

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO ÁCIDO CÍTRICO NO PROCESSO DE FERMENTAÇÃO ACÉTICA CONTÍNUA

*Siumara Rodrigues Alcântara*¹ e *Ramdayal Swarnakar*²

¹Bolsista PIBIC/CNPq, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Avenida Aprígio Veloso, 882, Bodocongó, 58109-970, Campina Grande – PB, e-mail: siumara_alcantara@ibest.com.br

²Professor Orientador, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Departamento de Engenharia Química/CCT, Av. Aprígio Veloso, 882, CEP 58109-970, Campina Grande – PB, e-mail: swarna@deq.ufcg.edu.br

Palavras-chave: Fermentação Acética, Reator Contínuo, Metodologia de Superfície de Resposta, Análise de Variância

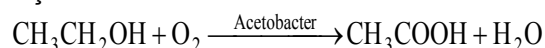
Área do Conhecimento: III Engenharia

Resumo - A fermentação acética é a oxidação do álcool etílico resultando como produto o vinagre, pela atuação de bactérias acéticas do gênero *Acetobacter*, que nada mais é que uma solução de ácido acético e água. A maioria dos estudos desta área foram feitos em reatores batelada, por ser o tipo de reator mais utilizado pelas indústrias de pequeno porte do estado da Paraíba. No reator contínuo, foi estudada anteriormente a influência das variáveis taxa de diluição e concentração alcoólica, que resultou em baixos valores de rendimento. Este trabalho visa estudar o efeito da adição de ácido cítrico para melhorar o rendimento da fermentação. Executou-se o Planejamento Experimental Fatorial 2² com duas repetições centrais, tendo como níveis 0,5, 1,0 e 1,5% para a concentração inicial de ácido acético e 0, 0,005 e 0,010M para a concentração de ácido cítrico, observando sua influência sobre o rendimento (resposta). A Superfície de Resposta mostrou que ambos os fatores influenciam a resposta. O rendimento máximo alcançado foi aproximadamente igual a 37%. Utilizou-se, também, a análise de variância que indicou que o modelo proposto é altamente preditivo em relação aos dados experimentais para 90% de confiança.

Introdução

A fermentação acética é relatada desde aproximadamente 100.000 anos. Seu principal produto é o ácido acético, ou vinagre. Originalmente era obtido não só de vinhos, mas também, de cervejas deixados ao ar, isto é, formava-se por fermentação espontânea. O vinagre é utilizado como condimento (preparação de saladas e molhos), preservativo e aromatizante (na panificação), agente de limpeza e como medicamento, sendo ótimo anti-séptico.

A fermentação acética ocorre quando o álcool etílico é oxidado em ácido acético pela intervenção de bactéria acética do gênero *Acetobacter*. A transformação acontece segundo a reação abaixo:



O Planejamento Experimental Fatorial de Dois Níveis é de grande utilidade em investigações preliminares, ou seja, quando se deseja saber se determinados fatores têm ou não influência sobre a resposta.

Para executar um planejamento fatorial precisa-se em primeiro lugar especificar os níveis em que cada fator será estudado [1]. Em seguida faz-se necessário montar uma matriz de planejamento com as combinações possíveis dos

níveis dos fatores (variáveis de entrada) escolhidos.

A partir dos dados do planejamento fatorial, aplica-se a Metodologia de Superfície de Resposta que tem como objetivo atingir uma ótima região da superfície estudada, indicando a otimização do processo.

Com a obtenção da superfície de resposta, o passo seguinte é propor um modelo que seja indicado para representar os dados experimentais.

Duas das várias técnicas estatísticas utilizadas na análise dos experimentos são a Análise de Variância e o Teste F. Este último é um fator importante para observar o ajuste do modelo e testar se a equação de regressão é estatisticamente significativa. Ao compararmos o valor calculado com o valor tabelado a uma determinada porcentagem de confiança, podemos observar se o modelo é significativo e/ou preditivo. Alguns autores [2] sugerem que para uma regressão seja não apenas significativa mas também útil para fins preditivos o valor de F calculado deve ser no mínimo de quatro a cinco vezes o valor de F tabelado.

Observou-se na literatura [3] que foi confeccionado um bioreator usando pedaços de carvão vegetal produzido de sobras de cogumelo

por carbonização térmica para a produção contínua de ácido acético. Foi observado que, no estado estacionário, para os valores de taxa de diluição baixa quase todo o etanol foi transformado em ácido acético. Com o aumento da taxa de diluição a concentração do etanol residual aumentou. Foi observado, também, que alta concentração de O₂ inibiu o crescimento das bactérias resultando em operação não estável do bioreator.

Em trabalhos realizados anteriormente [4], sobre a influência das variáveis taxa de diluição e concentração alcoólica, observou-se que o rendimento máximo encontrado foi nos níveis inferiores para a concentração alcoólica (2%) e para a taxa de diluição (0,42h⁻¹). Observou-se, também, que a diminuição da concentração alcoólica e da taxa de diluição aumentou o rendimento do processo contínuo de 0,5% para 4,9% dentro da faixa de fatores estudada. O teste F aplicado, com 75% de confiança, mostrou que o modelo proposto foi significativo e preditivo.

Em estudos encontrados na literatura [5] foi investigado o efeito combinado da pressão parcial de oxigênio e concentração inicial de ácido cítrico num reator de coluna – bolhas de ar – sobre a produção de ácido acético. Foi observado que a produção melhorou com a presença de ácido cítrico na solução alimentada quando o fornecimento de oxigênio era insuficiente.

Portanto, o presente trabalho pretendeu verificar se a adição do ácido cítrico aumentará o rendimento da fermentação contínua, estudada anteriormente [4]. As variáveis de entrada do Planejamento Experimental Fatorial 2² foram a concentração inicial de ácido acético e de ácido cítrico na solução alcoólica alimentada que indicarão os efeitos sobre a variável dependente rendimento.

Materiais e Métodos

Utilizou-se como matéria-prima para o processo a solução de álcool etílico com concentração igual a 4% e o bagaço de cana-de-açúcar como enchimento. Para condução e processamento da fermentação foram utilizadas bactérias acéticas presentes no bagaço, onde foram selecionadas de forma espontânea em função das condições de acidez do meio.

O reator contínuo foi confeccionado a partir de uma garrafa de plástico com capacidade para 300mL de solução e volume de bagaço de cana-de-açúcar igual a 300g. A esse sistema foram acopladas uma bomba peristáltica com vazão de alimentação controlada (Q = 1mL/min) e uma bomba de ar para circulação interna do mesmo.

A Figura 1 mostra a foto do sistema utilizado para o processamento da fermentação acética utilizando o reator contínuo.



Figura 1: Foto do sistema do processo contínuo para a fermentação acética. Da esquerda para a direita: solução alcoólica, bomba peristáltica, reator contínuo, solução do fermentado e bomba de ar.

Para o cálculo da acidez experimental foi utilizado o método volumétrico por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) utilizando como indicador uma solução de fenolftaleína. Para o cálculo da acidez utilizou-se a equação abaixo:

$$\text{Acidez}(\%) = \frac{N_B \cdot V_B \cdot \text{Meq} \cdot 100}{V_A} (\text{g}/100\text{ml})$$

onde: N_B = normalidade da base;

V_B = volume da base gasto na titulação;

Meq = miliequivalente do ácido (0,06);

V_A = volume da amostra a ser titulada.

Realizou-se o Planejamento Experimental Fatorial 2² considerando como variáveis de entrada do sistema a concentração inicial de ácido acético (C_{AC}) e a concentração de ácido cítrico (C_{CI}), e como resposta o rendimento (R).

As faixas de níveis para as variáveis de entrada encontram-se na Tabela 1. A listagem das combinações dos níveis e fatores (matriz de planejamento) encontra-se na Tabela 2.

Tabela 1- Níveis das variáveis do planejamento fatorial 2²

Variáveis	Nível (-1)	Ponto Central (0)	Nível (+1)
Conc. inicial de ác. Acético (g/100mL)	0,5	1,0	1,5
Conc. de ác. Cítrico (M)	0	0,005	0,010

Tabela 2- Matriz do planejamento fatorial 2² + 2 experimentos no ponto central

Ensaio	Conc. inicial de ác. Acético codificada	Conc. de ác. Cítrico codificada
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
5	0	0
6	0	0

A partir dos dados coletados foi construída a superfície de resposta, a tabela da análise de variância e obteve-se o modelo utilizando o programa Statistica versão 5.0.

Resultados

Os níveis das variáveis de entrada e os rendimentos (R) obtidos com a execução do planejamento experimental encontram-se na Tabela 3. Os números entre parênteses, na coluna dos ensaios, representam a ordem de realização dos mesmos.

Tabela 3- Resultados obtidos com a realização do planejamento experimental 2².

Ensaio	C _{AC} codificada	C _{CI} codificada	R (%)
1	-1	-1	29,2
2	+1	-1	36,5
3	-1	+1	14,6
4	+1	+1	26,7
5	0	0	26,7
6	0	0	29,2

Com os dados da Tabela 3, construiu-se a superfície de resposta para o rendimento representada pela Figura 2.

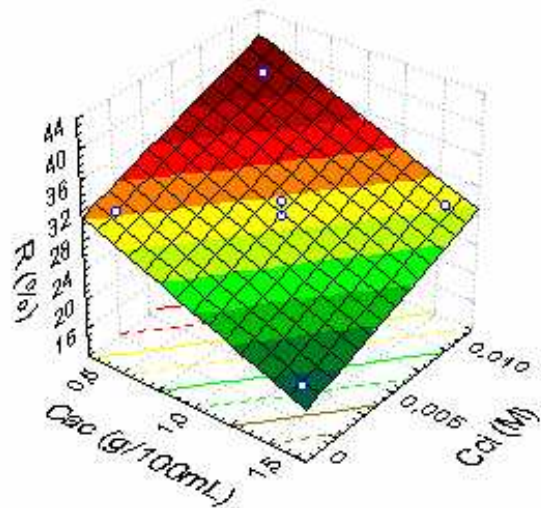


Figura 2: Superfície de resposta do rendimento versus concentração inicial de ácido acético e concentração de ácido cítrico.

O modelo linear proposto para a superfície da Figura 2 é dado abaixo:

$$R = 27,1 - 6,05C_{AC} + 4,85C_{CI} \quad [1.0]$$

Com o auxílio do Statistica 5.0, construiu-se a Tabela 4, onde se encontram os valores das somas e das médias quadráticas que compõem a análise de variância para o modelo representado pela equação [1.0].

Tabela 4- Análise de variância para o ajuste do modelo linear.

% variância explicada	95,79%
Coefficiente de correlação	0,98
Teste F (calculado)	34,16
F tabelado p/ 90% de confiança	5,46
F calculado/ F tabelado	6,27

A Figura 3 mostra o gráfico que compara os valores previstos pelo modelo e os valores observados.

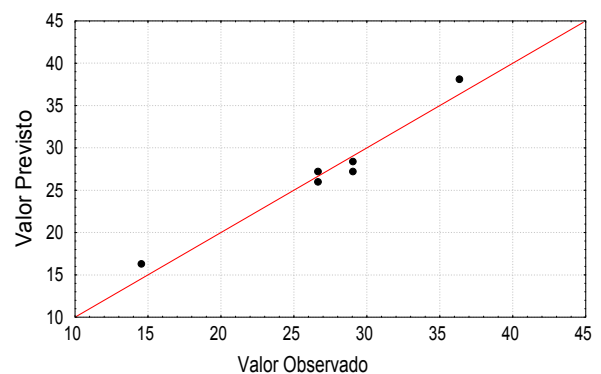


Figura 2: Superfície de resposta do rendimento versus concentração inicial de ácido acético e concentração de ácido cítrico.

Discussão

Ao se analisar a Figura 2, observa-se que o rendimento é influenciado tanto pela concentração de ácido cítrico como pela concentração de ácido acético inicial do processo.

Observa-se que o rendimento máximo alcançado (aproximadamente 37%), dentro da faixa estudada, foi obtido quando a concentração de ácido acético inicial foi mínima (0,5g/100mL) e a concentração de ácido cítrico for máxima (0,010M).

Na Tabela 4, o coeficiente de correlação mostra que a curva se ajusta de forma que não há resíduos, logo, toda a variação em torno da média é explicada pela regressão. Para o Teste F, com 90% de confiança, a razão entre o calculado e o tabelado indica que o modelo proposto pode ser considerado altamente preditivo em relação aos dados experimentais.

Comparado os resultados apresentados com os resultados de trabalhos anteriores [4], pode-se perceber que a adição do ácido cítrico favoreceu a fermentação acética do processo, passando de 5% para 37%.

A Figura 3 confirma que existe boa concordância entre o modelo e os dados experimentais.

Conclusão

Foi observado, com o planejamento experimental, que o rendimento é influenciado pelas variáveis de entrada. O maior valor obtido para o rendimento, aproximadamente 37%, foi nos níveis inferior para a concentração acética e superior concentração de ácido cítrico. A análise de variância, através do Teste F mostrou que o modelo proposto é altamente preditivo com 90% de confiança. O ácido cítrico influencia e favorece a fermentação acética, o que foi observado com o aumento do rendimento.

Referências

[1] BARROS NETO, B.; SCARMINIO, J. S.; Bruns, R. E. Planejamento e Otimização de Experimentos. Ed. UNICAMP, Campinas, 1995.

[2] BOX, G. E. P.; WELTZ, J. Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function. University of Wisconsin Technical Report. 9. 1973.

[3] JUN-ICHI HOUICHI, KOUJI TABATA, TOHRU KANNO AND MASAYOSHI KOBAYASHI, Continuous Acetic Acid Production by a Packed Bed Bioreactor Employing Charcoal Pellets from Waste Mushroom Medium, Journal of Bioscience and Bioengineering, V. 89(2), 2000, p. 126-130.

[4] ALCÂNTARA, S. R.; SWARNAKAR, R. Desempenho do Reator Contínuo na Fermentação Acética. VII INIC – Encontro de Iniciação Científica, São José dos Campos, 2003.

[5] PARK, Y. S.; TODA, Kioshi. Effect of tricarbollic acid cycle intermediates on Acetobacter Aceti. J. Gen. Appl. Amicrobiol. V. 36, p. 105 – 110, 1990.

[6] FERREIRA, J. M. Estudos de Condições Ótimas pelo Método de Análise de Superfície de Resposta para Eficiência da Fermentação Acética. Dissertação (mestrado em Engenharia Química), UFPB, Campina Grande, 2001.

[7] BORZANI, W.; AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U. Engenharia Bioquímica. São Paulo, vol. 3, 1986.