

CARACTERIZAÇÃO DE FENÓIS E FURFURAL COMO INIBIDORES DE FERMENTAÇÃO DE MÉIS DE CINCO USINAS DO VALLE DEL CAUCA – CO

CHARACTERIZATION OF PHENOLS AND FURFURAL AS INHIBITORS OF FERMENTATION OF MOLASSES OF FIVE MILLS OF VALLE DEL CAUCA – CO

JESUS ELIÉCER **LARRAHONDO**¹, CELSO SILVA **CALDAS**², LAURA ISABEL **LIÉVANO**³, MAUREN DANIELA **GARAVIÑO**³, RAFAELLA ELOISA CANDIDO **DE AZEVEDO**^{4*}

¹ Doutor em Produtos Naturais – Química Orgânica pela Northwestern University. Professor na Universidade Santiago de Cali (Cali, Colômbia).

² Professor Pós-doutor no Instituto Federal De Educação, Ciências e Tecnologias de Alagoas (Maceió/AL, Brasil).

³ Graduanda do curso de Química, Universidade Santiago de Cali (Cali, Colômbia).

⁴ Mestre em Tecnologias Limpas pelo Unicesumar (Maringá/PR, Brasil).

*Rua Marechal Hermes da Fonseca, nº 301. Apartamento nº 61. Bairro Santana CEP: 02020-000. São Paulo/SP. Telefone: (44) 99964-5608. E-mail: rafaellacandido@hotmail.com

RESUMO

Com objetivo de avaliar os impactos negativos em fermentações de méis, foram determinados fenóis totais e furfural em amostras de mel final de cinco usinas de açúcar localizadas no Valle del Cauca – CO. Nos resultados foram encontradas diferenças significativas entre os níveis de fenol e furfural, onde os teores de fenóis variaram entre 0,991% m/v e 1,35% m/v. Por outro lado, os níveis de furfural variaram entre 0,125% m/v e 0,193% m/v. Ensaio com micro fermentadores indicaram que os maiores teores destes compostos orgânicos reduziram a taxa de formação de CO₂, como um indicador do efeito inibitório na fermentação realizada pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Palavras-chave: Fenóis. Furfural. Inibidores de fermentação. Mel.

ABSTRACT

In order to evaluate the negative impacts on molasses fermentations, total phenols and furfural were determined in final molass samples from five sugar mills located in Valle del Cauca - CO. The results showed significant differences between phenol and furfural levels, at which the phenolic contents ranged from 0.991% m/v to 1.35% m/v. On the other hand, furfural levels ranged from 0.125% m/v to 0.193% m/v. Assays with micro fermenters indicated that the higher contents of these organic compounds reduced the CO₂ formation rate as an indicator of the inhibitory effect in the fermentation carried out by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*.

Keywords: Fermentation inhibitors. Furfural. Molass. Phenols.

INTRODUÇÃO

O bioetanol, ou etanol, é o produto da fermentação alcoólica de vários substratos orgânicos através da ação de microrganismos como as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (RAMOS, 2011). Matérias primas como o caldo de cana-de-açúcar e o mel final, que são fermentados diretamente para gerar etanol, são considerados produtores de etanol de primeira geração.

Devido à importância dos biocombustíveis de fontes renováveis e ao aumento da demanda de energia baseada em combustíveis alternativos ao petróleo, países como a Colômbia decidiu investir, em um passado recente, mais de U\$ 150 milhões para produção dual (açúcar e etanol). Em 2011, na Colômbia, a capacidade instalada era de 1.250.000 litros de etanol combustível por dia, para atender uma demanda anual de aproximadamente de 390 milhões de litros (ASOCAÑA, 2014), o que tornou a Colômbia o terceiro país maior produtor de etanol na América Latina, depois do Brasil e da Argentina (CALDAS; LARRAHONDO; SILVA, 2017).

O mel final, também chamado de mel B em usinas com sistema de cozimento de duas massas, é usado na produção de etanol. Este mel é um produto líquido concentrado separado dos cristais de açúcar em centrífugas contínuas. Os açúcares de mel são representados por sacarose, glicose e frutose (açúcares fermentáveis), sendo a sacarose o componente mais importante, enquanto outras dependem da qualidade da cana-de-açúcar. Os componentes orgânicos não açúcares encontrados no mel são constituídos por substâncias sulfatadas, fenóis, gorduras, ceras, pectinas, ácidos orgânicos e outras substâncias resultantes da degradação dos açúcares, tais como corantes, hidroximetilfurfural (HMF) e furfural (LARRAHONDO; BOSCOLO, 2015). As principais substâncias inorgânicas são representadas pelas cinzas que possuem diversos componentes, como sílica, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro e alumínio, entre outros (LARRAHONDO, 2015).

Existem vários fatores que afetam a eficiência da fermentação para produção do etanol, principalmente o bom desempenho da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Entre estes fatores citam-se o stress do microrganismo, alta concentração de sódio, bactérias produtoras do ácido láctico, acidez total do meio, sulfitos, pH, temperatura, entre outros (RAMOS, 2011). No entanto, o próprio processo de açúcar, por vezes, gera muitos compostos tóxicos para as leveduras, como o furfural; que em associação com os compostos fenólicos da própria cana-de-açúcar podem ter efeitos inibitórios sobre os microrganismos (GIL; DAZA, 2011).

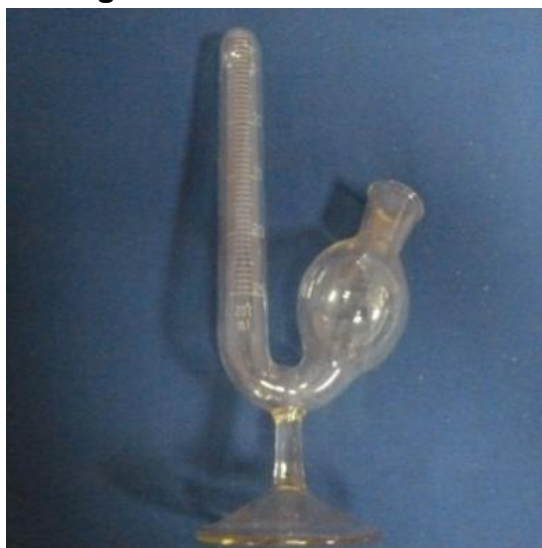
Devido à importância dos efeitos tóxicos dos compostos presentes no mel, foi realizado um estudo de quantificação de fenóis e furfural em mel final de cinco usinas localizadas no Valle del Cauca – CO. Os impactos negativos desses compostos na produção de etanol foram quantificados a partir da medição de CO₂ em testes realizados em escala de laboratório usando micros fermentadores, com o objetivo de estabelecer estratégias de controle em nível industrial.

MATERIAIS E MÉTODOS

O teor de fenóis totais foi quantificado pelo método espectrofotométrico de Folin - Ciocalteu (CALDAS, 2012). A curva de calibração foi feita usando como padrão ácido gálico em uma faixa de concentração de 0,0 mg/L e 12,0 mg/L. A determinação de furfural e hidroximetilfurfural (HMF) também foi baseada na espectrofotometria usando soluções de Carrez I e Carrez II. As leituras dos padrões e das amostras foram realizadas 284 nm (nanômetros) e 336 nm (nanômetros) em cubetas de quartzo.

Os testes fermentativos foram realizados em micro fermentadores (Figura 1) para medições dos volumes de CO₂. Foram usadas soluções com 10°Brix preparadas a partir dos méis das cinco usinas estudadas. Para inoculação foram usadas emulsões da levedura *Saccharomyce cerevisiae*.

Figura 1 - Micro fermentador.



Fonte: Os autores.

Os dados obtidos foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), juntamente com o teste de Duncan, utilizando o programa XLSTAT.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos indicam que existem diferenças estatisticamente significantes (teste de Duncan com nível de confiança de 95%) nos teores de fenóis totais e furfural nas amostras dos méis das cinco usinas estudadas, conforme se pode observar na Tabela 1.

Os teores de fenóis variaram de 0,991% m/v a 1,357% m/v, equivalente a 36,93%, variação esta considerada grande e evidenciando diferenças nas qualidades das matérias primas, principalmente no que se refere às impurezas vegetais, já que a maior fonte de fenóis é a palha da cana-de-açúcar. Por outro lado, os níveis de furfural (incluindo o HMF) estão na faixa de 0,125% m/v a 0,193% m/v, representando uma elevada variação percentual de 54,4%.

Tabela 1 – Análises de variância para teores de fenóis expressos em percentagem massa / volume (% m/v) e furfural expressos em percentagem massa / volume (% m/v) nos méis das cinco usinas estudadas.

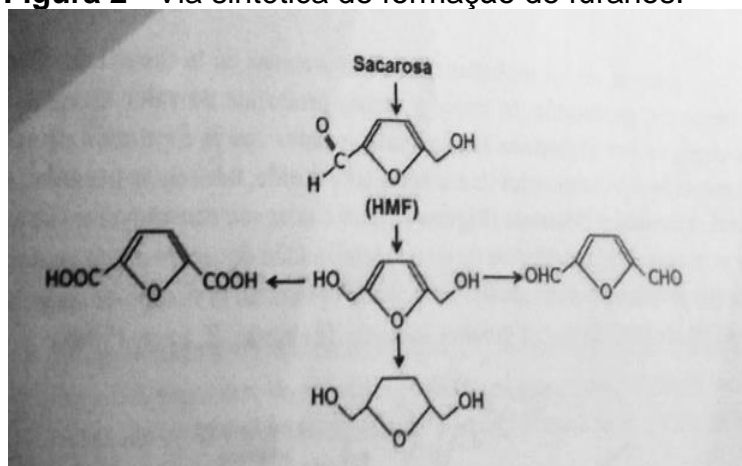
Usinas	Fenóis (% m/v)	Grupos	Furfural (% m/v)	Grupos
1	0,991	b	0,153	b
2	1,007	b	0,133	bc
3	1,071	b	0,125	c
4	1,077	b	0,129	c
5	1,357	a*	0,193	a*

Notas: * Letras iguais em cada coluna indicam que não existem diferenças significativas (teste de Duncan para um nível de confiança de 95%).

Fonte: Os autores.

Considerando que estes compostos estão presentes na própria cana-de-açúcar e que também são formados no processo de fabricação do açúcar, este elevado percentual indica que há uma grande variação na condução dos processos, principalmente no tratamento de caldo quando pH alcalino favorece a formação destes compostos (Figura 2).

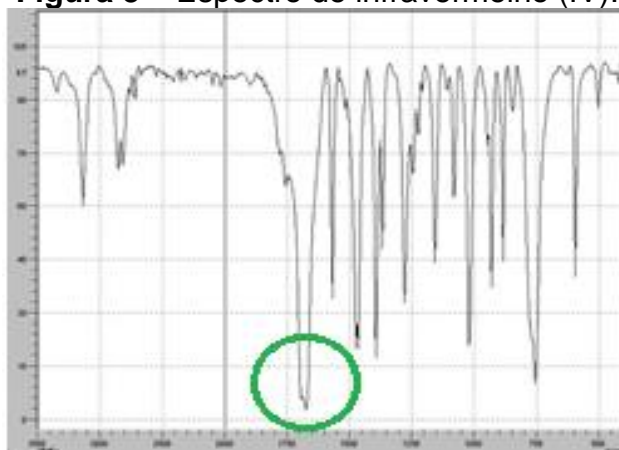
Figura 2 - Via sintética de formação de furanos.



Fonte: Larrahondo (2015).

Também favorece a formação desses compostos a decomposição térmica de açúcares de cinco e seis carbonos sob condições ácidas (CALDAS, 2012). Para confirmar esta formação em nível de laboratório, frações de bagacilhos, que são ricos em hemiceluloses e açúcares de cinco carbonos (pentoses) e de seis carbonos (glicoses), como os encontrados nos méis, sofreram tratamento térmico em meio ácido, seguido de destilação e extração líquido-líquido. O furfural formado foi caracterizado pela técnica de espectrofotometria de infravermelho (IV), (Figura 3).

Nos processos de fabricação de açúcar esses compostos variam suas concentrações de acordo com as condições de cada fábrica, permanecendo no mel final que é enviado para destilaria para ser usado na fermentação.

Figura 3 – Espectro de infravermelho (IV).

Fonte: Os autores.

Na Figura 3 observa-se a banda mais representativa do furfural, onde mostra no espectro de infravermelho (IV) a absorção do grupo C=O.

Dos méis avaliados, o produzido pela usina 5 apresentou os maiores valores de fenóis e furfural em relação as outras quatro usinas, o que sugere um impacto negativo maior na produção de etanol, via fermentação com utilização da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Para esta constatação foram realizados testes com micro fermentadores usando mel desta usina e com mel produzido pela usina 1. Nessas fermentações foram usadas concentrações de 10% Brix, sendo medidos em cada teste os volumes de CO₂ após 5 horas e a cada hora até completar 10 horas de fermentação.

Os dados obtidos estão na Tabela 2 e mostram que a após 10 horas de fermentação foi produzido o dobro de volume de CO₂ com mel da usina 1 em relação à fermentação com mel da usina 5, justamente esta última a que apresentou maiores teores de fenóis e furfural, compostos estes altamente tóxico para as leveduras.

Tabela 2 - Volumes de CO₂ (mL) medidos em micro fermentadores com méis finais das usinas 1 e 5, usando levedura comercial *Sacharomyces cerevisiae*, em condições laboratoriais.

Tempo (h)	Produção de CO ₂ (mL) – Usina 1	Produção de CO ₂ (mL) – Usina 5
5	0,2	0
6	0,4	0
7	1	0,1
8	4	1
9	6	3
10	10	5

Fonte: Os autores.

De maneira geral, de acordo com os resultados apresentados na Tabela 2, sugere-se que os fenóis e furfurais presentes no mel final podem causar um estresse na levedura utilizada na fermentação alcoólica, como tem sido relatado pela Fermentec (2010). Portanto, estágios prévios ou processos de desintoxicação ou remoção de potenciais inibidores de mel final poderiam

melhorar a eficiência da fermentação e produção de etanol nas usinas sucroalcooleiras (PALMQUIST, 2000).

CONCLUSÃO

Os teores de fenóis e furfural encontrados nos méis de cinco usinas localizadas no Valle del Cauca – CO apresentam diferenças estatisticamente significativas, provavelmente devido às características varietais e às condições agroindustriais.

O furfural e o HMF encontrados nos méis finais têm como origem a decomposição térmica dos açúcares de cinco ou seis átomos de carbono (pentoses ou hexoses). Observou-se neste estudo que quanto maior a concentração destes compostos, menor será a produção de etanol, confirmada pelo menor volume de CO₂ produzido. Assim, confirma-se o efeito inibidor do de fenóis e furfurais em fermentações alcoólicas por causar estresses às leveduras.

REFERÊNCIAS

ASOCAÑA. **Informe annual**. Cali, Colombia. 2017.

CALDAS, C. S. **Novo manual para laboratórios sucroalcooleiros**. STAB. Piracicaba, SP., Brasil. p. 738. 2012.

CALDAS, C. S.; LARRAHONDO, J. E.; SILVA, J. R. C. **Cálculos fundamentais para controle químico das Indústrias de Açúcar e de Álcool**. Central Analítica Ltda. Maceió – Alagoas – Brasil. p. 203. 2017.

FERMENTEC. **Fermentação com Alta Eficiência**. Conferencia – curso 2010. Piracicaba, SP. Brasil. 2010.

GIL, N. J.; DAZA, T. Producción de etanol de Segunda Generación: productos lignocelulósicos como materia prima. In: **Mermorias Seminario Internacional de Alcoquímica 2011 – Tecnicaña**. Cali, Colombia. p. 101-121. 2011.

LARRAHONDO, J. E. **El proceso azucarero en pocas palabras**. Editorial Catorse. Cali, Colombia. p.126. 2015.

LARRAHONDO, J. E.; BOSCOLO, M. **Derivados de la caña de azúcar sucroquímica**. Editorial Catorse. Cali, Colombia. p. 90. 2015.

PALMQUIST, E. H. – H.B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. **Bioresource Technology**. v. 74, n. 1, p. 17-24. 2000.

RAMOS, A. A. Proceso de producción de etanol y control de calidad en fábrica. En: **Memorias Seminario Internacional de Alcoquímica 2011 – Tecnicaña**. Cali, Colombia. p. 19-40, 2011.