



**Contemporânea**

*Contemporary Journal*  
3(10): 18899-18907, 2023  
ISSN: 2447-0961

Artigo

## **ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DO MEL RICO DE CANA DE AÇÚCAR E GLICOSE PADRÃO ANALÍTICO (PA) NA PRODUÇÃO DO ÁCIDO CÍTRICO, POR *Aspergillus awamori*, EM SISTEMA DESCONTÍNUO**

STUDY OF THE USE OF RICH SUGAR CANE HONEY AND ANALYTICAL STANDARD GLUCOSE (PA) IN THE PRODUCTION OF CITRIC ACID, BY *Aspergillus awamori*, IN A BATCH SYSTEM

DOI: 10.56083/RCV3N10-122

Recebimento do original: 22/09/2023

Aceitação para publicação: 23/10/2023

### **Emanuel Souza Barros**

Mestre em Engenharia Química

Instituição: Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Endereço: Avenida Colombo, 5790, Jardim Universitário, Maringá – PR, CEP: 87020-900

E-mail: emanuelsb\_pr@hotmail.com

### **José Eduardo Olivo**

Doutor em Engenharia Química

Instituição: Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Endereço: Avenida Colombo, 5790, Jardim Universitário, Maringá – PR, CEP: 87020-900

E-mail: olivo@deq.uem.br

### **Deivid Jonathan Souza Barros**

Mestre em Engenharia Química

Instituição: Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Endereço: Avenida Coronel Francisco Heráclito dos Santos, s/n, Jardim das Américas, Curitiba – PR

E-mail: deividbarros@hotmail.com

### **Edvan Vinícius Gonçalves**

Doutor em Engenharia Química

Instituição: Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Endereço: Avenida Colombo, 5790, Jardim Universitário, Maringá – PR, CEP: 87020-900

E-mail: edvan.goncalves@hotmail.com



## **Carlos Hiroaki Missaki Kuwabara**

Graduado em Engenharia Química

Instituição: Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Endereço: Avenida Colombo, 5790, Jardim Universitário, Maringá – PR, CEP: 87020-900

E-mail: k.hiro@hotmail.com

**RESUMO:** O termo “sustentabilidade” é frequente no panorama do mundo moderno. Neste cenário, o setor sucoenergético enfrenta desafios de proporções globais, sendo necessárias ações para amenizar os impactos de suas atividades. Assim, o aproveitamento de seus subprodutos é imprescindível. Sob esta ótica, a utilização do melaço na produção do ácido cítrico, figura como uma alternativa viável para a coogeração deste produto. Diante disto, este estudo aborda a utilização de melaço de cana de açúcar e glicose PA, numa breve comparação da cinética dos processos. Desta forma, foram obtidos 5 e 12 g/L de ácido cítrico para o processo com mel de cana de açúcar e glicose PA, respectivamente. A concentração celular final, revelou 15 g/L para o processo que utilizou melaço e 5 g/L para o processo que empregou glicose PA. Ademais, foram avaliados o consumo de substrato, pH e ácidos totais.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ácido Cítrico, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger*, Bioprocessos, Fermentação, Cana de Açúcar.

**ABSTRACT:** The term “sustainability” is common in the modern world. In this scenario, the sugar-energy sector faces challenges of global proportions, requiring actions to mitigate the impacts of its activities. Therefore, the use of its by-products is essential. From this perspective, the use of molasses in the production of citric acid appears as a viable alternative for the cogeneration of this product. Given this, this study addresses the use of sugar cane molasses and PA glucose, in a brief comparison of the kinetics of the processes. In this way, 5 and 12 g/L of citric acid were obtained for the process with sugar cane honey and PA glucose, respectively. The final cell concentration revealed 15 g/L for the process that used molasses and 5 g/L for the process that used PA glucose. Furthermore, substrate consumption, pH and total acids were evaluated.

**KEYWORDS:** Citric Acid, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger*, Bioprocesses, Fermentation, Sugar Cane.



Artigo está licenciado sob forma de uma licença  
Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional.



## 1. Introdução

O setor sucroenergético é responsável pela movimentação de 2% do PIB brasileiro, sendo responsável por milhões de empregos diretos e indiretos, permitindo ao Brasil ser o único país a ter um programa de combustível alternativo ao petróleo implantado em larga escala, com vantagens sociais, ambientais e econômicas, segundo Silva (2016). No entanto, a atividade sucroalcooleira, como toda aquela em que se alocam recursos naturais no incremento dos meios de produção, provoca sobre o meio ambiente alterações e impactos significativos (Vaz, 2011).

No intento de atenuar os impasses ambientais provocados pelo setor, o desenvolvimento de uma tecnologia nacional na produção de ácido cítrico é muito importante, pois poderá ser uma alternativa para as indústrias de etanol e açúcar, haja vista que os subprodutos formados podem ser empregados como substrato na indústria do ácido cítrico, conforme Armiliato (2004).

Pertinente ao melão, substrato amplamente utilizado, gerado em vasta variedade, exige-se elevada qualidade deste na produção do ácido tricarbóxico, no entanto para produtos de baixo valor, como o álcool, o rigor é consideravelmente menor, haja vista que os microrganismos empregados no processo fermentativo destes produtos possuem abrangente tolerância a impurezas.

Nesse âmbito, muito embora a maioria das plantas de processo do ácido cítrico utilizam-se do melão como fonte sacarínea, o uso de fontes mais limpas é promissor. O custo e preparação para alcançar condições ótimas de cultivo, são dois aspectos importantes da tecnologia na produção cítrica, seja qual for a fonte em questão, segundo relatado por Lesniak (2002). Diante do exposto, o presente trabalho mostra uma avaliação de duas fontes carbonáceas na produção do ácido cítrico, por intermédio do *Aspergillus awamori*, estas são: mel rico de cana de açúcar e glicose PA.



Ademais, um estudo da cinética do processo foi realizado, considerando o crescimento fúngico, o consumo de substrato, produção do ácido cítrico, pH e ácidos totais.

## **2. Resultados e Discussão**

O microrganismo utilizado foi o *A. awamori* NRRL 3112, obtido primariamente na forma liofilizada, e posteriormente submetido à preparação do inóculo. O processo fermentativo foi conduzido no biorreator New Brunswick Scientific modelo Bio Flo III. A fim de precisar os açúcares redutores totais, fora empregado o método DNS modificado, desenvolvido por Zanin e Moraes (1987). Para aferir a concentração celular utilizou-se o método descrito por Olivo (1998). A determinação do ácido cítrico foi realizada em cromatógrafo de fase líquida de alta eficiência (High Pressure Liquid Chromatography, HPLC, Varian 920-LC), sendo operado a coluna analítica Aminex HPX-87H<sup>®</sup> (300 mm x 7,8 mm) fabricada pela BIORAD<sup>®</sup>. A acidez total foi analisada segundo o método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Para mais, detalhes da metodologia de preparo do inóculo, meio de cultivo, biorreator, materiais e métodos específicos podem ser encontrados no trabalho de Barros (2018). Deste modo, o mel rico de cana de açúcar e a glicose PA (Figura 1 e Figura 2, respectivamente), foram avaliados no processo de produção do ácido cítrico, sob uma condição inicial de substrato de 50 g/L, agitação de 300 rpm, temperatura de 30°C e inóculo em 10% do volume inicial do meio a ser cultivado. O tempo de cultivo foi de, aproximadamente, 216 e 264 horas para o processo realizado com melão e glicose PA, nessa ordem.



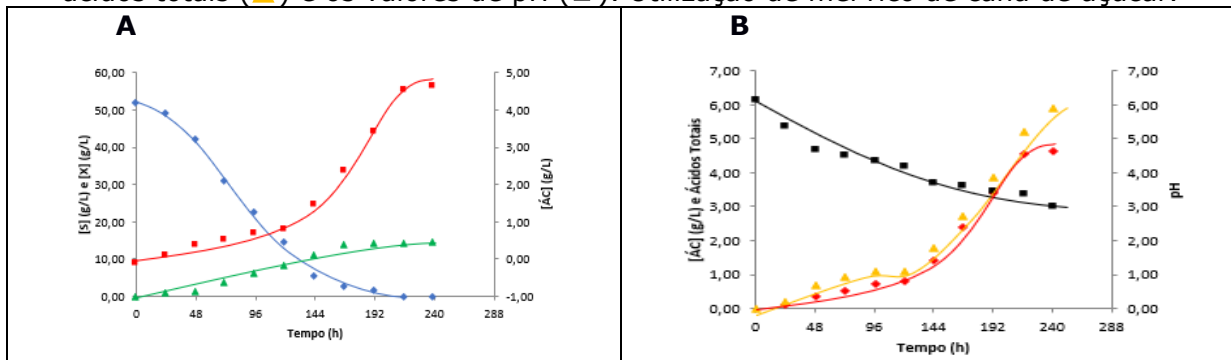
## 2.1 Produção de Ácido Cítrico, por *Aspergillus awamori*, Utilizando Mel Rico de Cana de Açúcar e Glicose PA

Relativo ao crescimento fúngico, houve uma concentração celular final de, aproximadamente, 15 g/L (Figura 1-A), com a utilização do mel rico de cana de açúcar, e para a glicose padrão analítico, observou-se cerca de 5 g/L (Figura 2-A), o que representa uma produtividade celular de 25 e 10%, respectivamente. Assim, pode se inferir que a condição nutricional do meio com a utilização do mel rico pode ter propiciado o melhor crescimento celular em detrimento da formação do ácido cítrico, o que segundo Grewal e Kalra (1995), ocorre quando há a presença de alguns íons metálicos no meio, a exemplo o ferro e cobre, os quais favorecem o desenvolvimento micelial em prejuízo da produção cítrica. Correspondente ao consumo de substrato, as curvas apresentam tendências semelhantes. Contudo, conforme se observa na Figura 1-A, processo realizado com a utilização do mel rico de cana de açúcar, aproximadamente às 216 horas, esta fonte carbonácea se exauriu, denotando um consumo mais célere, enquanto que com a utilização de glicose PA, teve seu término às 264 horas, aproximadamente, como mostrado na Figura 2-A. Referente a produção do ácido cítrico, para o processo alimentado com o mel rico de cana de açúcar, observou-se uma concentração cítrica final de 5 g/L (Figura 1-A) e para o processo com glicose PA, verificou-se 12 g/L do ácido (Figura 2-A). Ademais, a formação do ácido cítrico ocorreu antes no processo com emprego da glicose PA, evidenciando um atraso metabólico, influenciado pelos componentes do meio, conforme Pandey *et al.* (2016), o qual relata que elevadas concentrações de alguns íons, inibem a acumulação de ácido cítrico, permanecendo a cultura fúngica na fase de crescimento celular. Alusivo ao pH e ácidos totais, estes mostraram comportamento esperado, de forma que o pH no processo com mel rico mostrou uma curva em declínio até aproximar-se do valor 3 (Figura 1-B), pH considerado adequado segundo Pandey *et al.* (2016), e o processo



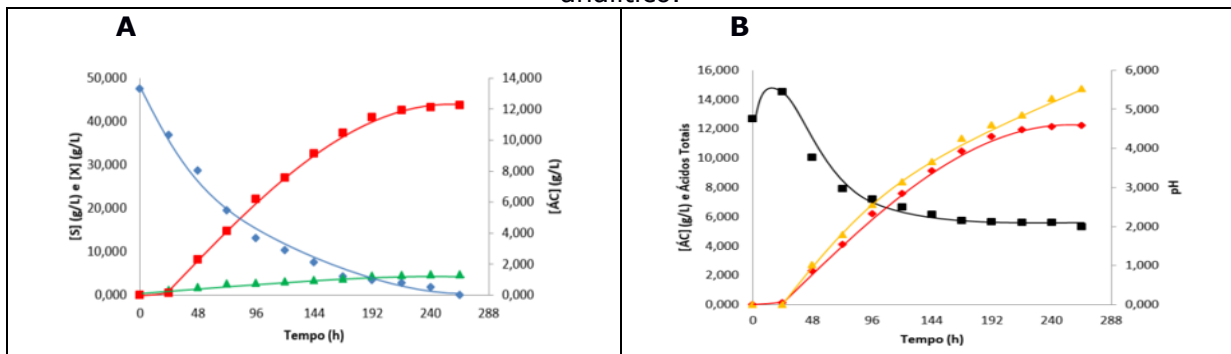
com glicose PA, após fase de adaptação, o pH acomodou-se próximo à 2 (Figura 2-B) e os perfis de ácidos totais se mantiveram quase justapostos à curva de formação do ácido cítrico, revelando uma baixa formação de outros ácidos.

Figura 1 – (A) Produção de ácido cítrico ([ÁC] (■)) por *A. awamori*, consumo de substrato (S (◆)), produção de biomassa fúngica (X (▲)) e (B) correlação entre o ácido cítrico (◆), ácidos totais (▲) e os valores de pH (■). Utilização de mel rico de cana de açúcar.



Fonte: Barros (2018).

Figura 2 – (A) Produção de ácido cítrico ([ÁC] (■)) por *A. awamori*, consumo de glicose (S (◆)), produção de biomassa fúngica (X (▲)) e (B) correlação entre o ácido cítrico (◆), ácidos totais (▲) e os valores de pH (■). Utilização de glicose padrão analítico.



Fonte: Barros (2018).

### 3. Conclusão

No que tange ao crescimento fúngico, inferiu-se que, há maior geração de células quando a fonte carbonácea presente no meio de cultivo é o melaço de cana. Em referência ao consumo de substrato, apesar de apresentarem



semelhantes perfis, o processo alimentado com o melaço de cana mostra um consumo mais rápido. Em relação à produção cítrica, o melhor desenvolvimento ocorreu no processo com glicose PA, haja vista a pureza do meio e o desfavorecimento da produção cítrica na presença de alguns íons metálicos, constituintes do mel rico de cana de açúcar. Assim, em consonância com Barros *et al.* (2022), em análise comparativa entre *A. awamori* e o *A. niger*, há necessidade de estudo mais abrangente, para que o microrganismo em questão seja competitivo industrialmente.



## Referências

ARMILIATO L, Produção de Ácido Cítrico por *Candida Lipolytica* NRRL Y 1095. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, [s.n.], 2004.

BARROS ES, Estudo cinético da fermentação cítrica em sistema descontínuo a partir de fontes sacaríneas. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Engenharia Química, Maringá, 2018.

BARROS ES, OLIVO JE, BARROS DJS, GONÇALVES EV, KUWABARA CHM, Engenharia química: desenvolvimento de novos processos e produtos 2. Editora Atena. Ponta Grossa - PR, 2022.

GREWAL HS, KALRA KL, Fungal production of citric acid. *Biotechnology Advances*, v. 13, p. 212, 1995.

HOSSAIN M, BROOKS J D, MADDOX IS, The effect of the sugar source on citric acid production by *Aspergillus niger*. *Appl. Microb. Biotechnol*, v. 19, p. 393-397, 1984.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo, 2008.

LESNIAK W, Fermentation Substrates. In: KRISTIANSEN B, LINDEN J, MATTEY M, *Citric Acid Biotechnology*. London: Taylor Francis Ltd, 2002. Cap. 10, p. 149-159.

OLIVO JE, Síntese de glicoamilase por *Aspergillus awamori* sob diferentes condições de manipulação da concentração de oxigênio dissolvido. Tese de Doutorado - Escola Politécnica da USP. Departamento de Engenharia Química. São Paulo, 1998.

PANDEY A, NEGI S, SOCOOL C. R, VANDENBERGHE LPS, RODRIGUES C, CARVALHO JC, MEDEIROS ABP, SOCCOL CR, Production and Application of Citric Acid. In: *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Production, Isolation and Purification of Industrial Products*. [S.l.], 2016.

SILVA FH, Cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* em processos descontínuo e descontínuo alimentado utilizando mel invertido para produção de etanol. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Engenharia Química, Maringá: [s.n.], 2016.

VAZ SM, O Setor Sucoalcooleiro e a Sustentabilidade Ambiental. *Revista Científica da Ajes*, p. v.2 n.5, 2011.





ZANIN GM, MORAES FF, Tecnologia de Imobilização de Células e Enzimas Aplicada à Produção de Álcool de Biomassas. Relatório nº 2, p. 315-321, 1987.