsculas referem-se aos quatro anos de coletas.

Entre os meses do ano, a maior Razão de Contaminação foi encontrada no mês de dezembro devido à maior precipitação (Figura 1) que aumentaram a quantidade de bastonetes (Figura 4B) e a

concentração de bastonetes (Figura 4A). O ano que apresentou maior Razão de Contaminação em ambas as épocas foi 2009 visto que foi o ano com maior precipitação (Figura 2). Por outro lado, o

ano de 2011 apresentou a menor média para Razão de Contaminação. Observa-se, portanto que a Razão de Contaminação é diretamente proporcional à quantidade de chuvas no período da colheita.

A contaminação bacteriana é responsável pela diminuição no rendimento da produção de etanol durante a fermentação de matérias primas à base de amido ou açúcar por leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (FREGUGLIA & HORII, 1998). O açúcar metabolizado pelas bactérias é desviado da produção de álcool e é convertido em produtos secundários, os quais inibem o crescimento e metabolismo da levedura durante o processo fermentativo, como os ácidos orgânicos (NARENDRANATH, 2003).

Segundo DE CARVALHO & MONTEIRO (2011), uma forma de reduzir o nível de contaminação bacteriana do mosto é a manutenção de uma boa assepsia dos trocadores de calor, eliminando os

CONCLUSÕES

Conclui-se que as estações mais chuvosas (dezembro) e o ano com maior média pluviométrica (2009) influenciaram negativamente na qualidade do caldo dentro das cubas de fermentação. E a elevada umidade do ambiente favoreceu o

pontos mortos nas tubulações, realizando adequadamente os processos de filtração, decantação, clarificação, evaporação e um tratamento térmico do caldo.

Para GALLO (1992), o controle da contaminação da matéria prima para a indústria sucroalcooleira deve ser regido desde o processo de colheita e, principalmente, na eliminação de material que possam ser veículos de transporte desses micro-organismos prejudiciais, até mesmo a temperatura influencia na contaminação dos produtos derivados da cana-de-açúcar (ANDRADE et al, 2008 e MUTTON, 1998).

Maciel (2001) confirma essa necessidade de se atentar para a qualidade do material a ser fornecido à usina através de um experimento no qual foi observado contaminação por bactérias lácticas em amostras no solo de canaviais, na água da bainha das folhas e na superfície dos colmos de cana-de-açúcar.

acúmulo de resíduos na planta a ser processada e, assim, aumentou o potencial de contaminação por células bacterianas que limitam o crescimento e metabolismo das leveduras durante o processo fermentativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, H. V. de; **Fermentação alcoólica, ciência & tecnologia**. Piracicaba: Fermentec, 2005. 448 p.

AMORIM, H. V.; BASSO, L. C.; ALVES, D. G. **Processos de produção de álcool – controle e monitoramento**. Piracicaba: FERMENTEC/FEALQ/ESALQ-USP, 1996, 93p.

AMORIM, H. V.; OLIVEIRA, A. J. Infecção na fermentação: como evitá-la. **Revista Álcool e Açúcar**, v. 2, n. 5, p. 12-18, 1982.

ANDRADE, S. R. R. de; PORTO, E.; SPOTO, M. H. F. Avaliação da qualidade do caldo extraído de toletes de cana-de-

açúcar minimamente processada, armazenados sob diferentes temperaturas. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 28 (Supl.), p.51-55, dez. 2008.

ALQUATI. **Caracterização e Controle de Microorganismos Contaminantes em Microdestilaria de Álcool**. In: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 1990.

BANZATO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 3. ed. Joticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BATISTOTE, M. et al. Desempenho de leveduras obtidas em indústrias de Mato

Grosso do Sul na produção de etanol em mosto a base de cana-de-açúcar. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 83 - 95, 2010.

CEBALLOS-SCHIAVONE, C. A. D. M. **Tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar visando à redução de contaminantes bacterianos – *Lactobacillus* – na produção de etanol e eficiência de tratamento do fermento por etanol.** 2009. 177 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2009.

COSTA, V. M. et al. Produções de ácido acético, etanol e dos isômeros óticos do ácido lático por linhagens de *Lactobacillus* isoladas de fermentações alcoólicas industriais. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 503-509, 2008.

DAMASCENO, J. J. R. **Destilação:** obtenção de álcool hidratado e anidro. Uberaba, 2010. Apostila do Módulo I. Processamento na Indústria Sucroalcooleira. FAZU.

DE CARVALHO, G. G.; MONTEIRO, R. A. B. A influência do teor de acidez e da contaminação bacteriana do mosto no rendimento fermentativo industrial para produção de etanol. **FAZU em Revista**, Uberaba, n. 8, p. 47-54, 2011.

GALLO, C. R. Identificação de bactérias contaminantes da fermentação alcoólica. **STAB. Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil**, Piracicaba, v. 10, n. 5, p. 30-34, 1992.

GALLO, C. R.; CANHOS, V. P. Contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica - Revisão. **STAB. Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil**, Piracicaba, v. 9, n. 4/5, p. 35-40, 1991.

MACIEL, J. F. **Antagonismo de culturas láticas associadas com cana-de-açúcar sobre *Gluconacetobacter diazotrophicus*.** 2001. 62p. Tese (doutorado em

Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. 2001.

MUTTON, M. J. R. **Avaliação da fermentação etanólica do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) tratadas com maturadores químicos.** 1998, 178p., Tese (Livre Docência – FCAV, UNESP). Jaboticabal, 1998.

NARENDRANATH, N. V. Bacterial contamination and control in ethanol production. In: JACQUES, K. A.; LYONS, T. P.; KELSALL, D. R. (Ed.). **The alcohol textbook.** 4th ed. Nottingham: Nottingham University Press, p. 287-298, 2003.

OLIVEIRA, A. J. Aplicações da microscopia em microbiologia. In: ENCONTROS FERMENTEC – REUNIÃO ANUAL, 25. Fermentação Alcoólica – Otimizando o Rendimento Industrial: **Resumos.** Piracicaba: FERMENTEC, p. 5-6, 2004.

OLIVEIRA-FREGUGLIA, R. M.; HORII, J. Viabilidade celular de *Saccharomyces cerevisiae* em cultura mista com *Lactobacillus fermentum*. **Scientia agricola.** Piracicaba, v.55. n.3. 1998.

RIBEIRO, E. J. **Fermentação Alcoólica.** Apostila do Módulo II. Processamento na Indústria Sucroalcooleira. FAZU, Uberaba, 2010.

RIBEIRO, F. A. M. **Álcool e açúcar: uma via de mão dupla.** In: ROSSAFA, L. A. (Coord.). Álcool combustível – série indústria em perspectiva. Brasília: Instituto Evaldo Lodi, p. 48-57, 2008.

ROBERTSON, G. P. et al. Agriculture.Sustainable biofuels redux. **Science**, v.322, p.49-50, 2008.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 4, p. 71-78, 2002.

SILVA, L. F. et al. **Métodos analíticos para a produção de açúcar e álcool.** 3.

ed. Piracicaba: Fermentec S/C Ltda, 126 p., 2003. ,

SRINIVASA RAO, P. et al. **Sweet sorghum for biofuel and strategies for its improvement. Patancheru, Andhra Pradesh**, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 80 p, 2009. (Information Bulletin, 77)

TOSETTO, G. M. **Comportamento de linhagens industriais de *Saccharomyces* frente a compostos inibitórios presentes no melaço de cana-de-açúcar na produção de bioetanol.** 2008. 258 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.