

## Aplicação da metodologia da superfície de resposta para otimização da fermentação alcoólica do soro de queijo

### *Application of response surface methodology for optimizing the alcoholic fermentation of whey*

Magno de Sousa Araújo<sup>1</sup>, Mércia Melo de Almeida<sup>2</sup>, Anderson dos Santos Formiga<sup>3</sup>, José Carlos Mota<sup>4</sup>, Vital de Sousa Queiroz<sup>5</sup>

**Resumo:** O soro é um resíduo de elevada carga orgânica e de difícil biodegradabilidade, proveniente das fábricas artesanais de queijo. A utilização do soro em processos fermentativos pode contribuir para a redução dos danos causados ao meio ambiente e gerar produtos de maior valor agregado. Um planejamento experimental adequado permite, além de aprimoramento de processos, a redução da variabilidade de resultados, a redução de tempo de análise e dos custos envolvidos. Desta forma, este trabalho teve como objetivo utilizar a metodologia do planejamento experimental e análise da superfície de resposta para otimização do processo de fermentação alcoólica do soro de queijo coalho. Na fermentação alcoólica foi utilizada a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e um planejamento experimental fatorial  $2^2$  com três repetições no ponto central, avaliando os efeitos das concentrações de levedura e de sacarose sobre a variável dependente produtividade. De acordo com os resultados verificou-se uma maior produção de etanol com concentrações de sacarose de 180g/L e de levedura de 16g/L, obtendo-se assim um fermentado com teor alcoólico de 9,8°GL. Os efeitos da concentração de levedura, concentração de sacarose e da interação entre essas foram estatisticamente significativos em nível de 95% de confiança, sendo que a concentração de levedura foi a variável de maior influência. Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que é viável o uso do soro de queijo na produção de etanol.

**Palavras-chave:** etanol, fermentação alcoólica, planejamento experimental.

**Abstract:** Whey is a residue of high organic loading and difficult biodegradability craft from cheese processing. The use of whey fermentation processes can contribute to reducing the harm caused to the environment and to generate products with higher added value. A suitable experimental design allows, in addition to improving processes, reducing the variability of results, a reduction in analysis time and cost involved. Thus, this work aimed to use the methodology of experimental design and response surface analysis for the optimization of the fermentation process rennet whey cheese. In alcoholic fermentation the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and  $2^2$  factorial experimental design was used with three replications at the central point, evaluating the effects of concentrations of yeast and sucrose on productivity dependent variable. According to the results we found a greater production of ethanol with sucrose concentrations of 180 g / L and yeast 16g / L, thereby obtaining a fermented with an alcohol content of 9.8 ° GL. The effects of yeast concentration, sucrose concentration and the interaction of these were statistically significant at the 95% level of confidence, whereas the concentration of yeast was the most influential variable. Based on these results, we can conclude that it is feasible to use the whey in the production of ethanol.

**Keywords:** ethanol, alcoholic fermentation, experimental design.

\*Autor para correspondência

Recebido em 02/09/2014 e aceito em 05/09/2014

<sup>1</sup>Mestre em Sistemas Agroindustriais – Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/UATA, Campus Pombal PB - Rua Jairo Vieira Feitosa, n 1770, Bairro dos Pereiros, CEP: 58.840.000. E-mail: magno\_cgpb@hotmail.com

<sup>2</sup>Prof. D. Sc da Universidade Federal da Paraíba - UFPB/CT, Campus João Pessoa - Cidade Universitária – S/N, CEP: 58051-900. E-mail: mercia01@gmail.com

<sup>3</sup>Aluno do curso de Engenharia de alimentos - Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/UATA, Campus Pombal PB - Rua Jairo Vieira Feitosa, n 1770, Bairro dos Pereiros, CEP: 58.840.000

<sup>4</sup>Prof. D. Sc. Universidade Estadual da Paraíba - UEPB/CCT, Campus Campina Grande - Cidade Universitária – S/N, E-mail: jcarlosmota10@gmail.com

<sup>5</sup>Prof. D. Sc da Universidade Federal da Paraíba - UFPB/CT, Campus João Pessoa - Cidade Universitária – S/N, CEP: 58051-900. E-mail: vitalqueiroz@gmail.com

## INTRODUÇÃO

O etanol vem ocupando um lugar de destaque no cenário energético do país e do mundo. No Brasil, o etanol renasceu com o surgimento dos carros bicompostíveis, além das várias manifestações de governo, empresas e pesquisadores, que mostraram o potencial de mercado e da tecnologia de produção de etanol (OLIVEIRA & VASCONCELOS, 2006).

A utilização do etanol combustível automotivo no Brasil ganhou importância na década de 70 com o surgimento do Proálcool (Programa do álcool), cuja finalidade estratégica foi substituir parte da gasolina consumida no mercado interno, reduzindo assim, as importações de petróleo (SOUZA, 2006).

No cenário internacional, o Brasil posiciona-se como o maior produtor e exportador mundial de açúcar de cana e o maior produtor e consumidor de álcool, sendo também o único país a introduzir, em larga escala, o álcool como combustível alternativo ao petróleo (SILVA et al., 2008).

A produção de etanol no Brasil se faz quase que exclusivamente por fermentação de mosto, constituído por caldo de cana ou melaço, ou ainda por misturas destes dois componentes. Alguns macronutrientes e/ou micronutrientes também são adicionados ao mosto, a fim de complementar as deficiências do meio, quanto a certos elementos indispensáveis as leveduras para uma máxima transformação de açúcares. O microrganismo agente da fermentação mais utilizado é a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (SILVA et al., 2008).

Uma alternativa recomendável é conferir às usinas produtoras de etanol um caráter polivalente, ou seja, torná-las capazes de operar com diferentes matérias-primas potencialmente disponíveis na região Nordeste.

Segundo Almeida (2010), no estado da Paraíba, mais de 70 municípios são produtores de queijo, um empreendimento que gera renda para quem atua nesse ramo, sendo a grande maioria artesanal e instalada nas microrregiões de Catolé do Rocha, Cajazeiras, Sousa, Itaporanga, Pombal, Patos, Piancó, Serra de Teixeira e Seridó Ocidental. A microrregião de Pombal é considerada a maior bacia leiteira da Paraíba, e a fabricação artesanal de queijo é uma das principais atividades dessa região, representado por cerca de 40 micros empreendimentos (queijeiras) de médio e pequeno porte, distribuídos em sua maior parte na zona rural desse município. Esses micros empreendimentos contribuem significativamente na formação de renda dos produtores de leite e na economia da região.

O soro do leite é obtido através do processamento do queijo, no qual a caseína é insolubilizada no seu ponto isoelétrico pela ação da renina, sendo o líquido remanescente chamado de soro doce. Pode também ser obtido por precipitação ácida, sendo chamado de soro ácido. Os tipos de soro obtidos por esses dois diferentes processos apresentam composições diferentes (PELEGRINE & CARRASQUEIRA, 2008).

O aproveitamento do soro de queijo na produção de etanol terá como benefício à redução do potencial poluidor desse resíduo e obtenção de um produto de maior

valor agregado. As aplicações do etanol são inúmeras, englobando indústrias de bebidas, farmacêuticas, cosméticos, produtos de limpeza, uso doméstico, combustíveis entre outros.

A utilização do método de planejamento experimental fatorial, em estudos que abrangem muitas variáveis, como é o caso da fermentação alcoólica, é importante, pois torna possível o planejamento e a realização de maneira organizada de uma quantidade mínima necessária de experimentos, economizando tempo e recursos financeiros.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência das variáveis independentes concentrações de levedura e de sacarose sobre a variável dependente produtividade, no processo de fermentação alcoólica do soro, através da metodologia do planejamento experimental fatorial e análise da superfície de resposta.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Soro de queijo (Substrato)

Foi utilizado como substrato o soro de queijo resultante da produção de queijo coalho proveniente de uma queijeira localizada na cidade de Pombal/PB.

### Microrganismo

Foi utilizada a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, fermento biológico úmido (fermento de panificação) da marca comercial Fleischmann Royal adquirida no comércio local.

### Caracterização do soro de queijo

Com o objetivo de conhecer os componentes do soro, foi realizada a caracterização físico-química na sua forma *in natura*. O soro foi analisado em termos de acidez (método Dornic), pH (potenciômetro), extrato seco total (secagem em estufa), cinzas (gravimetria), teor de gordura (método de Gerber), Lactose (Licor de Fehling), proteína (método de Kjeldahl), e densidade (termolactodensímetro). Todas as determinações feitas em triplicata e seguiram a metodologia de BRASIL (2005).

### Planejamento Experimental

Foi realizado um planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com três repetições no ponto central. Os ensaios foram realizados aleatoriamente. As variáveis chamadas independentes foram a concentração de sacarose e a concentração de inóculo adicionados ao meio, cujos níveis (-1 e +1) corresponderam a 120 e 180 g/L e 10 e 16 g/L. E como variável dependente foi avaliado a produtividade expressa em (g/L.h). Os níveis foram definidos baseados em estudos realizados Florentino (2006) quando trabalhou com soro de queijo coalho em processos fermentativos.

Na Tabela 1 estão expostos os níveis reais e codificados das variáveis independentes de entrada. A matriz de planejamento fatorial 2<sup>2</sup> é mostrada na Tabela 2, totalizando 7 experimentos, sendo 4 distintos e mais 3 no ponto central.

**Tabela 1** - Valores codificados e reais das variáveis de entrada

Variáveis	Nível -1	Nível 0	Nível +1
CS (g/L)	120 g/L	150 g/L	180 g/L
CL (g/L)	10 g/L	13 g/L	16 g/L

Variáveis de entrada:

Variável 1 - (CS) Concentração de sacarose (g/L)

Variável 2 - (CL) Concentração de levedura (g/L) (b.u.)

**Tabela 2** - Matriz de planejamento fatorial completo 2<sup>2</sup> + 3 PC

Experimentos	CS	CL
1	-1 (120 g/L)	-1 (10 g/L)
2	+1 (180 g/L)	-1 (10 g/L)
3	-1 (120 g/L)	+1 (16 g/L)
4	+1 (180 g/L)	+1 (16 g/L)
5	0 (150 g/L)	0 (13 g/L)
6	0 (150 g/L)	0 (13 g/L)
7	0 (150 g/L)	0 (13 g/L)

O planejamento fatorial teve por objetivo otimizar os procedimentos operacionais no processo fermentativo do soro de queijo e avaliar qual experimento apresentava maior produção de álcool. Além disso, o planejamento experimental visou a otimização do processo além de avaliar quantitativamente a influência das variáveis de entrada: concentração de sacarose e concentração de levedura sobre a variável resposta produtividade. Utilizou-se como ferramenta o software STATISTICA 7.0 para a interpretação dos dados.

### Cálculo da produtividade

A produtividade das fermentações foi calculada, utilizando-se os valores de etanol produzido (P) em (g/L) e o tempo total (t) de fermentação (h), segundo a Equação 1:

$$\text{Produtividade (g/L.h)} = \frac{P}{t} \quad (1)$$

### Processo Fermentativo

Para o processo de fermentação foi utilizada a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Os experimentos foram conduzidos aleatoriamente em sistema de batelada simples constituído de biorreatores (recipientes de polietileno) à temperatura de 30 ± 2°C. O volume de mosto fermentado em cada reator foi de 8 litros. Para o monitoramento das fermentações do soro de queijo coalho foram coletadas amostras a cada 3 horas de fermentação para o acompanhamento dos seguintes parâmetros: teor alcoólico (ebuliômetro), concentração de biomassa (método de massa seca), sólidos solúveis - °Brix (refratômetro), pH (potenciômetro) e acidez total (titulometria).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização do soro de queijo

A caracterização do soro de queijo coalho *in natura* foi realizada com o objetivo de conhecer os componentes presentes no soro, e avaliar a viabilidade fermentativa do soro. A composição do soro pode variar de acordo com a qualidade e tipo de leite utilizado, tipo de queijo produzido, e com o processo de coagulação empregado, que pode ser por acidificação ou pela adição de coalho.

As médias dos resultados das análises físico-químicas do soro resultante do queijo coalho são apresentadas na Tabela 3.

**Tabela 3** – Média dos resultados das análises físico-químicas do soro de queijo coalho *in natura*

Componentes	Média ± desvio padrão
pH	6,59 ± 0,05
Umidade (%)	93,10 ± 0,05
E.S.T (%)	6,90 ± 0,06
Acidez (°D)	10,70 ± 0,57
Cinzas (%)	0,41 ± 0,06
Densidade (g/L)	1.024,90 ± 0,03
Lactose (%)	3,73 ± 0,02
Gordura (%)	0,46 ± 0,05
Proteína (%)	2,52 ± 0,06

Observando-se os resultados da Tabela 3, verifica-se que a composição observada do soro *in natura* foi próxima aos resultados obtidos por Florentino (2006) que também utilizou soro de queijo coalho em processos de fermentação alcoólica testando as leveduras *Kluyveromyces lactis* e *Saccharomyces cerevisiae* para a produção de vinagre.

O pH do soro de queijo foi de 6,59. Segundo Oliveira (2009), o soro doce de coagulação enzimática possui valores de pH entre 6,10 e 6,60. Desta forma, se fez necessário a correção do pH para a faixa ideal da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que é de 4 a 4,5, viabilizando o uso deste soro no processo de fermentação alcoólica.

Os teores de umidade de 93,1% e extrato seco total de 6,9% estão bem próximos aos de Furtado (1991) que estudou a composição de vários tipos de queijos e o soro gerado no processo, com percentuais de 93,6% e 6,34% respectivamente.

A acidez do soro de 10,7°D foi superior à média dos valores observados por Florêncio, (2008), quando caracterizou soro de queijo de coagulação enzimática de queijeiras artesanais (9 °D) da zona rural da cidade de Montadas/PB.

A concentração de lactose no leite bovino e no soro de queijo varia amplamente entre as espécies devido à raça, fator de individualidade e principalmente à fase de

lactação do animal (BALDASSO, 2008). Considerando a média da lactose no leite de 4,6% e levando-se em consideração a quantidade de lactose retida na coagulação enzimática, a quantidade de lactose de 3,73% observada neste trabalho, conforme Florentino (2006) pode ser resultante da hidrólise dos microrganismos lácticos e da retenção da lactose na caseína do queijo coalho produzido.

Observa-se na Tabela 3 que o percentual de cinzas encontrado (0,41%), está próximo ao encontrado por Florentino et al. (2007) que foi de 0,55%, ressaltando que para o processo fermentativo, esses compostos servirão de nutrientes para o agente da fermentação, a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Verifica-se que a média da densidade observada no soro de queijo (1.024,9 g/L), não favorece comparações precisas pelo fato de que a média da densidade e de todos os outros componentes presentes no soro dependem do tipo de queijo produzido, bem como de fatores ligados ao leite como: raça e alimentação do animal, sazonalidade, período de lactação, tipo de queijo produzido e processo de coagulação empregado (por acidificação ou pela adição de coalho).

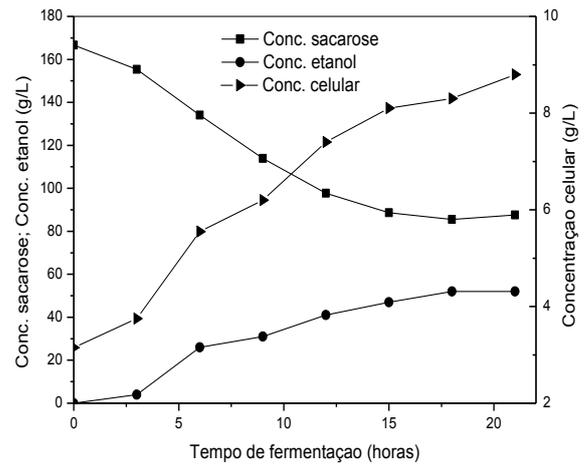
Segundo Furtado (1991), o teor de gordura no soro de queijo varia de 0,2 a 0,5%. Com isso o valor encontrado, de 0,46% apresenta-se dentro da média dos soros de queijos procedentes de coagulação enzimática.

Os teores de umidade (93,10%), cinzas (0,41%) e gordura (0,46%) foram bem próximos aos resultados obtidos por Pelegrine & Carrasqueira (2008) quando caracterizaram o soro de queijo para o aproveitamento na formulação de dois tipos de bebidas (refresco de inhame e suco de abacaxi vitaminado) com teores de umidade, cinzas e gorduras de 92,01%, 0,50% e 0,44%, respectivamente.

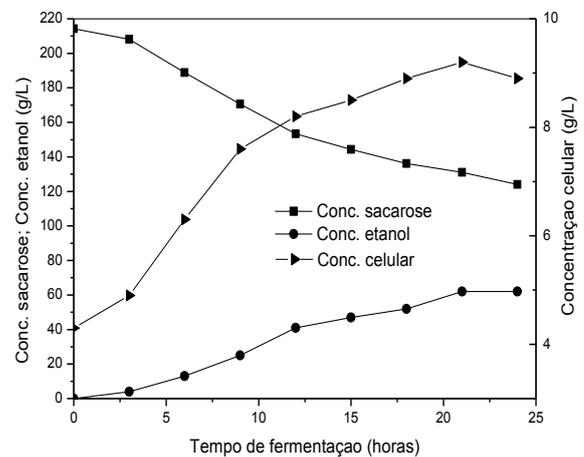
De acordo com a Tabela 3, o teor protéico de 2,52% do soro de queijo coalho *in natura* foi superior ao encontrado por Florentino (2006) que foi 1,78%, sendo um valor médio obtido normalmente na produção de queijo de coagulação similar produzido com técnicas apropriadas.

#### Acompanhamento cinético da fermentação alcoólica

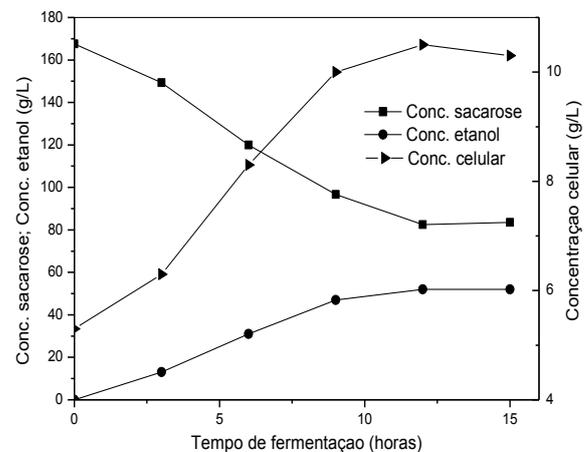
As curvas dos processos fermentativos foram construídas a partir das principais variáveis do sistema: Concentração de etanol produzido (g/L), concentração de sacarose (g/L) e concentração de biomassa (g/L). Os perfis dos 7 experimentos realizados podem ser observados nas Figuras 1 a 5.



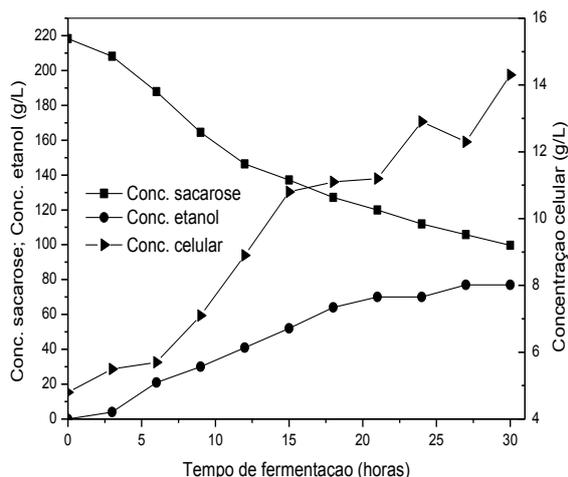
**Figura 1** - Cinética fermentativa do Experimento 1 (CS = 120 g/L; CL = 10 g/L)



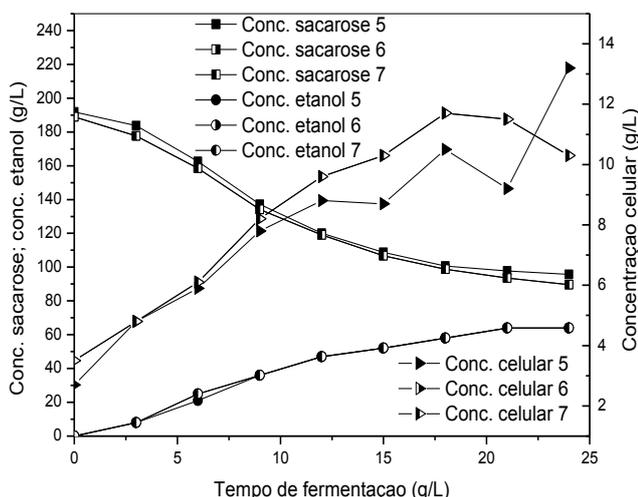
**Figura 2** - Cinética fermentativa do Experimento 2 (CS = 180 g/L; CL = 10 g/L)



**Figura 3** - Cinética fermentativa do Experimento 3 (CS = 120 g/L; CL = 16 g/L)



**Figura 4** – Acompanhamento cinético da fermentação alcoólica correspondente ao Experimento 4 (CS = 180 g/L; CL = 16 g/L)



**Figura 5** – Acompanhamento cinético da fermentação alcoólica correspondente ao ponto central - experimentos 5, 6 e 7 (CS=150 g/L; CL = 13 g/L)

Analisando a concentração de substrato (açúcares) observou-se que o consumo médio de substrato nos experimentos realizados na fermentação alcoólica do soro foi de 49,9%. O maior consumo de substrato ocorreu no experimento 4 com 54,31%, apresentando maior conversão de açúcar em etanol. Florentino (2006) estudando a fermentação alcoólica do soro de queijo artesanal obteve um consumo de 66,81% em seu experimento de maior conversão, sendo este valor um pouco acima da média observada neste trabalho, que foi de 49,9%.

Observando-se as curvas de crescimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Figuras 1 a 5) nota-se que a fase de adaptação (Lag) das células ocorreu em média nas seis primeiras horas de fermentação, período este relativamente curto devido à adaptação da levedura e a síntese das enzimas invertase responsáveis pela quebra

da molécula de sacarose em moléculas de frutose e glicose. Comportamentos semelhantes foram observados em trabalhos realizados por Florentino (2006) e por Florêncio (2008) que também utilizaram o soro de queijo coalho em processos fermentativos.

Com relação à produção de etanol, verificou-se que deu início nas primeiras três horas de fermentação, em todos os experimentos realizados. Observou-se ainda que, a maior síntese de etanol ocorreu no experimento 4, com teor de 9,8°GL que corresponde a 77 gramas de etanol por litro de fermentado.

Quanto aos experimentos do ponto central (experimentos 5, 6 e 7) verificou-se que houve boa reprodutibilidade dos dados experimentais quando realizou-se três fermentações consecutivas com as mesmas condições operacionais.

Os valores das concentrações de etanol expressos em mL/100mL resultantes das 7 fermentações estão descritos na Tabela 4. O teor alcoólico médio foi de 7,87% v/v que corresponde a uma concentração de etanol de 62,13 g/L. As fermentações foram conduzidas dentro dos padrões normais e com teor alcoólico variando de 6,6 a 9,8% v/v. De acordo com Silva (1998), O etanol é o metabólito produzido em maior quantidade em uma fermentação alcoólica, podendo ser tóxico em uma determinada concentração, causando redução na viabilidade celular das leveduras.

**Tabela 4** – Matriz de planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com a produção de etanol em mL/100mL

Experimentos	CS	CL	Etanol (mL/100mL)
1	120 g/L	10 g/L	6,6
2	180 g/L	10 g/L	7,8
3	120 g/L	16 g/L	6,6
4	180 g/L	16 g/L	9,8
5	150 g/L	13 g/L	8,1
6	150 g/L	13 g/L	8,1
7	150 g/L	13 g/L	8,1

Verifica-se na Tabela 4, que os teores de etanol observados neste trabalho, com valor médio de 7,87% v/v, não foram suficientes para causar grande inibição no crescimento da levedura durante o processo fermentativo. Conforme Ghose & Tyagi (1979), o teor alcoólico de 11,1% pode causar inibição no crescimento celular e quando atinge valores acima de 14,5% não ocorre mais produção de etanol. Luong (1985) acrescenta que as leveduras não se reproduzem quando a concentração de etanol ultrapassa valores de 13,7% v/v.

### Planejamento experimental

Foi elaborado um planejamento experimental fatorial 2<sup>2</sup> para avaliar a influência das variáveis independentes concentração de levedura e concentração de sacarose sobre a variável resposta produtividade, totalizando 7 experimentos realizados aleatoriamente,

conforme a Mariz de planejamento fatorial apresentado na Tabela 5.

**Tabela 5** – Matriz de planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com a resposta produtividade

Experimentos	CS	CL	Produtividade (g/L.h)
1	120 g/L	10 g/L	2,89
2	180 g/L	10 g/L	2,93
3	120 g/L	16 g/L	4,34
4	180 g/L	16 g/L	2,86
5	150 g/L	13 g/L	3,04
6	150 g/L	13 g/L	3,04
7	150 g/L	13 g/L	3,04

Com os resultados experimentais obtidos para cada hora de fermentação analisada, a partir do planejamento fatorial, foi possível ajustar os dados para obter um modelo linear que relacionasse a produtividade com as variáveis estudadas.

**Tabela 6** – Análise de variância para a produtividade ao nível de 95% de confiança

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	Teste F
Regressão	1,5721	4	0,393	3,61
Resíduo	0,0792	3	0,026	
Total	1,6513	6		
R <sup>2</sup>	0,95			
F <sub>tab.</sub>	4,12			
F <sub>calc.</sub>	14,89			

G.L. – grau de liberdade; S.Q. – soma dos quadrados; Q.M. – quadrado médio dos desvios

O teste F apresenta a razão entre o F calculado e o F tabelado, sempre que esta relação for maior que 1,0 a regressão é estatisticamente significativa havendo relação entre as variáveis independentes e dependentes. Para que uma regressão não seja apenas estatisticamente significativa, mas também útil para fins preditivos, o valor da razão deve ser no mínimo maior que quatro (Barros Neto et al., 2001).

Neste caso o modelo apresentado na Equação 2 tem 95,0% das variações obtidas explicadas pelo modelo e com um valor da razão de F<sub>calculado</sub> por F<sub>tabelado</sub> de 3,61; indicando que o modelo é estatisticamente significativo com 95% de confiança (Barros Neto et al., 2001).

O diagrama de Pareto ilustra os efeitos das variáveis de entrada (concentração de levedura e sacarose) e suas interações para o modelo de produtividade. A Figura 6 indica os efeitos significativos para produtividade em nível de 95% de confiança para a estimativa dos efeitos. De acordo com o Diagrama de Pareto verifica-se que todos os efeitos são estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança

Verifica-se na Figura 6 que os efeitos da concentração de levedura, concentração de sacarose e os efeitos da interação entre levedura e sacarose apresentaram-se estatisticamente significativos. A interação entre a concentração de sacarose e a concentração de levedura foi que apresentou maior influência.

Na Equação 2 é apresentada o modelo de regressão, o respectivo coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) e o Teste F para os dados da produtividade. Os coeficientes marcados com (\*) são estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança.

$$\text{Produtividade} = 3,160* + 0,345CS* - 0,360CL* - 0,380CS \times CL* \quad (2)$$

O coeficiente de determinação ou explicação R<sup>2</sup> quantifica a qualidade do ajuste, pois fornece uma medida da proporção da variação explicada pela equação de regressão em relação à variação total das respostas e varia de 0 a 100% (RODRIGUES & IEMMA, 2005).

Estão apresentados na Tabela 6 os valores da análise de variância (ANOVA) para produtividade ao nível de 95 % de confiança

Considerando que o modelo foi validado para a variável produtividade, o mesmo foi utilizado para gerar a superfície de resposta, tendo o objetivo de otimizar (maximizar) o processo. As variáveis de entrada envolvidas no processo fermentativo foram analisadas seguindo a metodologia de superfície de resposta como visto na Figura 7.

A Figura 7 apresenta a superfície de resposta com base na variável dependente produtividade em função das variáveis de entrada, concentração de levedura e concentração de sacarose.

Verifica-se que a concentração de sacarose apresenta influência positiva, ou seja, quando passa do nível -1 para o nível +1 a produtividade aumenta. Por outro lado, a concentração de levedura apresenta influência negativa, ou seja, quando passa do nível -1 para o nível +1 a produtividade diminui. Observa-se que fixando o valor de concentração de sacarose acima de 170g/L e concentração de levedura em 10g/L obtém-se o valor máximo de produtividade de 4,4 g/L.h.

Silva et al., (2008) avaliaram a influência das variáveis nitrogênio, fósforo e °Brix no rendimento e produtividade na fermentação alcoólica do caldo de cana, e através da metodologia do planejamento experimental e análise da superfície de resposta e observaram que o modelo matemático foi validado apenas para a variável resposta produtividade. Verificaram que o valor máximo da produtividade, de 6,6 g/L.h, era atingido fixando o valor de fósforo acima de 0,19 g/L e nitrogênio em 0,6 g/L.

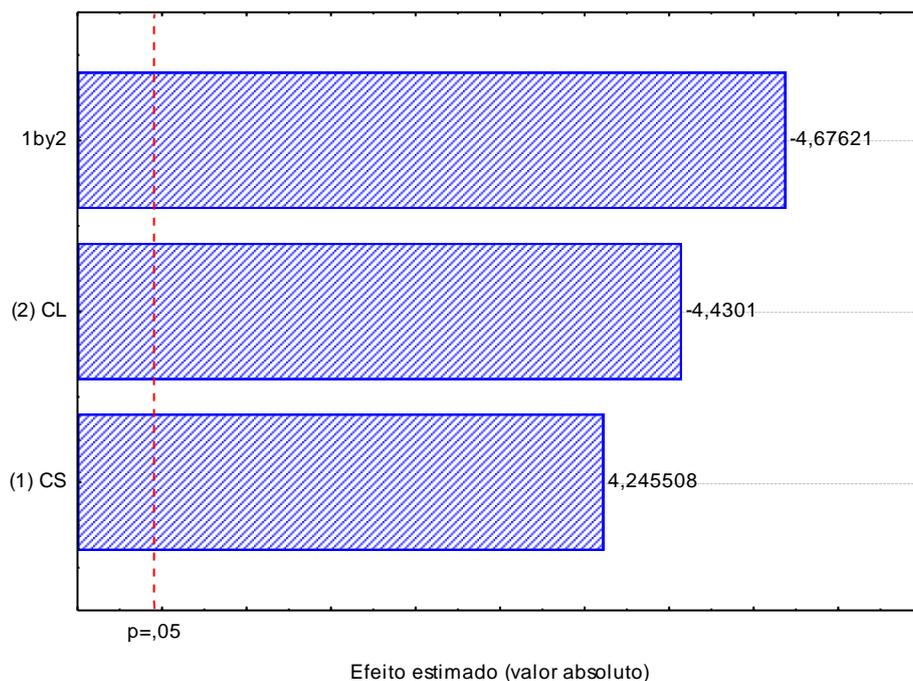


Figura 6 - Gráfico de Pareto para produtividade

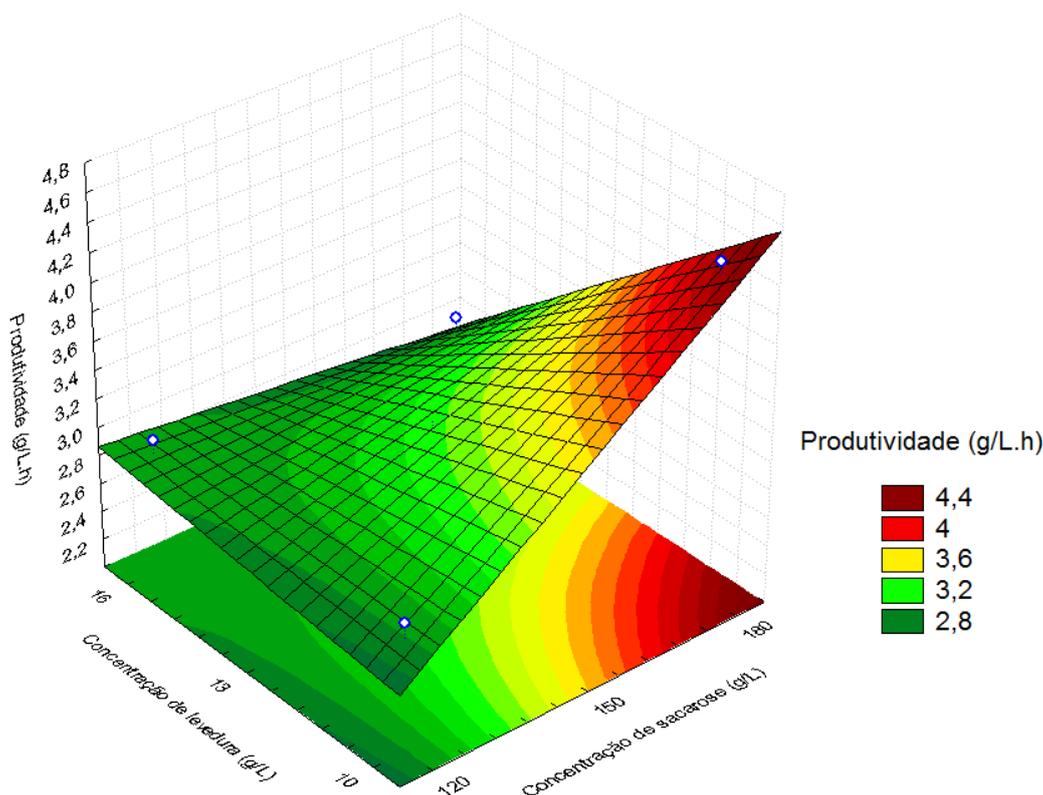


Figura 7 - Superfície de resposta para a produtividade em função da concentração de levedura e da concentração de sacarose

## CONCLUSÕES

O soro *in natura* apresentou componentes químicos acima da média encontrada em outros queijos que também utilizam o processo de coagulação enzimática. Isso se deve as precárias condições de

processamento do queijo coalho que resulta em perdas na composição química no queijo coalho, resultando em um soro com maior retenção dos componentes do leite.

A maior produção de etanol foi observada com concentração de sacarose de 180g/L e concentração de levedura de 16g/L, obtendo-se assim um fermentado com

teor alcoólico de 9,8°GL. Os efeitos da concentração de levedura, concentração de sacarose e da interação entre essas se apresentaram estatisticamente significativos em nível de 95% de confiança, sendo que a concentração de levedura foi a variável de maior influência.

A utilização do soro de queijo na produção de etanol apresenta-se como uma alternativa racional e promissora, porque além de reduzir o potencial poluidor desse resíduo, pode gerar produtos de maior valor agregado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, E. P.; **Diagnóstico das Queijeiras em Pombal e Região**. SEBRAE/PB. p. 2-8, 2010.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2001, 401 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos Físico-químicos para análise de alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1018p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). IV edição.
- FLORENCIO, I. M.; **Estudo do aproveitamento do Lactosoro de coagulação Enzimática para Fermentação e Produção de Aguardente**. 2008. 71f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Campina Grande.
- FLORENTINO, E. R. **Aproveitamento do soro de queijo de coagulação enzimática**. 2006. 138f. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- FURTADO, M. M. **A arte e a ciência do queijo**. 2ed. São Paulo: Ed. Globo, 1991. 297p.
- GHOSE, T. K.; TYAGI, R. D. Rapid ethanol fermentation of cellulose hydrolysate 1: batch versus continuous systems. **Biotechnol. Bioeng.** v. 21, p. 1387-1400, 1979.
- LUONG, J. H. T. Kinetics of ethanol inhibition in alcohol fermentation. **Biotechnol. Bioeng.** v. 27, p. 280-285, 1985.
- OLIVEIRA, M. N.; **Tecnologia de Produtos Lácteos Funcionais**. São Paulo: Atheneu Editora, 2009.
- OLIVEIRA, M.; VASCONCELOS, Y. Revolução no canavial. **Pesquisa FAPESP**, v. 122, p. 62-70, 2006.
- PELEGRINE, D. H. G.; CARRASQUEIRA, R. L. Aproveitamento do soro de leite no enriquecimento nutricional de bebidas. **Brazilian Journal of Food Technology**, dez, p. 145-151, 2008.
- RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: Uma estratégia seqüencial de planejamentos**. 1ed. Editora Casa do Pão: Campinas/ SP. 326 p. 2005.
- SOUZA, R.R. **Panorama, oportunidades e desafios para o mercado mundial de álcool automotivo**. 2006. 138f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- SILVA, J. A.; DAMASCENO, B. P. G. de L.; SILVA, F. L. H.; MADRUGA, M. S.; SANTANA, D. P. Aplicação da metodologia de planejamento fatorial e análise de superfícies de resposta para otimização da fermentação alcoólica. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1073-1077, 2008.
- SILVA, F. L. H. **Modelagem, simulação e controle de fermentação alcoólica contínua extrativa**. 1998. 162f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas.