

ESTUDO PRELIMINAR DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DA ALCACHOFRA DE JERUSALÉM (*Helianthus tuberosus* L.) PELO *Kluyveromyces marxianus* Lg. NO CEARÁ *

F.A.G. ALMEIDA **
T.P. DE JESUS **
S.D. FIGUEIRÓ ***
H.L. ARORA ****
J.O.B. CARIOCA ***

RESUMO

Dados preliminares de fermentação das variedades Dornburguer, Chicago, Topinsol, Mammoth French White (MFW) e Columbia, integrantes da espécie *Helianthus tuberosus* L. — Alcachofra de Jerusalém — são apresentados neste trabalho.

As culturas de *Kluyveromyces marxianus* e de *Saccharomyces cerevisiae* foram empregadas nos processos fermentativos da Alcachofra de Jerusalém.

A concentração de álcool e o rendimento da fermentação obtidos foram estudados como função da esterilização e viabilidade celular.

A fermentação de material hidrolisado, usando-se a variedade MFW, caracterizou-se pelo baixo teor alcoólico, período de tempo de fermentação relativamente curto e diferenças inexpressivas entre resultados obtidos com e sem aeração.

A fermentação direta do extrato da Alcachofra de Jerusalém, também usando a variedade MFW, caracterizou-se igualmente pelo baixo teor e rendimento alcoólicos e tempo de fermentação 5 a 6 vezes maior que o tempo de fermentação com material hidrolisado.

PALAVRAS-CHAVE: Fermentação, Alcachofra de Jerusalém, *Kluyveromyces marxianus*, Analítica.

SUMMARY

ALCOHOLIC FERMENTATION OF JERUSALEM, ARTICHOKE, *Helianthus tuberosus*

- * Pesquisa financiada pela Financiadora de Estudos e Projetos-FINEP.
- ** Professor Adjunto do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará.
- *** Engenheiro Químico do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará.
- **** Professor Titular do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará.

rosus L., by *Kluyveromyces marxianus* Lg. IN CEARÁ, BRAZIL.

In this paper results are presented about the fermentation of the varieties Dornburguer, Chicago, Topinsol, Mammoth French White (MFW) e Columbia, belonging to the species *Helianthus tuberosus* L (Jerusalem Artichoke).

Cultures of *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisiae* were employed in the fermentation of Jerusalem Artichoke.

The alcohol concentration and fermentation yield obtained were studied as function of the sterilization and cellular viability.

The fermentation of the hydrolysed material using the MFW variety was characterized by low alcoholic content, relatively short fermentation time, and negligible difference in results obtained with or without aeration.

The direct fermentation of Jerusalem Artichoke extract, using the same variety, was also characterized by low alcoholic content, but the fermentation time was 5-6 times more than that with the hydrolysed material.

INTRODUÇÃO

As plantas possuem a capacidade de sintetizar carboidratos em diversas formas tais como açúcares, amido, celulose e inulina. Certas plantas, como a Alcachofra de Jerusalém, (*Helianthus tuberosus* L) (RUTHERFORD & WESTON⁹), armazenam inulina durante o processo da fotossíntese. Dentre as várias formas de carboidratos, a inulina tem sido pouco explorada

para fins energéticos e não energéticos. A inulina é um polímero linear de alto peso molecular, contendo unidades de frutose com ligações do tipo (2,1), com uma molécula de glicose na extremidade como mostra a Figura 1 (NORMAN & ZITTAN⁸).

A inulina tem características distintas no sentido de que, após a hidrólise, é convertida em frutose, que se constitui um adoçante nutritivo com maior valor nas plantas naturais (Tabela 1) (ZITTAN¹³). A frutose, por sua vez, pode ser convertida em álcool etílico por processo de fermentação.

Dentre as plantas produtoras de inulina está a Alcachofra de Jerusalém, espécie nativa da América do Norte (GUIRAUD & GALZY⁵). A Universidade Federal do Ceará vem estudando, desde 1983, a sua produção agrícola, processos de extração da inulina, hidrólise e fermentação.

A Alcachofra de Jerusalém oferece várias vantagens agrícolas como: curto ciclo, adaptabi-

lidade aos solos pobres, moderadas doses de irrigação e adubos orgânicos, alta produtividade e acentuado teor de proteína em sua composição, como indica a Tabela 2. Estas vantagens a torna um potencial excelente no Nordeste para produção de ração animal, frutose e etanol.

A produção de álcool da Alcachofra de Jerusalém tem sido estudada desde o fim do século passado e foi utilizada durante duas guerras mundiais (CHABBERT et alii¹). O processo de conversão consiste de hidrólise ácida à alta temperatura, seguida por fermentação com leveduras clássicas, tais como *Saccharomyces cerevisiae* (UNDERKOFLEER et alii²). Essas leveduras não são bem apropriadas para fermentação efi-

TABELA 2

Composição Química da Alcachofra de Jerusalém em Diferentes Variedades

Conteúdo (%)	Farinha		Tubérculo	
	MFW	Colúmbia	MFW	Columbia
Umidade	6,0	6,2	76,2	76
Matéria Seca	94	93,7	23,8	24
Fibra	3,0	3,0	0,2	0,2
Cinzas	5,0	5,3	1,1	1,1
Proteína *	9,0	9,0	7,7	8,0

*Base Seca - (N x 6,25)

TABELA 1

Poder Adoçante Relativo de Alguns Açúcares (Zittan³)

Frutose	150
Sacarose	100
Dextrose	68
Maltose	30

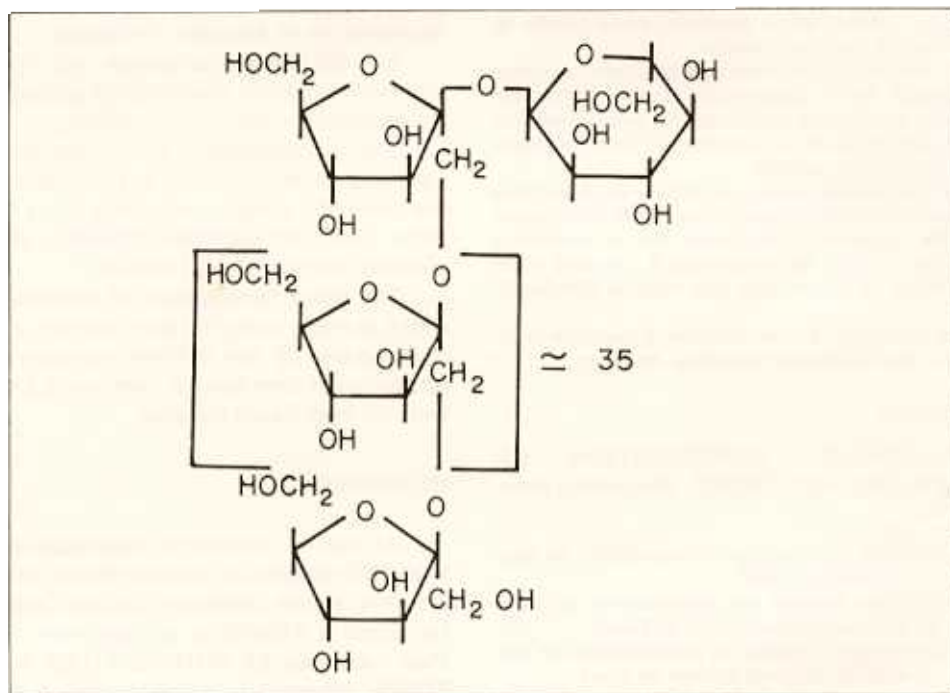


FIGURA 1 - Estrutura da Inulina

ciente da inulina, o carboidrato principal desta espécie.

SACHS et alii¹⁰ empregaram hidrólise ácida para decompor a inulina em açúcares fermentescíveis que, então, foram inoculados com *S. cerevisiae*. O rendimento do processo conjugado foi da ordem de 70%. GUIRAUD et alii⁴ têm estudado o uso de leveduras com atividade inulase para fermentação direta do extrato de inulina, sem anterior hidrólise ácida ou esterilização a pH 3,5. Nestas condições a levedura *K. marxianus* utilizada pelo grupo de Guiraud, produziu álcool até 12°GL do extrato da Alcachofra de Jerusalém, contendo 100g de açúcar por litro. UNDERKOFER et alii¹² têm usado vários tipos de leveduras com eficiência de conversão de até 90% em álcool, empregando cultivo contínuo destas no extrato não hidrolisado da Alcachofra de Jerusalém. CHABBERT et alii¹ estudaram a grande fermentabilidade dos açúcares da Alcachofra de Jerusalem como função de cultivo da cultura.

GUIRAUD et alii⁴ têm estudado grande número de variedades de leveduras visando otimizar o processo de produção de álcool da inulina. MARGARITIS & BAJPAI⁶ usaram as células imobilizadas de *Kluyveromyces marxianus* para produção contínua de etanol de Jerusalem Artichoke.

Neste trabalho, são apresentados dados preliminares de fermentação de algumas variedades da espécie estudada. A concentração de álcool e rendimento de fermentação obtidos foram estudados como função de esterilização e viabilidade celular.

MATERIAIS E MÉTODOS

As variedades de Alcachofra de Jerusalém, Dornburguer, Chicago, Topinsol, Mammoth French White (MFW) e Colúmbia, produzidas no campo de estudo da Universidade Federal do Ceará, foram utilizadas nesta pesquisa.

A cultura de *Kluyveromyces marxianus* foi cedida pelo Prof. J.P. Guiraud, da Ecole National Agronomique de Montpellier, França, a qual está sendo mantida em meio TGE-AGAR. A levedura empregada no processo fermentativo do material hidrolisado, (UNDERKOFER et alii¹²), a partir do fermento Fleischmann, foi a *Saccharomyces cerevisiae*.

A fermentação foi produzida a 30°C, em erlenmeyer com 400ml de extrato inoculado com leveduras de *K. marxianus*, após cultivo no mesmo meio (50ml), complementado com 0,5% de inulina e 0,5% de extrato de levedura, e

cujo crescimento foi realizado sob agitação, a 30°C, por 24h.

Para preparar os extratos fermentescíveis da Alcachofra de Jerusalém, os tubérculos foram lavados, moídos e passados numa prensa manual, seguindo-se em alguns casos, esterilização sob pressão, a 120°C por 15min.

O número de células (COELHO²) foi determinado por contagem direta em um microscópio do tipo BAUSCH & LOMB. A estimativa aproximada do açúcar total foi obtida com o uso de um refratômetro. Açúcar redutor total foi determinado através do método DNS-ácido dinitro salicílico (MILLER⁷); o conteúdo de açúcar total usando o método antrona modificado (TREVELYAN & HARRISSON¹¹) e o teor alcoólico foi medido através do método de destilação.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dois tipos de experimentos foram conduzidos com a fermentação da Alcachofra de Jerusalém: (1) fermentação com a *Saccharomyces cerevisiae* após hidrólise ácida da farinha da Alcachofra de Jerusalém, usando as variedades Colúmbia e MFW, e (2) fermentação direta com a *Kluyveromyces marxianus*, do extrato da Alcachofra de Jerusalém, usando as variedades Dornburguer, Chicago, Topinsol e MFW.

As condições do processo empregado e os resultados obtidos são mostrados nas Figuras 2 a 8 e Tabelas 3 e 4.

Na apresentação dos resultados, dois tipos de rendimentos são distinguidos (GUIRAUD et alii⁴): (1) rendimento de fermentação (n_{Δ}), definido como a percentagem de carboidratos consumidos durante a fermentação, e (2) rendimento alcoólico (n_{alc}), expresso em gramas de álcool produzido por 100g de carboidratos consumidos.

Para fermentação com material hidrolisado, foram empregadas as variedades Colúmbia e MFW. A fermentação é caracterizada pelo baixo teor alcoólico (3 a 4°LG), período de tempo de fermentação relativamente curto (8 a 10h) e diferenças inexpressivas entre resultados obtidos com e sem aeração. O rendimento alcoólico é baixo como mostra a Tabela 3.

A fermentação direta do extrato da Alcachofra de Jerusalém demonstrou pequena variação no rendimento com extrato esterilizado, mostrado na Tabela 4.

A variação do número de células, acima de um certo valor mínimo, não tem influência substancial nos rendimentos alcoólicos e de fermentação. Esta afirmação é consistente com a literatura (GUIRAUD³) onde o mesmo teor

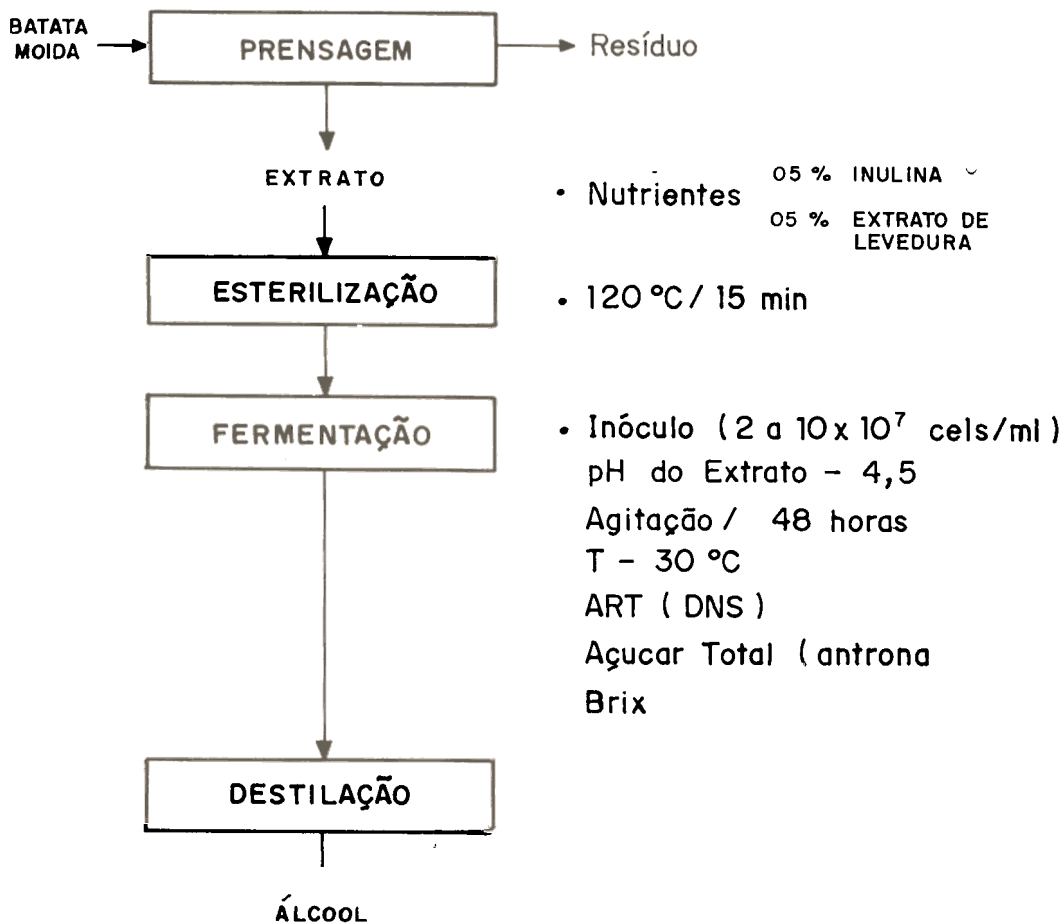


FIGURA 2 – Processo de Fermentação Alcólica da Alcachofra de Jerusalém Com *K. Marxianus* Lg

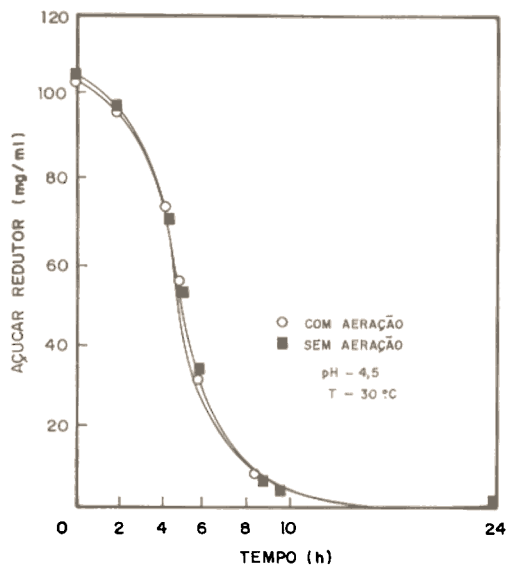


FIGURA 3 – Fermentação de Hidrolisado de Farinha de Jerusalém Artichoke (Variedade Colúmbia) com *S. cerevisiae* (6g/1).

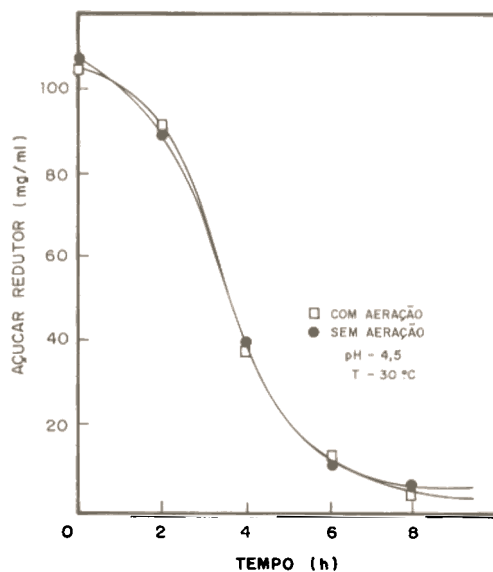


FIGURA 4 – Fermentação do Hidrolisado da Farinha de Jerusalém Artichoke (Variedade MFV) com a *S. cerevisiae* (6g/1).

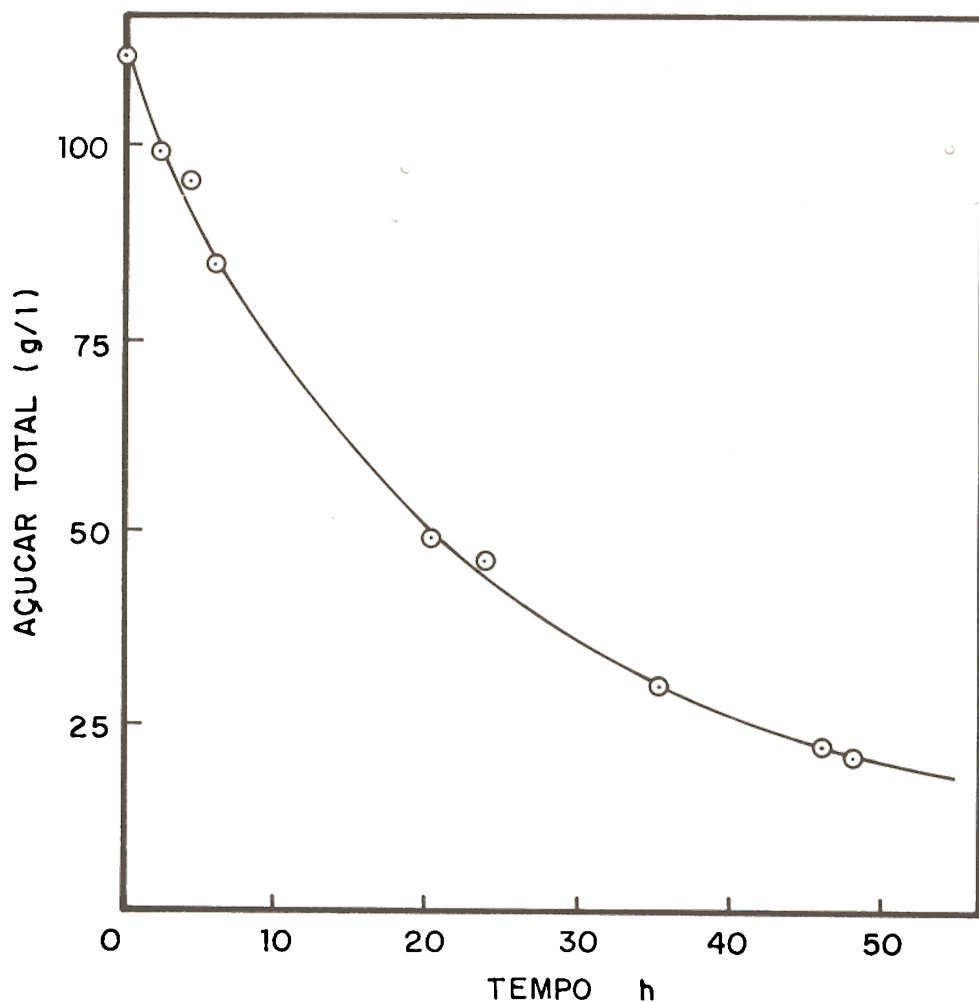


FIGURA 5 — Fermentação da Alcachofra de Jerusalém (Variedade MFW) com *k. marxianus* Lg.

TABELA 3

Influência da Aeração na Fermentação da Farinha Hidrolizada⁽¹⁾ da Alcachofra de Jerusalém Com a *S. cerevisiae*.

Variedade	Tratamento do Estrato	°GL	n _f (%)	n _{alc} (%)
COLÚMBIA	com aeração	4	98	38
	sem aeração	3,5	97	40
MFW	com aeração	5	96	31
	sem aeração	4	96	27

(1) 15g de matéria seca, 100ml de água destilada, 1h a 80°C com agitação, pH 1,0 (HCl).

alcoólico foi encontrado com variações do número de 2 a 50 x 10⁷ cels./ml.

O tempo de fermentação direta do extrato, com a variedade MFW, é 5 a 6 vezes maior que

o tempo de fermentação com material hidrolisado, com obtenção do mesmo teor alcoólico (3°GL) e rendimento. O tempo elevado de estocagem talvez tenha contribuído para um baixo rendimento alcoólico. A pesquisa deve ser estendida para outras variedades para uma afirmação geral.

O grau alcoólico obtido com fermentação direta do extrato da Alcachofra de Jerusalém, variedades, Dornburguer, Chicago, Topinsol, varia entre 5 e 7°GL.

O objetivo da pesquisa visa a otimização do sistema agro-industrial para produção econômica de álcool e proteínas da Alcachofra de Jerusalém. Para atingir este fim, estudos estão sendo realizados com várias variedades desta planta, a fim de relacionar os fatores agrônômicos de produtividade, período de safra e colheita, nível de irrigação e adubação e qualidade do solo

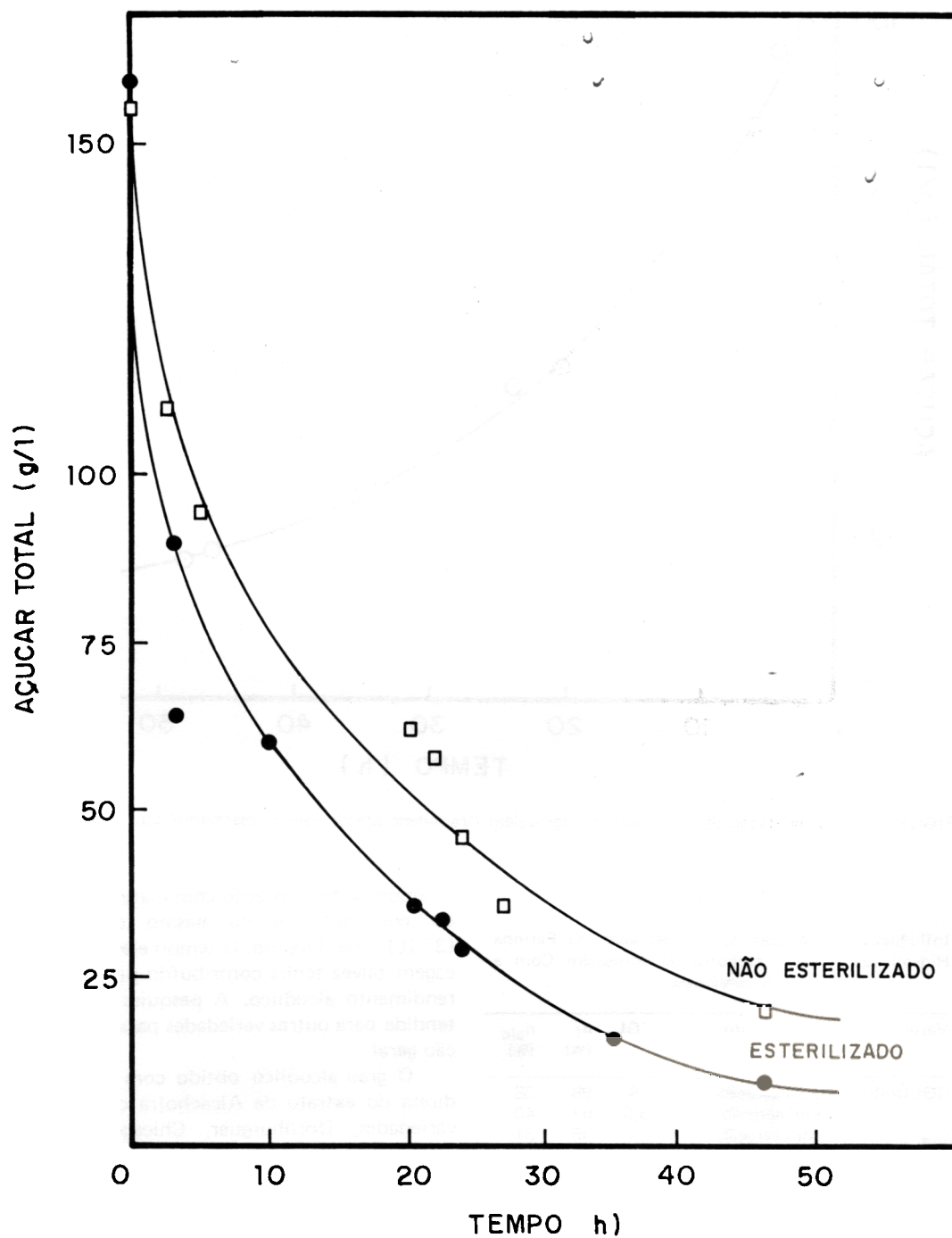


FIGURA 6 – Fermentação do Extrato da Alcachofra de Jerusalém (Variedade Chicago) com *K. marxianus* Lg pH = 4,5; T = 30°C, com Agitação.

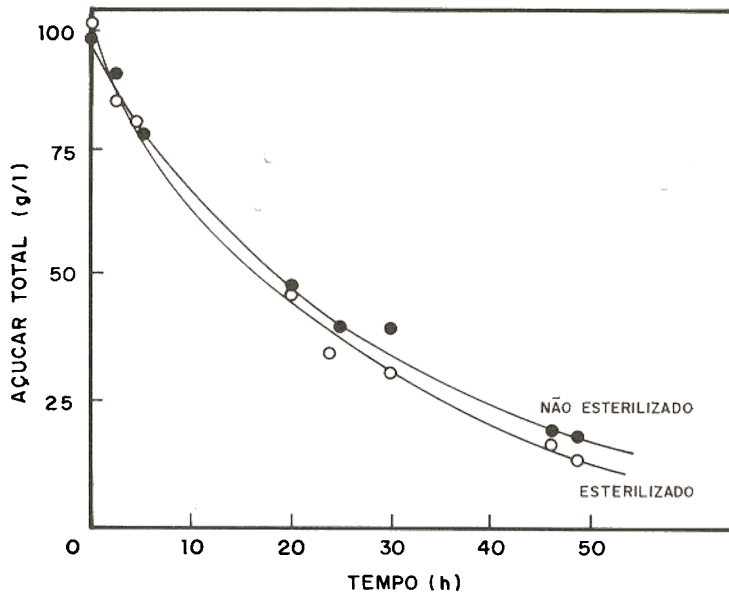


FIGURA 7 – Fermentação do Extrato da Alcachofra de Jerusalém (Variedade Topinsol) com *K. marxianus* Lg ph = 4,5; T = 30°C, com agitação.

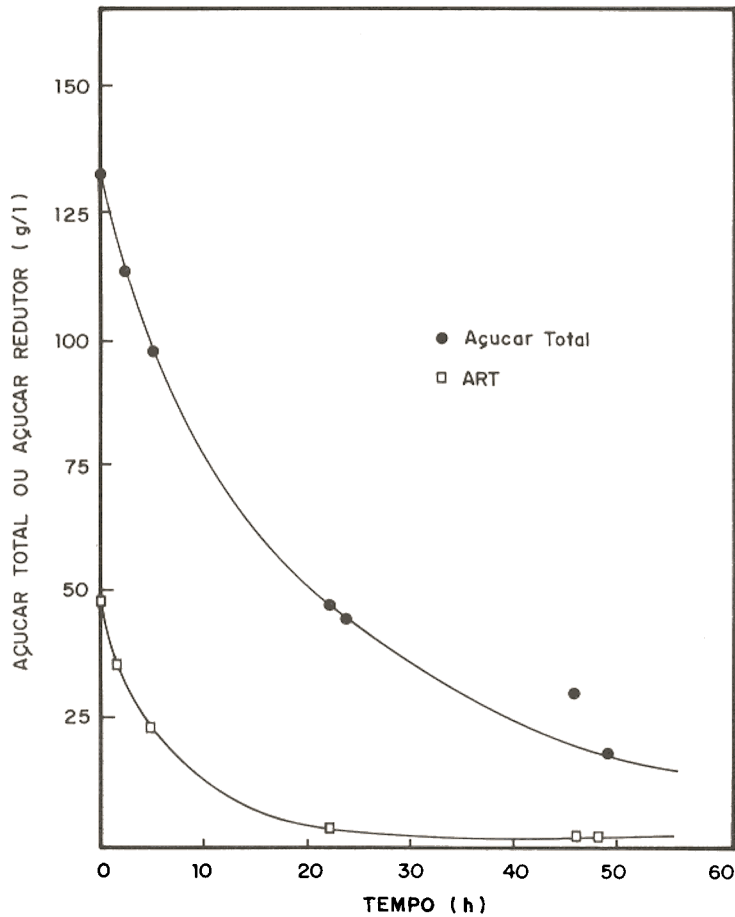


FIGURA 8 – Fermentação do Extrato da Alcachofra de Jerusalém (Variedade Dornburguer) com *K. marxianus* Lg.

Tabela 4

Fermentação do Extrato de Algumas Variedades da Alcachofra de Jerusalém com a *K. marxianus* LG.

Variedade	Tempo de Estocagem (Dias)	Açúcar Total (g/1)		N.º de cels/ml x(10 ⁷)	Viabilidade Celular (%)	Esterilização	°GL (%)	n _{alc}	n _{alc} (%)
		Inicial	Final						
Dornburger	8	132	17	4,15	93	Sim	7	87	48
Chicago	7	158	9	5,2	75	Sim	6	94	32
Chicago	7	155	20	3,0	59	Não	6	89	34
	5	100	14	7,3	74	Sim	5	86	46
Topinsol	5	98	18	4,4	43	Não	5	81	49
MFW	30	114	20	2,7	N.D	Sim	3	82	

N.D – Não determinado

*Fermentação a 30°C, por 48 h, com adição dos nutrientes (0,5% de inulina e 0,5% de extrato de levedura).

com o teor de inulina e proteína no tubérculo e com a composição da rama da planta.

A eficiência real de conversão em álcool pode ser determinada pela divisão do rendimento alcoólico (N_{alc}) por um fator teórico de 51,1. A Tabela 4 mostra que as eficiências obtidas são bastante altas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHABBERT, N. et alii. Productivity and Fermentability of Jerusalem Artichoke According to Harvesting Date-Biomass, vol. 3, 1983, p. 209.
2. COELHO, L. L. *Técnicas de Laboratório Clínico*. S.N.T., 1964.
3. GUIRAUD, J.P. Selection of Yeast Strains for Ethanol Production from Inulin. *Folia Microbiol.*, Vol. 26, 1981, p. 147.
4. GUIRAUD, J.P. et alii. Optimization of Alcohol Production from Jerusalem Artichoke, *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 14, 1982, p. 81.
5. GUIRAUD, J.P. & GALZY, P. Valdrização du Topinambour par la Levure: Production de Sirop Riche en Fructose, d'Alcool et de Protéines. *Bio-Sciences*, Vol. 1, n.º 4, 1982, p. 56.
6. MARGARITIS, A. & BAJPAI, P. Continuous Ethanol Production from Jerusalem Artichoke Tubers II. Use of Immobilized Cells of *Kluyveromyces marxianus*. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXIV, 1982, p. 1483.
7. MILLER, G.L. J. *Analytical Chemistry* 31., 1959, p. 426.
8. NORMAM, B.E. & ZITTAN, L. *Enzymatic Hydrolysis of Inulin to Fructose*. Anais Japanese Society of Fermentation Technology Symposium, Osaka, Japan, 1982.
9. RUTHERFORD, P.P. & WESTON, E.D. Carbohydrate Changes During Cold Storage of Some Inulin-Containing Roots and Tubers. *Biochemistry*. Vol. 7, 1968, p. 175.
10. SACHS, R.M. et alii. *Fuel Alcohol from Jerusalem Artichoke*. California Agriculture, 1981, p. 4.
11. TREVELYAN, W. E. & HARRISSON. *J. Analytical Biochemistry* 32 1969, p. 420.
12. UNDERKOFLE, L.A. et alii. Alcoholic Fermentation of Jerusalem Artichoke, *Industrial and Engineering Chemistry*. Vol. 29, 1947, p. 1160.
13. ZITTAN, L. Enzymatic Hydrolysis of Inulin – An Alternative Way to Fructose Production. *Starch*, Vol. 33, N.º 11, 1981, p. 333.