

# Bioenergia em Revista: Diálogos

ano 10/vol. 10 | n. 2 | jul.2020 /dez.2020 | ISSN: 2236-9171



# Bioenergia em Revista: Diálogos

ISSN: 2236-9171

Bioenergia em Revista: Diálogos | publicação semestral | Piracicaba  
ano 10/vol. 10 | n. 2 | jul. / dez. 2020

Governador do Estado de São Paulo

*João Doria Jr.*

Secretario de Desenvolvimento Econômico, Ciência e Tecnologia

*Patrícia Ellen da Silva*

Diretora Superintendente do Centro “Paula Souza”

*Laura Laganá*

Diretor do CESU

*Rafael Ferreira Alves*

Diretor da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Dep. “Roque Trevisan”

*José Alberto Florentino Rodrigues Filho*

Editoria

*Filomena Maria Formaggio*

Editores de Seção

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Filomena Maria Formaggio – Fatec Piracicaba

Prof. Dr. Luis Fernando Sanglade Marchiori – ESALQ-USP e Fatec Piracicaba

Prof. Dr. Paulo Cesar Doimo Mendes – Fatecs de Piracicaba e Itapetininga, EEP

Prof. Msc. Fabio Augusto Pacano – Fatec Piracicaba, CNEC Capivari-SP

Profa Msc. Luciana Fischer – Fatec Piracicaba e PUCCampinas-SP

Prof<sup>ª</sup> Dra. Érika Gutierrez – Fatec Piracicaba

Prof<sup>ª</sup> Msc. Angela de F. Kanesaki Correia – Fatec Piracicaba, UNIMEP

Bel. e Tecnólogo Mauricio D. C. Pinheiro – Fatec Piracicaba

Comissão Editorial

Filomena Maria Formaggio - Fatec Piracicaba

Vanessa de Cillos Silva - Fatec Piracicaba

Paulo Cesar Doimo Mendes - Fatec Piracicaba

Marcia Nalesso Costa Harder - Fatec Piracicaba

Fabio Augusto Pacano - Fatec Piracicaba

Maria Helena Bernardo

Bioenergia em Revista: Diálogos • Rua Diácono Jair de Oliveira, 651 • Bairro Santa Rosa

CEP: 13.414-155 • Piracicaba / SP • Telefone: [+55 19] 3413-1702

e-mail: [bionergia.r.dialogos@gmail.com](mailto:bionergia.r.dialogos@gmail.com)

[www.fatecpiracicaba.edu.br/revista](http://www.fatecpiracicaba.edu.br/revista)

## Conselho Editorial

José Alberto Florentino Rodrigues Filho – Fatec Piracicaba  
Daniela Russo Leite – Fatec Araraquara  
Gisele Gonçalves Bortoleto - Fatec Piracicaba  
Eliana Maria G. Rodrigues – Fatec Piracicaba  
Daniela Defavari do Nascimento – Fatec Piracicaba  
Regina Movio de Lara – IESCAMP/SP  
Siu Mui Tsai Saito - Cena – USP  
Raffaella Rossetto - APTA - polo regional Centro-Sul  
Ada Camolesi - FIMI Mogi Mirim  
Marly T. Pereira - ESALQ-USP  
Vitor Machado – UNESP Bauru  
Adolfo Castillo Moran - Cordoba, Ver. Mexico  
Gregorio M. Katz - San Miguel de Tucuman Argentina  
Guilherme A. Malagolli - Fatec Taquaritinga  
Murilo Melo - ESALQ-USP  
Angelo Luis Bortolazzo – Centro Paula Souza  
Jorge Corbera Gorotiza - San Jose de Las Lajas - La Habana - Cuba

**Bioenergia em Revista: Diálogos** (ISSN 2236-9171) é uma publicação eletrônica semestral vinculada a Faculdade de Tecnologia de Piracicaba “Dep. Roque Trevisan” e a Faculdade de Tecnologia de Araçatuba (Fatecs).

**Objetivo:** publicar estudos inéditos, na forma de artigos e resenhas, nacionais e internacionais, que contribuam ao debate acadêmico-científico, além de estimular a produção acadêmica nos níveis da graduação e pós-graduação.

**Os artigos são de responsabilidade exclusiva dos autores. É permitida sua reprodução, total ou parcial, desde que seja citada a fonte.**

Bioenergia em Revista: Diálogos / Fatec - Faculdade de Tecnologia de Piracicaba /  
Faculdade de Tecnologia de Araçatuba. - - Piracicaba / Araçatuba, SP: a Instituição, desde 2011.  
v. Semestral - ISSN 2236-9171

1. Ciências Aplicadas / Tecnologia- periódico I.

Bioenergia em Revista: Diálogos II. Fatec -

Faculdade de Tecnologia de Piracicaba “Dep. Roque Trevisan” / Faculdade de Tecnologia de Araçatuba

# Sumário

## 06 Apresentação

## 07 Chamada de Artigos

## 08 Avaliação da viabilidade do uso de vinhaça como adubo

CHITOLINA, Gustavo de Moraes; HARDER, Marcia Nalesso Costa

## 25 Avaliação físico-química da proteína de soja texturizada

CAMPOS, Karoline Rayzel Rodrigues; GUTIERREZ, Érika Maria Roel

## 35 Capacidade fermentativa e análise genética de leveduras de fermentação natural de hidromeis utilizando metodologia de PCR

BENETOLE, Bianca Martins; GOMES, Winston Pinheiro Claro; NASCIMENTO, Daniela Defávares do

## 48 Detecção de OGM e qualidade microbiológica de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e seus derivados

PINTON, Murilo Gallani; TSAI, Siu Mui; NASCIMENTO, Daniela Defávares do

## 62 Determinação de metanol e etanol na produção de fermentado artesanal de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*)

PIRES, Juliana Angelo; TEIXEIRA, Natália Navarro; GOMES, Winton Pinheiro Claro

## 76 Análise da indústria da moda e a importância da sustentabilidade e da circularidade para o setor

SANTOS, Caroline Conceição dos; SIGRIST, Vanina Carrara

## **95** Vila dos pescadores da Praia Grande de Niterói: análise urbana e estrutural

SILVA, Raphaela Reis Conceição Castro; SOUZA, Fernando de

## **123** Projeto B20 – “Piracicaba no caminho da sustentabilidade”

BORTOLETO, Gisele Gonçalves; GRAGNANI, Juliana Gonzalez; SILVA, Letícia Furlan da; PINTO, Renan Mercuri

## **144** Produção de dihidroxiacetona a partir da glicerina residual da produção de biodiesel: uma visão teórica

SABINO, Vitória Carolina Campos; BELLATO, Pedro Henrique Campos; NASCIMENTO, Daniela Defavari do; BORTOLETO, Gisele Gonçalves

## **162** Relação da aglomeração com a hidrofobicidade celular de leveduras selvagens e selecionadas para a produção de etanol

SELVENCA, Leonardo Pereira; SILVA, Romário Conceição; SENA, Hildo Costa de; PONTES, Wesley

# Apresentação

Bioenergia em Revista: Diálogos, publicação da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Dep. “Roque Trevisan” oferece à comunidade acadêmico-científica mais um número objetivando a apresentação e discussão de temas atinentes à pesquisa, inovação e ao diálogo com todas as áreas do conhecimento, elementos imprescindíveis e constituidores à formação científico-tecnológica.

A Revista está classificada como B4 e B5 no sistema Qualis/CAPES e encontra-se associada aos indexadores Latindex, IBICT, Sumários.org e CNEN60.

A presente edição conta com quatro seções: AGRONOMIA que apresenta o artigo “Avaliação da viabilidade do uso da vinhaça como adubo”.

A segunda seção ALIMENTOS apresenta os artigos “Avaliação físico-química da proteína de soja texturizada”; “Capacidade fermentativa e análise genética de leveduras de fermentação natural de hidromeis utilizando metodologia de PCR”; “Detecção de OGM e qualidade microbiológica de soja (*Glycine max (L.) Merrill*) e seus derivados” e, “Determinação de metanol e etanol na produção de fermentado artesanal de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*)”.

A terceira seção, AMBIENTE apresenta os artigos “Análise da indústria da moda e a importância da sustentabilidade e da circularidade para o setor” e, “Vila dos pescadores da Praia Grande de Niterói: análise urbana e estrutural”.

E, a quarta seção, ENERGIA apresenta os artigos “Projeto B20 – “Piracicaba no caminho da sustentabilidade”; “Produção de dihidroxiacetona a partir da glicerina residual da produção de biodiesel: uma visão teórica” e, “Relação da aglomeração com a hidrofobicidade celular de leveduras selvagens e selecionadas para a produção de etanol”.

Lembrando que nossa proposta é igualmente a disseminação do conhecimento, o periódico Bioenergia em Revista: Diálogos possui inserção nacional e internacional e conta com a participação de pesquisadores de diversas instituições de ensino e pesquisa. O recebimento dos artigos é pelo sistema de fluxo contínuo e a periodicidade é semestral.

## ***Chamada de artigos***

*A Revista Bioenergia em Revista: Diálogos* convida pesquisadores, docentes e demais interessados das áreas de Bioenergia, Gestão Empresarial, Agroindústria, Alimentos e áreas afins, a colaborarem com artigos científicos, de revisão e/ou resenhas para a próxima edição deste periódico.

As normas de submissão e análise estão disponíveis em nosso site – [www.fatecpiracicaba.edu.br/revista](http://www.fatecpiracicaba.edu.br/revista). Os trabalhos serão recebidos por via eletrônica em **fluxo contínuo**, e os autores poderão acompanhar o progresso de sua submissão através do sistema eletrônico da revista.

Os dados apresentados, bem como a organização do texto em termos de formulação e encadeamento dos enunciados, das regras de funcionamento da escrita, das versões em língua **inglesa e espanhola** dos respectivos resumos, bem como o respeito às Normas da ABNT são de **inteira responsabilidade dos articulistas**.

# Avaliação da viabilidade do uso de vinhaça como adubo

CHITOLINA, Gustavo de Moraes  
HARDER, Marcia Nalesso Costa

## Resumo

A vinhaça é um subproduto resultante dos processos de produção do álcool com alto potencial poluente. Caracterizado como um líquido de cor amarronzada, pH ácido, o que acaba tornando-o um resíduo potencialmente corrosivo e altamente poluidor, além de deixar as usinas com a temperatura próxima ou superior à 80° C dificultando o transporte. Apesar das características químicas da vinhaça caracterizando-a como um resíduo nocivo, a mesma é utilizada, in natura, como adubo nas culturas de cana-de-açúcar. No Brasil, mesmo com a difícil gestão do uso da vinhaça, este subproduto substitui, parcialmente, a utilização de adubos minerais nos canaviais, diminuindo os custos envolvidos na aquisição de insumos agrícolas. Os benefícios encontrados para a fertilidade, rendimento e desenvolvimento da microbiota do solo foram satisfatórios, demonstrado pelos estudos que comprovam um aumento de 70% na produtividade de culturas de cana-de-açúcar. Corroborando, houve aumento de culturas de *Bacillus subtilis*, sendo estes organismos responsáveis pelo controle de doenças que afetam as culturas de cana-de-açúcar. Contudo, como malefícios apresentados pelo uso exacerbado e irresponsável da vinhaça, destacam-se a lixiviação de metais do solo, contaminação de fluxos subterrâneo d'água, elevação da densidade do solo, grave desequilíbrio ambiental de rios inviabilizando a vida aquática da região e o consumo da água. Portanto, é viável o uso da vinhaça como adubo, porém, destaca-se a importância dos estudos sobre o uso, aumentando ainda mais a consciência e responsabilidades do uso deste subproduto na agricultura, diminuindo os graves impactos ambientais que podem surgir.

**Palavras-chave:** vinhoto, microbiota, fertilização, cana-de-açúcar, etanol.

## Abstract

Vinasse is a by-product resulting from alcohol production processes with high polluting potential. Characterized as a brownish liquid, acidic pH, which ends up making it a potentially corrosive and highly polluting residue, in addition to leaving the plants with a temperature close to or above 80 ° C, making transportation difficult. Despite the chemical characteristics of vinasse to be characterized as a harmful residue, it is used as fertilizer in sugarcane crops. In Brazil, even with the difficult management of vinasse, this by-product partially replaces the use of mineral fertilizers in sugarcane fields, reducing the costs involved in the acquisition of agricultural inputs. The benefits found for fertility, yield and development of the soil microbiota were satisfactory, demonstrating studies that prove an increase of 70% in the productivity of sugarcane crops. Corroborating, there was an increase in *Bacillus subtilis* cultures, these organisms being responsible for the control of diseases that affect sugarcane crops. However, of the harms presented by the exaggerated and irresponsible use of vinasse, the leaching of metals from the soil, contamination of underground water flows, soil cementation, severe environmental imbalance of rivers, making aquatic life in the region unfeasible and the consumption of water. Therefore, the use of vinasse as a fertilizer is feasible, however, it highlights the importance of studies on its use, further increasing the awareness and responsibilities of using this by-product in agriculture, reducing the serious environmental impacts that may arise.

**Keywords:** vinasse, microbiota, fertilization, sugar cane, ethanol.

## Resumen

La vinaza es un subproducto resultante de los procesos de producción de alcohol con alto potencial contaminante. Caracterizado como un líquido amarronado, pH ácido, que termina convirtiéndolo en un residuo potencialmente corrosivo y altamente contaminante, además de dejar las plantas con una temperatura cercana o superior a 80 ° C, lo que dificulta el transporte. A pesar de que las características químicas de la vinaza se caracterizan como un residuo nocivo, se utiliza como fertilizante en cultivos de caña de azúcar. En Brasil, incluso con el difícil manejo de la vinaza, este subproducto reemplaza parcialmente el uso de fertilizantes minerales en los campos de caña de azúcar, reduciendo los costos involucrados en la adquisición de insumos agrícolas. Los beneficios encontrados para la fertilidad, el rendimiento y el desarrollo de la microbiota del suelo fueron satisfactorios, lo que demuestra estudios que demuestran un aumento del 70% en la productividad de los cultivos de caña de azúcar. Corroborando, hubo un aumento en los cultivos de *Bacillus subtilis*, siendo estos organismos responsables del control de enfermedades que afectan los cultivos de caña de azúcar. Sin embargo, de los daños que presenta el uso exagerado e irresponsable de la vinaza, la lixiviación de metales del suelo, la contaminación de los flujos de agua subterránea, la cementación del suelo, el grave desequilibrio ambiental de los ríos, la inestabilidad de la vida acuática en la región y el consumo de Agua. Por tanto, el uso de la vinaza como fertilizante es factible, sin embargo, se destaca la importancia de los estudios sobre su uso, aumentando aún más la conciencia y responsabilidades del uso de este subproducto en la agricultura, reduciendo los graves impactos ambientales que puedan surgir.

**Palabras clave:** vinaza, microbiota, fertilización, caña de azúcar, etanol.

## INTRODUÇÃO

Com o exponencial crescimento do setor sucroalcooleiro, o aumento da produção de álcool de cana-de-açúcar acaba gerando uma quantidade maior de resíduos ligados a esta produção, exigindo um tratamento e manejo adequado destes resíduos evitando possíveis contaminações ao meio ambiente, como é o caso da vinhaça. A vinhaça é um resíduo da produção de álcool de cana, considerada como um resíduo de potencial contaminante elevado, pois que cada litro de álcool produzido, gera aproximadamente dez litros de vinhaça (FERRAZ et al., 2000). Também conhecida como vinhoto, este resíduo é caracterizado como um líquido de coloração amarronzada escura, pH ácido, constituído de aproximadamente 93% de água e 7% de sólidos orgânicos e inorgânicos, além de deixar as usinas em temperaturas elevadas, dificultando o manejo e transporte para destinações adequadas.

A vinhaça, mesmo possuindo um potencial poluente elevado, quando utilizada e manejada de maneira consciente pode ser consideravelmente benéfica para a fertilidade, para a microbiota do solo e para o desenvolvimento das culturas plantadas nos locais tratados com este subproduto. O ganho em fertilidade e desenvolvimento de microrganismos é justificado pela riqueza em nutrientes importantes para as culturas, tais como nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio, fósforo, e, em teores menores, sulfato. A vinhaça também é constituída de componentes orgânicos, tais como etanol, glicerol, ácido láctico, frutose, glicose, sacarose e galactose. Contudo, a concentração desses elementos é influenciada diretamente pelos métodos utilizados no processamento do mosto, como também é influenciada pelo tipo de mosto utilizado na produção do álcool (GLORIA, 1984; LUDOVICE, 1996; TONOLI, 2017).

Estudos referentes aos benefícios proporcionados pela utilização da vinhaça como adubo para o solo demonstraram a importância do manejo adequado desse subproduto, melhorando de maneira significativa a absorção de nutrientes das plantas e, conseqüentemente, ampliando a produtividade das culturas. Dessa forma, o equilíbrio destes nutrientes no solo influencia consideravelmente o desenvolvimento de microrganismos responsáveis pelo controle de doenças, principalmente em culturas de cana-de-açúcar. Contudo, a utilização sem estudos prévios de vinhaça no solo pode acarretar em efeitos indesejados ao solo e fluxos subterrâneos d'água. Dentre os diversos malefícios encontrados no uso contínuo e inseguro, destaca-se o desequilíbrio de nutrientes no solo, lixiviação de metais e aumento da densidade do solo. Corroborando, a alta demanda biológica de oxigênio reduz as concentrações de oxigênio dos fluxos d'água e aumentam o crescimento de algas, resultando em um grave desequilíbrio ambiente (CARDOZO & ARAÚJO, 2011). O referente estudo tem como objetivo apontar os benefícios e malefícios da utilização da

vinhaça como adubo, apresentando diferentes estudos que reforçam a importância do manejo adequado deste subproduto.

## **1 OBJETIVO**

O referente estudo tem como objetivo apontar as necessidades do uso apropriado da vinhaça como adubo nas culturas, apresentando diferentes resultados e estudos que demonstram benefícios e malefícios ao uso nas propriedades dos solos cultivados e nas culturas de cana-de-açúcar, comparando os dados levantados ao longo do tempo e reforçar a importância do manejo adequado deste subproduto para minimizar os possíveis impactos ambientais causados pelo uso indevido.

## **2 REVISAO DE LITERATURA**

### **2.1 A Vinhaça**

A vinhaça é um subproduto resultante dos processos de produção do álcool, sendo este um resíduo de potencial de contaminação ambiental, pois cada litro de álcool produzido gera ao menos dez litros de vinhaça (FERRAZ et al., 2000). Caracterizado como um líquido de cor amarronzada, pH ácido, o que acaba tornando-o um resíduo potencialmente corrosivo e altamente poluidor, além de deixar as usinas com a temperatura próxima ou superior aos 80° C. Portanto, estas características tornam a vinhaça, além de poluidora, um subproduto de difícil transporte e armazenamento (LUDOVICE, 1996). A vinhaça, também nomeada como vinhoto ou restilo, possui em sua composição 93% de água e 7% de sólidos orgânicos e inorgânicos (MARQUES, 2006). Apesar das características químicas da vinhaça a caracterizar como um resíduo nocivo, a mesma é utilizada como adubo nas culturas de cana-de-açúcar. No Brasil, mesmo com a difícil gestão do vinhoto, este subproduto substitui, parcialmente, a utilização de adubos minerais nos canaviais, diminuindo os custos envolvidos na aquisição de insumos agrícolas (RESENDE et al., 2006).

Quando depositada no solo, a vinhaça não deve ultrapassar a capacidade de retenção de íons daquele determinado solo, ou seja, as dosagens devem ser calculadas de acordo com as características físico-químicas apresentadas por cada tipo de solo, podendo haver, quando utilizada de maneira desbalanceada, a lixiviação destes íons, principalmente íons de nitrato e de potássio (SILVA et al., 2006). Desta forma, a aplicação deste subproduto nas culturas de cana-de-açúcar pode alterar a dinâmica de ciclo dos elementos no solo, modificando a fertilidade e a nutrição das plantas (CHIARADIA, 2005). A aplicação direta da vinhaça no solo pode gerar problemas, tais como: lixiviação de metais do solo para águas subterrâneas, salinização do solo, desequilíbrio de

nutrientes, redução da alcalinidade, perdas a colheita, aumento da fitotoxicidade e odor desagradável na plantação (CHRISTOFOLETTI et al., 2013). Baffa (2009) relata que a aplicação constante de vinhoto ao longo dos anos pode provocar variação no teor de alumínio trocável no solo, aumento da Capacidade de Troca de Cátions (CTC) elevando a quantia de cargas negativas, diminuindo a lixiviação de cátions, aumento da porosidade do solo, retenção de água, aumento do poder de embebição do solo, favorecimento do preparo do solo e redução a possibilidade de erosão. A aplicação da vinhaça é conhecida pelo método de fertirrigação, sendo este um processo conjunto de irrigação e fertilização que é constituído pela utilização da própria água para distribuir o fertilizante químico e/ou orgânico na lavoura (SANTOS et al., 2011).

## **2.2 Composição Química da Vinhaça**

Sendo um efluente originado das destilarias de álcool, a vinhaça é caracterizada como um subproduto de alto potencial poluente, porém, com alto valor fertilizante. O potencial poluente, cem vezes maior que o esgoto, é explicada pela alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO) da vinhaça, considerada nociva tanto para a flora, como para a fauna, microfauna e microflora. (FREIRE & CORTEZ, 2000). A composição química da vinhaça está diretamente relacionada a matéria-prima utilizada na produção do mosto, assim como o preparo do mesmo e os métodos empregados em todos os processos de destilação (GLORIA, 1984; NASCIMENTO, 2003).

A composição da vinhaça é variável, tendo influência de diversos fatores. Quando gerado a partir da utilização do caldo de cana, usado na fermentação, o vinhoto obtido é menos concentrado quando comparado ao vinhoto gerado pelo mosto de melaço ou pelo mosto misto (melaço e caldo de cana). Sendo assim, a diferentes variedades de cana-de-açúcar, maturação, processamento nas usinas e a fertilidade do solo são fatores que influenciam diretamente na qualidade do produto final e, conseqüentemente, nas características da vinhaça (ROSSETTO & DIAS, 2008).

Dessa forma, sabe-se que 60% de toda a vinhaça produzida é originada da utilização de mosto de caldo, enquanto 40% da vinhaça produzida é originada de mosto misto. De acordo com dados apresentados por Prada e colaboradores (1998), a vinhaça produzida a partir do mosto de melaço também possui grande influência sobre a composição química deste subproduto (Tabela 1).

**Tabela 1 – Composição química média da vinhaça obtida a partir de fermentação de diferentes mostos**

Elementos	Vinhaça de Mosto		
	Melaço	Caldo	Misto
pH	4,2 – 5,0	3,7 – 4,6	4,4 – 4,6
Temperatura (°C)	80 – 100	80 – 100	80 – 100
DBO (mg L <sup>-1</sup> O <sub>2</sub> )	25.000	6.000 – 16.500	19.800
DQO (mg L <sup>-1</sup> O <sub>2</sub> )	65.000	15.000 – 33.000	45.000
Sólidos totais (mg L <sup>-1</sup> )	21.500	3.700	12.700
N (mg L <sup>-1</sup> N)	450 – 1.610	150 – 700	480 – 710
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	100 – 290	10 – 210	9 – 200
K <sub>2</sub> O (mg L <sup>-1</sup> )	3.740 – 7.830	1.200 – 2.100	3.340 – 4.600
CaO (mg L <sup>-1</sup> )	450 – 5.180	130 – 1.540	1.330 – 4.570
MgO (mg L <sup>-1</sup> )	420 – 1.520	200 – 490	580.700
SO <sub>4</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	6.400	600 – 760	3.700 – 3.730
C (mg L <sup>-1</sup> )	11.200 – 22.900	5.700 – 13.400	8.700 – 12.100

Fonte: Adaptado de Prada et al. (1998).

Elias Neto e Nakahondo (1995) apresentaram resultados mais abrangentes em um estudo realizado com vinhaça, demonstrando resultados de análise físico-químicas que auxiliam a compreender a composição do subproduto de modo geral (Tabela 2).

**Tabela 2 – Composição físico-química da vinhaça**

Descrição	Vinhaça de Mosto			Padrão/ l. álcool
	Mínimos	Média	Máximos	
Dados do Processo				
Brix do Mosto (°B)	12	18,65	23,65	-
Teor Alcoólico do Vinho (°GL)	5,73	8,58	11,3	-
pH	3,5	4,15	4,9	-
Temperatura (°C)	65	89,16	110,5	-
DBO (mg/l)	6680	16949,79	75330	175,13 g
DQO (mg/l)	9200	28450	97400	297,6 g
Sólidos Totais (mg/l)	10780	25154,61	38680	268,9 g

Sólidos Suspensos Totais (mg/l)	260	3966,84	9500	45,71 g
Sólidos Suspensos Fixos (mg/l)	40	294,38	1500	2,69 g
Sólidos Suspensos Voláteis (mg/l)	40	3632,16	9070	43,02 g
Sólidos Dissolvidos Totais (mg/l)	1509	18420,06	33680	223,19 g
Sólidos Dissolvidos Voláteis (mg/l)	588	6579,58	15000	77,98 g
Sólidos Dissolvidos Fixos (mg/l)	921	11872,36	24020	145,21 g
Cálcio (mg/l CaO)	71	515,25	1096	5,38 g
Cloreto (mg/l Cl)	489	1218,91	2300	12,91 g
Cobre (mg/l CuO)	0,5	1,2	3	0,01 g
Ferro (mg/l Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	2	25,17	200	0,27 g
Fósforo (mg/l P)	18	60,41	188	0,65 g
Magnésio (mg/l MgO)	97	225,64	456	2,39 g
Nitrogênio (mg/l N)	1	10,94	885	3,84 g
Potássio Total (mg/l K <sub>2</sub> O)	814	2034,89	3852	21,21 g
Sódio (mg/l Na)	8	51,55	220	0,56 g
Sulfato (mg/l SO <sub>4</sub> )	790	1537,66	2800	16,17 g
Levedura (base seca) (mg/l)	114,01	403,58	1500,15	44,1 g

**Fonte:** Adaptado de Elias Neto e Nakhondo (1995)

De modo geral, a vinhaça apresenta como composição básica: 93% de fase aquosa e 7% de sólidos em suspensão (orgânicos e minerais), possuindo uma alta concentração de potássio e nitrogênio total, cálcio, magnésio, fósforo e enxofre em teores menores (LUDOVICE, 1996; LAIME et al., 2011; CHRISTOFOLETTI et al., 2013). A coloração marrom característica do vinhoto é atribuída a um pigmento castanho escuro denominado melamedina, corroborando com a presença de compostos fênicos, açúcares e melanina (KALAVATHI et al., 2001). A vinhaça também apresenta componentes orgânicos em sua composição, estes encontrados em maior concentração, sendo eles: glicerol, ácido láctico, etanol, ácido acético, frutose, glicose, sacarose, galactose, acetato, oxalato e citrato (DOWD et al., 1994; BORIES, 2002; PARNAUDEAU et al., 2008 & DOELSCH et al., 2009). Corroborando, é possível encontrar, no vinhoto, compostos fenólicos, celulosa e hemicelulose (BANKE, 1998).

### 2.3 Utilização e Comportamento da Vinhaça no Solo

A adubação do solo com vinhaça deve ser devidamente controlada. Considerando características específicas da planta, entendendo que a adubação é realizada de acordo com as necessidades da cultura, ou seja, é preciso analisar se há carência de nutrientes durante o desenvolvimento da planta. Portanto, é importante ressaltar fatores que influenciam as tomadas de decisões durante a adubação com nutrientes, sendo esses: teores de nutrientes no solo, deficiências observadas, essencialidade (DINIZ, 2010). A norma P4.231 Dez/2006 Vinhaça – Critérios e Procedimentos para Aplicação no Solo, citado no item 6 Plano de Aplicação de Vinhaça pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB); determina que a dosagem máxima de vinhaça a ser aplicada no tratamento de solos agrícolas em cultura de cana-de-açúcar é determinada pela equação:

$$\text{m}^3 \text{ vinhaça ha}^{-1} = [(0,05 \times \text{CTC} - \text{ks}) \times 3744 + 185/\text{kvi}]$$

Onde:

**0,05** = 5% da CTC

**CTC** = Capacidade de Troca Catiônica, demonstrada em  $\text{cmolc/dm}^3$  fornecida por análise de fertilidade do solo, utilizando de métodos de análise do Instituto Agrônômico (IAC).

**Ks** = concentração de potássio no solo, expresso em  $\text{cmolc/dm}^3$ , na profundidade de 0 a 0,80 metros.

**3744** = constante para transformação da análise de fertilidade.

**185** = massa, em kg, de  $\text{K}_2\text{O}$  extraído pela cultura.

**Kvi** = concentração de potássio na vinhaça, expresso em kg de  $\text{K}_2\text{O/m}^3$ , apresentada em boletim de resultados analíticos.

Além da equação necessária para obter resultados seguros e precisos durante a aplicação das dosagens de vinhaça, é necessário compreender os aspectos físico-químicos do solo e analisar o comportamento da vinhaça no mesmo. A utilização da metodologia de solutos por extratores apresenta resultados satisfatórios a um baixo investimento monetário. Desta forma, os meios para a utilização dos extratores devem ser precisos e criteriosos, de forma a melhorar ainda mais a qualidade dos resultados obtidos durante o processo (NETO, 2008).

Um estudo realizado por Silva (2002), demonstrou a possibilidade de se mensurar a concentração de cálcio e magnésio do solo através desta metodologia, porém, com menor precisão.

O autor observou que, com o auxílio de extratores de solução por capsulas porosas, é possível evitar processos de salinização do solo, assim como evitar a deficiência nutricional para as culturas estabelecidas ali. Dias (2004), concluiu que o mesmo método é capaz de mensurar a concentração total de íons na solução e manter a salinidade em um nível desejado e controlado, controlando desta forma a condutividade elétrica da solução extraída.

O comportamento e dinâmica de compostos e solos tratados com resíduos orgânicos, como o vinhoto, é complexo. Um estudo realizado por Cunha e colaboradores (1981), concluiu que esta complexidade está diretamente relacionada a transformações bioquímicas causadas pela aplicação de vinhaça. Uma vez que obtém uma baixa relação de C/N no solo, é possível ocorrer o processo de mineralização do nitrogênio, ou seja, é possível ocorrer a conversão deste composto orgânico em um composto novo e inorgânico, através da degradação do mesmo. No entanto, Madejón et al. (2001), observaram que a utilização de vinhaça e outros materiais orgânicos no condicionamento do solo elevou a salinização na matéria orgânica e no nitrogênio total do mesmo.

Lyra et al. (2003) concordam com os dados apresentados por Madejón et al. (2001), ao demonstrarem que com a aplicação contínua de vinhaça no solo ao longo dos anos pode, conseqüentemente, gerar uma elevação dos sais minerais, elevando também o potencial risco de salinização, levando em consideração a taxa de absorção de potássio das plantas cultivadas, sua concentração na vinhaça e a baixa condutividade elétrica que pode, ou não, ser observada no lençol freático.

Canellas et al. (2003), realizaram um estudo utilizando Cambissolo e demonstraram um aumento na concentração de cobre e ferro nas camadas de 0-20cm e 0-40cm de profundidade do solo. Corroborando, houve aumento dos ácidos fulvicos nas camadas de 0-40cm, sugerindo uma evolução química dos compostos orgânicos e uma possível translocação para camadas mais profundas do solo. Desta forma, é importante estudar os benefícios e malefícios da aplicação da vinhaça no solo, garantindo um manejo seguro e não prejudicial ao meio ambiente.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

Este estudo foi realizado em revisão de literatura, reunindo estudos e dados que demonstram a viabilidade do uso da vinhaça na agricultura, indicando possíveis benefícios e malefícios da mesma, de forma que possa ser demonstrado seus efeitos no solo. Foram comparados dados de avaliação comportamental da vinhaça no solo, demonstrando resultados de rendimentos nas culturas, mudanças no equilíbrio de nutrientes do solo, ação no solo, crescimento de colônias de fungos e bactérias em solos tratados com vinhaça e efeitos ambientais da utilização de vinhaça.

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Rendimento da Vinhaça no Solo

Oliveira e colaboradores (2009), verificaram que a aplicação de vinhaça na cultura de cana-de-açúcar proporcionou um crescimento significativo da planta, apresentando uma maior produtividade dos colmos (79,2 Mg ha<sup>-1</sup>) em doses de 166 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>. Resende e colaboradores (2006) concordam com os dados apresentados por Oliveira, onde também sugerem um aumento na produtividade da cana em culturas submetidas a adição da vinhaça como adubo para o solo. Em contrapartida, um estudo realizado por Junior e colaboradores (2007) utilizando cana-planta e cana-soca, demonstrou que a utilização da vinhaça não resultou em diferenças significativas para a produtividade da cultura quando comparada a fertilização mineral, porém, a presença do vinhoto sugere um aumento do K no solo, podendo substituir a adubação mineral, resultando em uma elevação do Brix no caldo extraído (Tabela 3).

**Tabela 3: Produtividade média e variáveis agroindustriais para cana-de-açúcar (cana-planta e cana-soca) cultivada por dois anos consecutivos**

Fertilização	CP	CS	°Brix CP (% de caldo)	°Brix CS (% de caldo)
Fertilização mineral	125,7 t ha <sup>-1</sup>	105,6 t ha <sup>-1</sup>	18,83	22,8
Vinhaça + ureia	125,9 t ha <sup>-1</sup>	94,3 t ha <sup>-1</sup>	19,26	23,1
Logo de esgoto + vinhaça	126,5 t ha <sup>-1</sup>	99,3 t ha <sup>-1</sup>	18,57	22,5

CP - Cana-planta; CS - Cana-soca

Fonte: Adaptado de Junior *et al.* (2007).

Lucena (2014) afirma, em seu estudo avaliando os efeitos da vinhaça e torta de filtro em culturas de sorgo sacarino, que o uso da vinhaça e da torta de filtro promoveram aumento significativo das produções de colmos do sorgo sacarino. Paula et al. (1999), demonstraram dados sobre a utilização de vinhaça em culturas de abacaxi, apresentando resultados positivos para o uso da vinhaça, obtendo um aumento no rendimento do fruto em torno de 70% em dosagem de 400 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> de vinhoto. Dessa forma, destaca-se a necessidade de estudos que abrangem as modificações físico-químicas e biológicas do solo na presença da vinhaça, visando controle de possíveis bactérias e fungos que podem interferir na qualidade das culturas plantadas.

Silva et al. (2014) realizando aplicação de vinhaça em cultura de cana-de-açúcar, constataram que a presença do vinhoto no solo proporcionou um aumento significativo dos colmos em torno de 10,5 t ha<sup>-1</sup>, apresentando um aumento de K no solo tratado, sugerindo que o aumento do potássio presente no solo, influência positivamente na absorção de nutrientes pela planta, ficando em evidencia nas camadas de 20-40 cm em cana de 3º soca. Estes dados corroboram

com os apresentados por Paulino et al. (2010) que verificaram o aumento da quantidade de raízes no perfil do solo quando submetido a tratamentos com vinhaça.

#### 4.2 Impacto Físico-químico da Vinhaça no Solo

Em um estudo feito por Lelis Neto (2008), apresentou-se a distribuição de íons de nitrato no solo durante a aplicação de vinhaça. O estudo demonstrou diferentes comportamentos do vinhoto em diferentes tipos de solo, variando entre arenoso e argiloso. Trabalhando em solo argiloso, as concentrações de íons de nitrato foram menores do que as concentrações medidas em solo arenoso. O autor justifica relacionando o fato de tais íons não ficarem retidos em solo com predominância de cargas negativas, sugerindo uma maior tendência a contaminações subterrâneas em solos com teores maiores de cargas negativas. Corroborando, a alta concentração de íons de nitrato provenientes da utilização de vinhaça no solo, sugere um possível desequilíbrio de nutrientes, como o excesso de nitrato. Ainda, o mesmo autor apresentou avaliação dos teores de potássio, demonstrando novamente uma maior concentração em solos arenosos, variando entre 4,4 a 171,2 mg.L<sup>-1</sup> em arenosos, e 0 a 30 mg.L<sup>-1</sup> em solos argilosos, onde a profundidade não demonstrou influenciar esses teores para ambos os solos. Estes resultados podem sugerir uma possível salinização do solo por excesso de potássio, sendo necessário o controle preciso das doses de vinhaça aplicada.

No entanto, Brito et al. (2007) demonstraram em um estudo utilizando Nitossolo, Argissolo e Espodossolo, uma baixa elevação de potássio nos três solos. Utilizando testes em 60 dias após aplicação (DPA), o estudo apresentou concentrações de 5 mg.L<sup>-1</sup> para Nitossolo, 15 mg.L<sup>-1</sup> para Argissolo e 30 mg.L<sup>-1</sup> para Espodossolo. Estes resultados sugerem que os tipos de solos utilizados possuem um bom desempenho como redutores do elemento analisando quando comparado com os elementos existentes na vinhaça *in natura*. Canellas (2003) não observou aumento de potássio trabalhando com as profundidades de Cambissolo. Silva (2012) concorda com os resultados apresentados por Brito (2007) e Canellas (2003), não apresentando mudanças efetivas nas concentrações de potássio na solução extraída do solo, analisada nas camadas de 0 a 80 centímetros. Contudo, Silva acrescenta apresentando teores elevado de Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Mg<sup>+2</sup> e SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> em dosagens de 30 m<sup>3</sup>.ha<sup>-1</sup> de vinhaça concentrada.

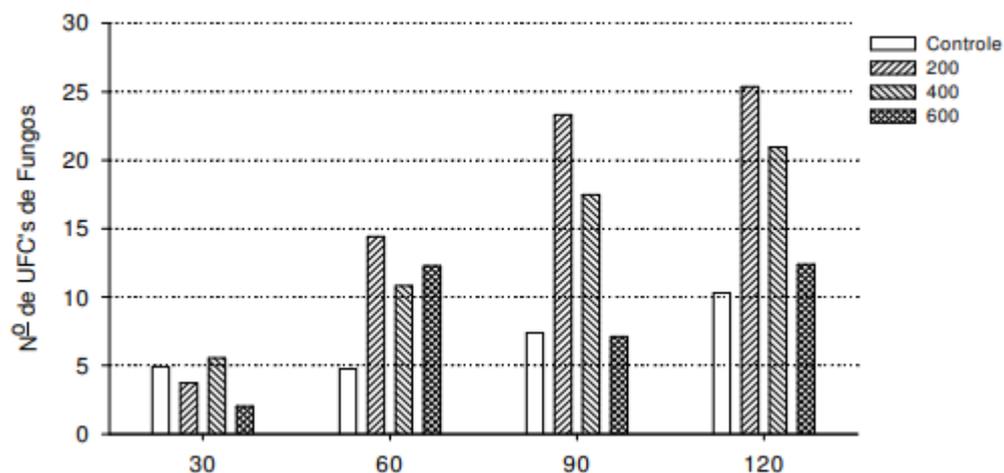
Schultz (2009), afirma que a vinhaça possui ação redutora elevada, exigindo uma demanda significativa de oxigênio, alterando as concentrações em cursos d'água, possuindo uma Demanda Biológica de Oxigênio (DBO) superior a 20000 mg 1<sup>-1</sup>, tornando a água imprópria para consumo e alterando vida aquática, causando um desequilíbrio biológico dos rios e conseqüentemente dos dependentes dos mesmos. Portanto, a utilização contínua e inadequada deste resíduo pode ocasionar o aparecimento de moscas, cuja alimentação se dá pelo vinhoto, prejudicando regiões

onde há criação de gado de corte ou vacas leiteiras, diminuindo a produção de leite e tornando os gados anêmicos pela ação das moscas nos animais (Fialho et al., 2019). Dalri et al. (2011), estudando a influência da aplicação da vinhaça na capacidade de infiltração do solo, apresentou que o solo sem a aplicação de vinhaça possui uma taxa de infiltração básica (TIB) de 12 cm ha<sup>-1</sup> na, reduzindo para 4,8 cm ha<sup>-1</sup> na aplicação da lâmina de vinhaça. Essa redução sugere que a matéria orgânica presente no vinhoto aumente ainda mais a densidade do solo.

#### 4.3 Impacto Microbiológico da Vinhaça no Solo

Um estudo realizado por Santos et al. (2011), demonstrando os efeitos da fertirrigação com vinhaça nos microrganismos do solo, apresentou que o número de unidades formadoras de colônias (UFC) de fungos no solo aumentou significativamente com a aplicação da vinhaça com doses de 200 m<sup>3</sup>.ha<sup>-1</sup> e um tempo de incubação de 60 dias após a aplicação (DPA), chegando a quase dobrar a quantidade de UFC presentes no solo com tempo de incubação de 120 DPA (Figura 1). O aumento na quantidade de fungos no solo em decorrência da aplicação de vinha é motivada pelas mudanças no pH do solo (ALMEIDA, 1953).

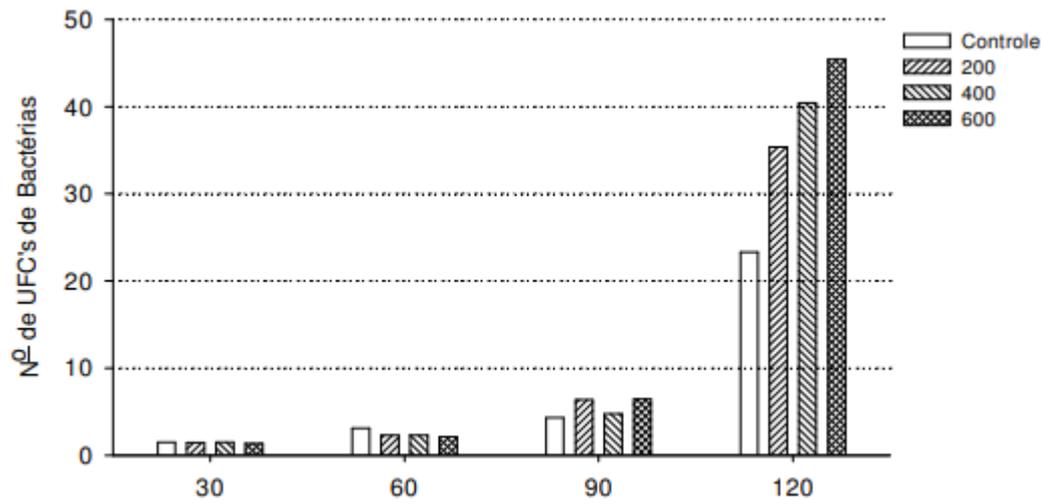
**Figura 1:** Número de unidades formadoras de colônias de fungos (UFC's) g-1 de um solo tratado com 0, 200, 400 e 600 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> de vinhaça



Fonte: Santos et al. (2011).

O aumento da quantidade de fungos no solo sugere que deve haver uma maior prevenção de doenças causadas por fungos na cultura trabalhada, havendo uma possível elevação nos gastos com fungicida. Santos et al. (2011) ainda apresentam dados sobre o desenvolvimento bacteriano, demonstrando baixa formação de unidades formadoras de colônias até os 90 DPA. Contudo, houve um crescimento significativo aos 120 DPA, onde as maiores elevações destas UFC acontecem na dosagem de 600 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> (Figura 2).

Figura 2: Número de unidades formadoras de colônias de bactérias (UFC's) g<sup>-1</sup> de um solo tratado com 0, 200, 400 e 600 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> de vinhaça



Fonte: Santos *et al.* (2011).

Casarini *et al.* (1985), em um estudo avaliando os efeitos da vinhaça na microflora do solo, concluíram que houve um aumento significativo dos microrganismos no solo em 60 DPA. Bordignon (2012), também constatou uma alta elevação das unidades formadoras de colônia, tanto de fungos como de bactérias na presença de vinhaça aplicada no solo. Cardozo e Araújo (2011) em um estudo de multiplicação de *Bacillus subtilis* em vinhaça e viabilidade no controle da meloidoginose em cana, demonstraram que a presença da vinhaça em culturas de *Bacillus subtilis* mostrou-se favorável ao desenvolvimento desta bactéria (Tabela 4). A elevação das UFC de *Bacillus subtilis* em testes aplicados com a utilização de vinhaça, sugerem que este resíduo pode ser utilizado como um aditivo determinante para estes microrganismos no solo, corroborando para um maior controle de doenças do filoplano e controle de doenças na pós-colheita. Visando ampliar a segurança na utilização deste subproduto, destaca-se a necessidade de estudos que enfatizem os possíveis impactos ambientais da utilização indevida da vinhaça como agente fertilizante do solo.

Tabela 4: Crescimento de *Bacillus subtilis* em unidades formadoras de colônia (UFC) por mL durante cinco dias, utilizando-se diferentes concentrações de vinhaça

Tratamentos	UFC (x10 <sup>8</sup> ) mL <sup>-1</sup>
Vinhaça pura	1,30 b
Vinhaça 50%	1,91 b
Vinhaça 25%	1,81 b

Fonte: Adaptado de Cardozo & Araújo (2011).

Bento et al. (2017), demonstram um crescimento significativo de colônias de fungo em solo nunca antes tratado com vinhaça, com o crescimento elevado a partir de doses de 200 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>, porém, o mesmo não ocorre em um solo tratado com vinhaça continuamente por 15 anos, apresentando resultados semelhantes para culturas de bactérias, sugerindo que a aplicação contínua de vinhaça possa possivelmente estabilizar o desenvolvimento destas culturas ao longo dos anos. Santos et al. (2009), sugerem que o aumento da fertilidade do solo, promovido pela adição de vinhaça, interfira diretamente no desenvolvimento de fungos e bactérias no mesmo.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados apresentados neste trabalho, demonstram os benefícios do uso moderado e seguro da vinhaça e também os estudos e análises necessárias que devem ser respeitados para que os malefícios do uso indevido deste resíduo não agravem as condições dos solos e das águas. Os estudos apresentados demonstram que os efeitos positivos da adição de vinhaça no solo são significativos, representando uma grande melhoria da fertilidade do solo e da produtividade da cultura, gerando um rendimento ainda maior para as culturas tratadas com esse subproduto. Do mesmo modo, os efeitos da vinhaça na microbiota do solo são significativos, aumentando o desenvolvimento de colônias de fungos e bactérias, destacando colônias de *Bacillus subtilis*, sendo este um importante microrganismo para o controle de doenças do filoplano. Portanto, é importante reforçar a necessidade do bom manejo da vinhaça, visando aproveitar da melhor forma possível seus benefícios e reduzir seus impactos negativos.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. P. Interferência dos fungos na adubação do solo pela vinhaça. *Boletim nº5 do Instituto Zimotécnico da ESALQ*. p. 99, 1953.
- BAFFA, D. C. F.; FREITAS, R. G.; BRASIL, R. P. C. O uso da vinhaça na cultura da cana-de-açúcar. *Nucleus*. p. 31-46, 2009.
- BENKE, M. B.; MERMUT, A. R.; CHATSON, B. Carbon-13 CP/MAS NRM and DF-FTIR spectroscopic studies of sugarcane distillery waste. *Canadian Journal of Soil Science*, Ottawa. v. 78, p. 227-236, 1998.
- BENTO, A. S.; RAMARI, T. O. I.; SILVA, C. N.; FILHO, E. S.; GASPAROTTO, F. *Influência da aplicação de vinhaça sobre as características biológicas e químicas de amostras de Argissolo*. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 14, n. 25, p. 806, 2017. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2017a/agrar/influencia%20da%20aplicacao.pdf>. Acesso em 11 de junho, 2019.
- BORDIGNON, A. J.; DELFINO, E. R.; MARTINS, N. M.; SILVA, R. F., MARGARETH. Quantificação da microbiota de solos fertirrigados com vinhaça. *Cadernos de Agroecologia*. V. 7, n. 2, 2012.

BRITO, F. L.; ROLIM, M. M.; PEDROSA, E. M. R. Concentração de cátions presentes no lixiviado de solos tratados com vinhaça. *Engenharia Agrícola*. v. 27, n. 3, p. 773-781, 2007.

CANELLAS, L. P.; VELLOSO, A. C. X.; MARCIANO, C. R.; RAMALHO, J. F. G. P.; ROUMJANEK, V. M.; REZENDE, C. E.; SANTOS, G. A. Propriedades química de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação de palhico e adição de vinhaça por longo tempo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa. V. 27, n. 5, p. 935-944, 2003.

CARDOZO, R. B.; ARAÚJO, F. F. Multiplicação de *Bacillus subtilis* em vinhaça e viabilidade no controle da meloidoginose, em cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. V. 15, n. 12, p. 1283-1288, 2011.

CASARINI, D. C. P.; CUNHA, R. C. A.; FILHO, B. M. Modificação da densidade da microflora em um solo tratado com vinhaça. *Revista Dae*. V. 45, n. 142, p. 316-321, 1985.

CHIARADIA, J. J. *Avaliação agrônômica e fluxo de gases do efeito estufa a partir de solo tratado com resíduos e cultivado com mamona (Ricinus communis L.) em área de reforma de canavial*. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

CHRISTOFOLETTI, C. A.; ESCHER, J. P.; CORREIA, J. E.; MARINHO, J. F. U.; FONTANETTI, C. Sugarcane vinasse: environmental implications of its use. *Waste Manage*. V. 33, n. 12, p. 2752, 2013.

CUNHA, R. C. A.; COSTA, A. C. S.; MASET FILHO, B.; CASARINI, D. C. P. Effects of irrigation with vinasse and dynamics of its constituents in the soil: I – physical and chemical aspects. *Water Science Technology*, Washington. V. 19, n. 8, p. 155-165, 1981.

DALRI, A. B.; CORTEZ, G. E. P.; RIUL, L. G. S.; ARAÚJO, J. A. C.; CRUZ, R. L. Influência da aplicação de vinhaça na capacidade de infiltração de um solo de textura franco arenosa. *Irriga, Botucatu*. V. 15, n. 4, p. 344-352, 2010.

DECLoux, M.; BORIES, A. Stillage treatment in the French alcohol fermentation industry. *International Sugar Journal*, London. V. 104, n. 1247, p. 509-517, 2002.

DIAS, N. S. *Manejo da fertirrigação e controle da salinidade em solo cultivado com melão rendilhado sob ambiente protegido*. Tese (Doutorado em Irrigação e Drenagem). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2004.

DINIZ, K. M. *Subsídios para Gestão dos Planos de Aplicação de Vinhaça (PAV) um estudo de caso da região de Piracicaba*. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Agroenergia, Escola de Economia de São Paulo da Fundação Getúlio Vargas, 2010.

DOELSCH, E.; MASON, A.; CAZEVIEILLI, P.; CONDOM, N. Spectroscopic characterization of organic matter of a soil and vinasse mixture during aerobic or anaerobic incubation. *Waste Management*, Amsterdam. V. 29, n. 6, p. 1929-1935, 2009.

DOWD, M. K.; REILLY, P. J.; TRAHANOSVSKY, W. S. Low molecular weight organic composition of ethanol stillage from sugarcane molasses, citrus waste, and sweet whey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton. V. 42, n. 2, p. 283-288, 1994.

ELIAS NETO; NAKAHONDO, T. Caracterização físico-química da vinhaça. *Relatório Técnico. Piracicaba: Seção de Tratamento de Água do Centro de Tecnologia Copersucar*. P. 26, 1995.

FERRAZ, J. M. G.; PRADA, L. S.; PAIXÃO, M. Certificação socioambiental do setor sucroalcooleiro. Jaguariúna: *Embrapa Meio Ambiente*, p. 195, 2000.

FIALHO, M. L.; CARNEIRO, A. P. C.; REIS, K. P.; CAMPOS, O. N.; FRANCO, M. V. O impacto da vinhaça produzida pela cana-de-açúcar na produção de etanol – poluição ambiental. *Intraciência*. Disponível em: [http://uniesp.edu.br/sites/\\_biblioteca/revistas/20190312105011.pdf](http://uniesp.edu.br/sites/_biblioteca/revistas/20190312105011.pdf). Acesso em: 11 de junho, 2019.

FREIRE, W. J.; CORTEZ, L. A. B. *Vinhaça de cana-de-açúcar*. Guaíba: Agropecuária, 2000. 203 p. GLÓRIA, N. A.; ORLANDO FILHO, J. Aplicação da vinhaça: um resumo e discussões sobre o que foi pesquisado. *Álcool e Açúcar*, São Paulo. V. 4, n. 15, p. 22-31, 1984.

JUNIOR, L. C. T.; MARQUES, M. O.; FRANCO, A.; NOGUEIRA, G. A.; NOBILE, F. O.; CAMILOTI, F.; SILVA, A. R. Produtividade e qualidade de cana-de-açúcar cultivada em solo tratado com lodo de esgoto, vinhaça e adubos minerais. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal. V. 27, n. 1, p. 276-283, 2007.

KALAVATHI, D. F.; UMA, L.; SUBRAMANIAN, G. Degradation and metabolization of the pigment—melanoidin in distillery effluent by the marine cyanobacterium *Oscillatoria boryana* BDU 92181. *Enzyme and Microbial Technology*. V. 29, n. 5, p. 246-251, 2011.

LAIME, E. M. O.; FERNANDES, P. D.; OLIVEIRA, D. C. S.; FREIRE, E. A. Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*. V. 5, n. 3, p. 16, 2011.

LELIS NETO, J. A. *Monitoramento de componentes químicos da vinhaça aplicados em diferentes tipos de solo*. Dissertação (Mestrado em Drenagem e Irrigação). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008. P. 19.

LUCENA, E. H. L. *Efeitos da aplicação de vinhaça e torta de filtro na cultura do sorgo sacarino visando produção de biomassa e rendimento de caldo*. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2014. P. 50.

LUDOVICE, M. T. F. *Estudo do efeito poluente da vinhaça infiltrada em canal condutor de terra sobre o lençol freático*. Dissertação (Mestrado em engenharia Civil) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

LYRA, M. R. C. *Toposequência de solos fertirrigados com vinhaça: contribuição para a qualidade das águas do lençol freático*. Dissertação (Mestrado em Ciências de Solo). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2003. P. 122.

MADEJÓN, E.; LOPEZ, R.; MURILLO, J.M.; CABRERA, F. Agricultural use of three (sugar-beet) vinasse composts: effect on crops and chemical properties of a Cambisol soil in the Guadalquivir river valley (SW Spain). *Agriculture, Ecosystems and Environment*. Seville. V. 84, n. 1, p. 55-65, 2001.

MARQUES, M. O. Aspectos técnicos e legais da produção, transporte e aplicação de vinhaça. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. (Org.). *Atualização em produção de cana-de-açúcar. Piracicaba: Livro Ceres*, 2006. P. 369- 375.

NASCIMENTO, C. L. *Avaliação econômica do aproveitamento do vinhoto concentrado como fertilizante*. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacases, 2003. P. 87.

OLIVEIRA, E. L.; ANDRADE, L. A. B.; FARIA, M. A.; EVANGELISTA, A. W. P.; MORAIS, A. R. Uso vinhaça de alambique e nitrogênio em cana-de-açúcar irrigada e não irrigada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. V. 44, n. 11, p. 1398-1403, 2009.

PARNAUDEAU, V.; CONDOM, N.; OLIVER, R.; CAZEVIEILLI, P.; RECOUS, S. Vinasse organic matter quality and mineralization potential, as influenced by raw material, fermentation and concentration processes. *Bioresource Technology*. V. 99, n. 6, 2008. P. 1553-1562.

PAULA, M. B.; HOLANDA, F. S. R.; MESQUITA, H. A.; CARAVALHO, V. D. Uso da vinhaça no abacaxizeiro em solo de baixo potencial de produção. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. V. 34, n. 7, 1999. P. 1217-1222.

PAULINO, J.; ZOLIN, C. A.; BERTONHA, A.; FREITAS, P. S. L.; FOLEGATTI, M. V. Estudo exploratório do uso da vinhaça ao longo do tempo. II Características da cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. V. 15, 2010. P. 244-249.

PRADA, S. M.; GUEKEZIAN, M.; SUÁREZ-IHA, M. E. V. Metodologia analítica para a determinação de sulfato em vinhoto. *Química Nova*. V. 21, n. 3, p. 249-252, 1998.

RESENDE, A. S.; SANTOS, A.; XAVIER, R. P.; COELHO, C. H.; GONDIM, A.; OLIVEIRA, O. C.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Efeito da queima da palhada da cana-de-açúcar e de aplicações de vinhaça e adubo nitrogenado nas características tecnológicas da cultura. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 30, p. 937-941, 2006.

RESENDE, A. S.; XAVIER, R. P.; OLIVEIRA, O. C.; URQUIAGA, S.; ALVES, R. J.; BODDEY, R. M. Long-term effects of pre-harvest burning and nitrogen and vinasse application on yield of sugarcane and carbon and nitrogen stocks on a plantation in Pernambuco, NE. Brazil. *Plant and Soil*. V. 281, n. 1-2, p. 339-351, 2006.

ROSSETTO, R.; DIAS, F. L. F. Potássio. *Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas*. V. 1, p. 289-312, 2008.

SANTOS, T. M. C.; SANTOS, M. A. L.; SANTOS, C. G.; SANTOS, V. R.; PACHECO, D. S. Efeitos da fertirrigação com vinhaça nos microrganismos do solo. *Revista Caatinga*. V. 22, n. 1, p. 155-160, 2011.

SCHULTZ, N. *Efeito residual da adubação em cana planta e adubação nitrogenada em cana de primeira soca com aplicação de vinhaça*. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2009.

SILVA, A. P. M.; BONO, J. A. M.; PEREIRA, F. A. Aplicação da vinhaça na cultura da cana-de-açúcar: Efeito no solo e na produtividade de colmos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande. V. 18, n. 1, p. 38-43, 2014.

SILVA, E. F. F. *Manejo da fertirrigação e controle da salinidade da cultura do pimentão utilizando extratores de solução do solo*. Tese (Doutorado em Irrigação e Drenagem). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002. P.136.

SILVA, M. A. S.; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande. V. 11, n. 1, p. 108-114, 2006.

TONOLI, F. C. *Adaptação de leveduras para fermentação com alto teor alcoólico*. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017. P. 77.

**1 CHITOLINA, Gustavo de Moraes.** É graduado em Tecnologia em Biocombustíveis pela Faculdade de Tecnologia de Piracicaba - Dep. Roque Trevisan (FATEC) e participou de treinamento científico no Laboratório de Ecotoxicologia no Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Fitossanidade. Durante o treinamento científico, participo do Projeto de Iniciação Científica no Centro de Energia Nuclear na Agricultura, no qual foi bolsista de Iniciação Científica pela CNPq, orientado pelo Prof. Dr. Valdermar Luiz Tornisielo.

**2 HARDER, Márcia Nalesso Costa.** Possui graduação em Engenharia Agrônoma pelo Centro Regional Universitário de Espírito Santo do Pinhal (2002), mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade de São Paulo (2005) e doutorado em Ciências (Energia Nuclear na Agricultura) pela Universidade de São Paulo (2009). Atualmente é coordenadora da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba e professora de ensino superior PIII do Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza. Tem experiência na área de Agronomia, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Análise Sensorial, Técnicas de Conservação e Processamento de Alimentos, Operações Unitárias, Aplicações Industriais de Radioisótopos, Biocombustíveis, atuando principalmente nos seguintes temas: biocombustíveis, bioetanol/açúcar, análise sensorial e suas aplicações, irradiação de alimentos, processamento e conservação de alimentos, operações unitárias, plantas medicinais e alimentos funcionais, ecossustentabilidade, aplicação do uso de energias ionizantes e não ionizantes. Atua também como mentora de programas de mentorias de incubadora.

# Avaliação físico-química da proteína de soja texturizada

CAMPOS, Karoline Rayzel Rodrigues  
GUTIERREZ, Érika Maria Roel

## Resumo

O termo “fator antinutricional” é utilizado para descrever compostos ou classes de compostos presentes em diversos alimentos de origem vegetal que, quando consumidos, reduzem o valor nutritivo desses alimentos. Nos grãos das leguminosas verifica-se a ocorrência natural de inibidores de enzimas proteolíticas, os quais podem levar a redução da disponibilidade de aminoácidos no trato gastrointestinal. Visto que a tendência da indústria de alimentos é a oferta de fontes proteicas alternativas, as proteínas de origem vegetal, particularmente a de soja, constituem alvo exacerbado de estudos. Considerando o fato de que, assim como outros alimentos, os derivados de soja sofrem processamento térmico para remoção de compostos que possam causar alterações indesejáveis, especial cuidado deve ser tomado em relação a preservação de suas propriedades nutricionais, já que o objetivo é produzir alimentos de baixo custo, nutritivo e com boa aceitabilidade. Um desses produtos é a proteína texturizada de soja, para o preparo doméstico ela necessita ser hidratada. Foram realizadas as análises do teor de proteína, cinzas, umidade, fósforo e taninos. Após preparo doméstico, a PTS apresentou um menor valor proteico e valor superior de fósforo (base úmida) comparado a carne moída refogada, e não foi detectado tanino.

**Palavras-chave:** Alimento. PTS. Soja. Proteína.

## Abstract

The term “antinutritional factor” is used for describe compounds or class of compounds presents in various foods of plant origin that, when consumed, reduce the nutritional value of these food. In legume grains there is a natural occurrence of inhibitors of proteolytic enzymes, which can lead to a reduction in the availability of amino acids in the gastrointestinal tract. Since the tendency of the food industry is to offer alternative protein sources, proteins of plant origin, particularly soy, are an exacerbated target of studies. Considering the fact that, like other foods, soy derivatives undergo thermal processing to remove compounds that may cause undesirable changes, special care must be taken in relation to the preservation of their nutritional properties, since the objective is to produce foods of low cost, nutritious and with good acceptability. One of these products is textured soy protein, for domestic preparation it needs to be moisturized. Analyzes of protein, ash, moisture, phosphorus and tannin content were performed. After domestic preparation, PTS showed a lower protein and higher phosphorus value (wet basis) compared to braised ground meat, and tannin was not detected.

**Keywords:** Food. PTS. Soy. Protein

## Resumen

El término "factor antinutricional" se utiliza para describir compuestos o clases de compuestos presentes en varios alimentos de origen vegetal que, cuando se consumen, reducen el valor nutricional de estos alimentos. En los granos de leguminosas hay una ocurrencia natural de inhibidores de enzimas proteolíticas, lo que puede conducir a una reducción en la disponibilidad de aminoácidos en el tracto gastrointestinal. Dado que la tendencia de la industria alimentaria es ofrecer fuentes de proteínas alternativas, las proteínas de origen vegetal, particularmente la soya, son un objetivo exacerbado para los estudios. Teniendo en cuenta el hecho de que, al igual que otros alimentos, los derivados de la soja se someten a un procesamiento térmico para eliminar los compuestos que pueden causar cambios indeseables, se debe tener especial cuidado en relación con la preservación de sus propiedades nutricionales, ya que el objetivo es producir alimentos de bajo costo, nutritivo y con buena aceptabilidad. Uno de estos productos es la proteína de soja texturizada,

para la preparación doméstica necesita ser hidratada. Se realizaron análisis de contenido de proteínas, cenizas, humedad, fósforo y taninos. Después de la preparación doméstica, PTS mostró un menor valor de proteína y mayor valor de fósforo (base húmeda) en comparación con la carne molida estofada y no se detectó tanino.

**Palabras clave:** Alimentación. PST Soja. Proteína.

## INTRODUÇÃO

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Pecuária (EMBRAPA) (2019), entre os anos de 2018 e 2019, o Brasil consumiu 44,000 milhões de toneladas de soja, fazendo com que o país seja o segundo maior produtor mundial do grão com produção de 114,843 milhões de toneladas e produtividade média de 3.206 kg/ha em 35,822 milhões de hectares. Anualmente a indústria nacional produz cerca 5,8 milhões de toneladas de óleo comestível e 23,5 milhões de toneladas de farelo proteico através da transformação de 30,7 milhões de toneladas de soja (MATTOS et al., 2015).

Avanços tecnológicos, aumento da área cultivada e eficácia de produção contribuem para o aumento da produtividade do grão. Trata-se de um produto de grande importância na fabricação de ração animal por apresentar teor de proteína que varia de 40 a 90% tornando-se componente essencial na formulação deste tipo de alimento (JUHÁSZ et al., 2013).

Os efeitos benéficos de seu consumo vêm sendo mencionados por vários autores, dentre os quais citam as isoflavonas presentes nos grãos como benefício para mulheres na menopausa assim como auxílio na reposição hormonal, controle de doenças crônicas como diabetes *mellitus*, osteoporose, doenças cardiovasculares com ênfase na redução do colesterol inibindo a formação de placas ateroscleróticas (MATTOS et al., 2015).

Nos últimos anos, houve crescente aumento na produção de soja e, devido aos avanços na área de ciências e tecnologia de alimentos, a produção de seus subprodutos tais como concentrado e isolado proteico, farelo e farinha de soja, proteína texturizada, entre outros. O aumento do conhecimento da população por esses produtos se deu a partir do aumento das dietas restritivas, como as vegetarianas e veganas, as quais tiveram um crescimento significativo nas últimas décadas por razões de saudabilidade, filosófica, ecológica ou religiosa (SIQUEIRA; MENDES; ARRUDA, 2007; MATTOS et al., 2015).

Em meio a dietas e avanços surgem algumas opções de proteínas vegetais em substituição a proteína animal. Uma dessas opções é a proteína texturizada de soja, que, dentre suas principais características, vale ressaltar seu elevado teor proteico e custo reduzido quando se comparado as proteínas animais.

Entretanto, ao considerar uma nova fonte proteica, além da sua quantidade e digestibilidade, deve ser levado em conta a qualidade dos aminoácidos, o *score* total de nitrogênio. Para avaliação da qualidade proteica, é necessário levar em conta a quantidade de aminoácidos essenciais, o nitrogênio total e a digestibilidade.

Devido aos baixos valores nutricionais quando se comparado a proteína animal, a proteína vegetal ainda é subutilizada na alimentação humana. Além disso, proteínas vegetais contém alguns fatores denominados “antinutricionais” que podem diminuir a digestibilidade proteica, tais como inibidores de tripsina, ácido fítico ou compostos fenólicos (ROUX et al., 2020).

Através do estudo realizado por Armour et al. (1998) a respeito do efeito dos inibidores de proteases presente em 3 cultivares distintas de soja, mostrou eliminação na atividade inibidora de quimotripsina após tratamento térmico a 80°C por 40 minutos e a 100°C por 10 para inibidores de tripsina sendo que, para este inibidor, temperaturas mais baixas de aquecimento, sua atividade pode resistir além de 90 minutos.

Segundo a Sociedade Vegetariana Brasileira (SBV), cerca de 14% da população (~30 milhões de pessoas) se declara vegetariana, um aumento de 75% quando comparado ao ano de 2012 que indicou que 8% da população se declarava vegetariana. Os dados são da pesquisa IBOPE Inteligente, a qual foi encomendada pela SBV e divulgada em 2018. O rápido crescimento de adeptos ao vegetarianismo traz uma preocupação para o profissional na área de Ciência e Tecnologia de alimentos referente a novas pesquisas e inovações na área.

O objetivo do presente trabalho foi investigar teores de taninos, proteína e fósforo na Proteína Texturizada de Soja após preparo doméstico.

## **1 MATERIAIS E MÉTODOS**

Os ensaios experimentais foram realizados nos Laboratórios de Alimentos e de Química da FATEC Piracicaba. Foram utilizadas três marcas distintas de proteína texturizada de soja adquiridas no comércio local.

Para o preparo doméstico foi retirada de 100g de amostra de cada marca analisada com posterior maceração com 600 ml de água corrente a temperatura ambiente por 15 minutos. Após esse tempo as amostras foram drenadas e refogadas com 100 ml de água por 7 minutos.

### **1.1 Métodos**

#### **Umidade**

A umidade foi determinada conforme procedimento descritos nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008), onde, em quadruplicada, 2 g de amostra pesadas em capsula de porcelana previamente esterilizado, foram levadas a estufa à 105°C por aproximadamente 12 horas.

#### **Cinzas**

As cinzas foram determinadas por meio de incineração em mufla a 550°C, onde, em quadruplicada, foram pesados aproximadamente 5 g de amostra em cadinho de porcelana

previamente esterilizado seguido de incineração por 4 horas. Após o tempo de mufla, os cadinhos foram resfriados em dissecador seguidos de pesagem para o cálculo de cinzas.

### **Fósforo**

Para determinação de fósforo, foi utilizada metodologia adaptada das Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Para a análise, foram utilizadas as cinzas obtidas após incineração em mufla.

Às cinzas foram adicionadas 40 ml de ácido clorídrico e 1 ml de ácido nítrico concentrado, esse conteúdo foi vertido em bécker de 500 ml e o cadinho lavado com água destilada afim de garantir total aproveitamento do conteúdo sólido nele contido. Os béckers foram levados para ebulição em chapa aquecedora seguido de resfriamento.

O conteúdo foi vertido para balão volumétrico de 100 ml e avolumado com água destilada. De cada balão, foi retirada a alíquota de 1 ml e transferido para balão de 50 ml com adição do reagente vanadato-molibdato de amônio. O balão foi avolumado com água destilada, homogeneizado e deixado em repouso por 10 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 420 nm.

### **Proteína**

Para determinação do teor de proteína foi utilizado metodologia de micro Kjeldahl conforme descrito pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

Utilizando o fator de correção 6,25, transforma-se a massa de nitrogênio encontrada em massa de protídeos em gramas.

### **Taninos**

Para análise de taninos condensados, foi utilizada metodologia adaptada de Price, Hagerman, e Butler (1980).

Foram pesados 1g de amostra moída em moinho analítico da marca Quimis modelo Q298A, em tubo Falcon de 15 ml. A cada tubo foram adicionados 10 ml de metanol seguido de agitação por 20 minutos. Em seguida, os tubos foram centrifugados por 20 minutos a 4.000 rpm. Do extrato, foi retirado 1 ml e transferido para um tubo de ensaio, ao qual foi adicionado 5ml de valinilina 1:1. Os tubos foram cobertos com papel alumínio e deixados reagir por 20 minutos no escuro. A leitura foi efetuada em espectrofotômetro a 500 nm.

### **Análise estatística**

A análise estatística foi realizada com auxílio do programa estatístico computacional SAS®. O delineamento empregado foi o fatorial com dois fatores (três marcas x um período). Os resultados foram submetidos a análise de variância, utilizando o teste F ao nível de 95% de confiança.

**Tabela 1 – Composição centesimal (%) de Proteína Texturizada de Soja**

	Marca 1	Marca 2	Marca 3
%U	6,08 <sup>a</sup> ± 0,57	6,00 <sup>a</sup> ± 0,31	6,14 <sup>a</sup> ± 0,47
CINZAS	5,56 <sup>a</sup> ± 11,43	5,30 <sup>b</sup> ± 11,79	5,20 <sup>c</sup> ± 5,28
FOSFORO (MG)	669 <sup>a</sup> ± 11,43	644 <sup>b</sup> ± 11,79	655 <sup>ab</sup> ± 5,28
TANINOS	--	--	--
PROTEÍNA	49,8 <sup>b</sup> ± 0,19	50,6 <sup>b</sup> ± 1,04	52,6 <sup>a</sup> ± 0,27

Médias de 3 repetições seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si (Teste de Tukey  $p \leq 0,05$ ).

## 2 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA PROTEÍNA TEXTURIZADA DE SOJA

Não foram encontradas diferenças significativas entre as três marcas quando ao teor de umidade, o qual variou de 6,0 a 6,14%, valor maior que o encontrado no extrato de soja na tabela TACO (2011) com 5,2% e que a farinha de soja crua, com 5,16% segundo a Tabela de Composição Química dos Alimentos (UNIFESP). Por outro lado, os valores são menores que da semente de soja crua (UNIFESP), 8,54%. Os valores de umidade se encontram dentro da legislação (BRASIL, 1978), a qual determina 9,0% como sendo o valor máximo. Já a PTS hidratada e refogada pronto para o consumo apresentou umidade em 74,11%, valor acima do acém bovino moído cozido de 61,6% de acordo com a tabela TACO de 2011.

Os teores de cinzas variaram de 5,20 a 5,56g.100g<sup>-1</sup>, valores inferiores aos encontrados por Berno, Guimarães-Lopes e Canniatti-Brazaca (2007) em seu estudo sobre composição centesimal e digestibilidade de produtos derivados de soja, com 7,19%. Os valores encontrados estão de acordo com a legislação (ANVISA, 1978) que determina valor máximo de cinzas para PTS em 6,5%. O teor de cinzas após preparo doméstico variou de 1,43 a 1,53%, acima do valor encontrado para acém bovino moído cozido que é de 0,8% de acordo com a tabela TACO (2011).

Houve pouca variação nos valores médios de fósforo (tabela) 1, sendo que apenas marca 1 diferiu da 2 e os resultados se assemelhando ao extrato de soja segundo a TACO (2011), em 647mg.100g<sup>-1</sup> e acima do encontrado na farinha de soja crua, com 494 mg.100g<sup>-1</sup> pela Tabela de Composição Química dos Alimentos (UNIFESP). Ao comparar com valores de soja, semente madura, crua, (Tabela de Composição Química dos Alimentos - UNIFESP) observa-se um aumento de ~ 8,1% quando se comparado ao encontrado na PTS. O teor de fósforo na PTS após preparo doméstico variou 177 mg para a marca 2 a 184 para a marca 1, acima do teor citado para o acém bovino moído cozido (164mg) (TACO, 2011).

Houve variação significativa nos teores de proteínas das três marcas analisadas, conforme a tabela 1. As marcas 2 e 3 se encontram dentro do estabelecido pela Resolução o RDC nº 268, de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005), que determina o valor mínimo de proteínas no produto seja de 50%, considerando fator de correção 6,25. A marca 1 se encontra na faixa de 20% de variação com relação ao valor do nutriente declarado no rótulo, conforme estabelecido pela RDC nº360, de 23 de dezembro de 2003, de rotulagem nutricional de alimentos embalados.

Os valores de proteína se assemelham aos encontrados em farinha de soja desengordurada, a qual apresenta teor proteico de 50,5%, e diferem significativamente das farinhas com baixo teor de gordura e integral, as quais apresentam, respectivamente, 46 e 41%, segundo Zangelmi et al (1982).

Ao fazer comparação com a proteína de origem animal (carne bovina, corte de acém pós cozimento), é possível observar um valor inferior, sendo valor médio para PTS pronta para consumo de  $14,07\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  contra  $26,7\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  da proteína animal. Este valor menor também está associado ao maior teor de umidade do preparo doméstico da PTS comparado ao da carne moída refogada.

Através do cálculo de valor biológico de proteína, com fator de correção de 0,6 para leguminosas, e considerando o valor proteico da PTS em base úmida (média das 3 marcas), temos que a quantidade real de nitrogênio aproveitado, a cada 100g do produto consumido, é de 8,44%.

A análise de tanino não detectou o composto nas amostras, comprovando que o mesmo se encontra primariamente na cobertura da semente do feijão de soja e em quantidades insignificantes nos cotilédones. Em seu estudo sobre a inibição da enzima digestiva pela casca do feijão-fava, Griffiths (1979) encontrou inibição das enzimas tripsina, lipase e  $\alpha$ -amilase, concluindo que esta inibição era devido a presença de taninos na casca das sementes de feijão.

## CONCLUSÃO

Através dos valores encontrados conclui-se que o composto tanino não foi detectado na PTS e que o processo de descasque, o qual antecede a extração do óleo, deve ter eliminado este fator antinutricional é do produto, visto que se encontra mais na casca. Quanto ao teor de proteína as amostras das 3 marcas analisadas estavam em conformidade com o apresentado nos rótulos das mesmas.

Pode-se concluir que após a hidratação e refoga o teor de proteína foi 14%, o de fosforo 180mg, estas informações são importantes para o consumidor, pois é o que será realmente consumido.

## REFERÊNCIAS

- ARMOUR, J. C.; et al. Protease inhibitors and lectins in soya beans and effects of aqueous heat-treatment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, [S.l.], v. 78, n. 2, p.225-231, out. 1998. Wiley-Blackwell.
- BERNO, L. I.; GUIMARÃES-LOPES, T. G.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação da composição centesimal, digestibilidade e atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (*Glycine max*). *Alim Nutr.*, v. 18, n. 3, p. 277-282, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeções do Agronegócio Brasil 2017/18 a 2027/28 projeções de longo prazo / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Política Agrícola. – Brasília : MAPA/ACE, 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeções do Agronegócio: Brasil Soja em números (safra 2018/19). – Brasília : MAPA 2018/2019.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2004). *Regulamento técnico sobre ingestão diária recomendada (IDR) para proteína, vitaminas e minerais*. (Consulta Pública nº 80, de 13 de dezembro de 2004).
- BRASIL. Resolução - CNNPA nº 14, de 24 de jul. de 1978. *Aprova o padrão de identidade e qualidade para farinha desengordurada de soja, proteína texturizada de soja, proteína concentrada de soja, proteína isolada de soja e extrato de soja*.
- GRIFFITHS, D.W. The inhibition of digestive enzymes by extracts of field bean (*Vicia faba*). *Journal of the Science Food and Agriculture*, Oxford, v. 30, n. 5, p. 458-462, 1979.
- JUHÁSZ, A. C. P.; et al. Desafios fitossanitários para a produção de soja. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 34, n. 276, p.66-75, set. 2013.
- MATTOS, et al. Estudo da identidade histológica de subprodutos de soja (*Glycine max L.*). *Rev Inst Adolfo Lutz*. São Paulo, 2015;74(2):104-10.
- PRICE, M.L.; HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. Tanin content of cowpeas, chickpeas, pigeonpeas and mung beans. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, v. 28, n. 2, p 459-461. 1980.
- ROUX, L. L.; et al. In vitro static digestion reveals how plant proteins modulate model infant formula digestibility. *Food Research International*, [s.l.], v. 130, p.1-11, abr. 2020. Elsevier BV.
- SIQUEIRA, E. M. A.; MENDES, J. F. R.; ARRUDA, S. F. Biodisponibilidade de minerais em refeições vegetarianas e onívoras servidas em restaurante universitário. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 3, n. 20, p. 229-237, maio 2007.
- SOCIEDADE Brasileira Vegetariana. *Pesquisa do IBOPE aponta crescimento histórico no número de vegetarianos no Brasil*. 2018.
- TABELA Brasileira de Composição de Alimentos: TACO. 5. ed. Campinas: Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – Nepa, 2011.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO. Escola Paulista de Medicina. Departamento de Informática em Saúde. *Tabela de composição Química dos Alimentos (TABNUT)*.

ZANGELMI. A. C. B.; et al. *Produtos de soja: leite, farinha e outros*. São Paulo: Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia. 1982. 157p. (Série Tecnologia Agroindustrial, 10).

1 CAMPOS, Karoline Raizel Rodrigues é mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, Brasil.

2 GUTIERREZ, Érika Maria Roel é pós doutora em Ciências Agrárias pela Universidade de São Paulo e Docente em Tecnologia em Alimentos – Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Deputado Roque Trevisan.

# Capacidade fermentativa e análise genética de leveduras de fermentação natural de hidromeis utilizando metodologia de PCR

BENETOLE, Bianca Martins  
GOMES, Winston Pinheiro Claro  
NASCIMENTO, Daniela Defávori do

## Resumo

O hidromel é uma bebida alcoólica obtida a partir da diluição de mel e água em diferentes proporções e que através da levedura se dá o processo fermentativo alcoólico de um corpo orgânico convertendo para álcool etílico, dióxido de carbono e liberação de calor. Assim, o objetivo principal foi realizar a análise genética de leveduras oriundas da fermentação natural de hidromeis e avaliar a sua capacidade fermentativa. A análise de capacidade fermentativa foi baseada na metodologia de Brasil (2012) e Gomes, Yoshinaga & Bortoleto (2020), e a avaliação genética foi realizada conforme o método de Carvalho-Neto *et al.* (2013) com adaptações. Por meio dos resultados obtidos foi possível concluir que o tipo de hidromel produzido influenciou no tipo de levedura, já que a levedura LA apresentou melhor potencial de capacidade fermentativa para produção de bebidas alcoólicas, diferindo das demais, embora as análises genéticas por PCR não tenham sido conclusivas para a caracterização destas leveduras.

**Palavras-chave:** Hidromel. Fermentação natural. Leveduras selvagens.

## Abstract

Mead is an alcoholic beverage obtained from the dilution of honey and water in different proportions and through yeast occurs the alcoholic fermentative process of an organic body, converting it to ethyl alcohol, carbon dioxide and release of heat. Therefore, the main objective was to carry out the genetic analysis of yeasts from natural mead fermentation and to evaluate their fermentative capacity. The analysis of fermentative capacity was based on the methodology of Brazil (2012) and Gomes, Yoshinaga & Bortoleto (2020), and the genetic evaluation was carried out according to the method of Carvalho-Neto *et al.* (2013) with adaptations. Through the results obtained it was possible to conclude that the type of mead produced influenced the type of yeast and that the LA yeast had a better potential for fermentative capacity for the production of alcoholic beverages, differing from the others, although the genetic analyzes by PCR have not been conclusive for the characterization of these yeasts.

Keywords: Mead. Natural fermentation. Wild yeasts.

## Resumen

El hidromiel es una bebida alcohólica obtenida de la dilución de la miel y el agua en diferentes proporciones y que a través de la levadura ocurre un proceso de fermentación alcohólica de un cuerpo orgánico, que lo convierte en alcohol etílico, dióxido de carbono y liberación de calor. Por lo tanto, el objetivo principal era llevar a cabo el análisis genético de levaduras de fermentación natural de hidromiel y evaluar su capacidad fermentativa. El análisis de la capacidad fermentativa se basó en la metodología de Brasil (2012) y Gomes, Yoshinaga & Bortoleto (2020), y la evaluación genética se realizó de acuerdo con el método de Carvalho-Neto *et al.* (2013) con adaptaciones. A través de los resultados obtenidos se pudo concluir que el tipo de hidromiel producido influyó en el tipo de levadura y que la levadura LA tenía un mejor potencial de capacidad fermentativa para la producción de bebidas alcohólicas, diferenciándose de las demás, aunque no se han sido conclusivos los análisis genéticos por PCR. para la caracterización de estas levaduras.

**Palabras clave:** Hidromiel. Fermentación natural. Levadura salvaje.

## INTRODUÇÃO

Originalmente, a produção de hidromel acontecia devido ao crescimento de microrganismos selvagens presentes naturalmente no mel, porém a fermentação alcoólica era imprevisível graças a presença de bactérias e leveduras contaminantes que alteravam as propriedades sensoriais, porém, atualmente com a evolução do processo e da indústria, cepas selecionadas e leveduras comerciais têm sido usadas para reduzir os riscos de contaminação e para se ter maior controle durante o processo fermentativo (MENDES-FERREIRA *et al.*, 2010; ROLDAN *et al.*, 2011; MILESKI, 2016).

Nas fermentações de bebidas alcoólicas as leveduras mais comumente utilizadas são as *Sacharomyces cerevisiae*, que tem a função de converter o açúcar em álcool etílico e produzir outras substâncias importantes na caracterização da bebida, como compostos aromáticos. As leveduras são eucariontes, unicelulares pertencentes ao reino dos fungos, heterotróficas e se multiplicam por brotamento, aumentando rapidamente a sua população, sobretudo em meio em que esteja presente o açúcar. No caso do hidromel, espera-se que a fermentação seja feita pela *Sacharomyces cerevisiae*, pois, o mel é rico em açúcares como frutose, glicose, maltose e sacarose (FALASCA, MUCHAGATA & BASSAN, 2010; RIBEIRO JUNIOR, CANAVER & BASSAN, 2015).

Navrátil *et al.* (2001 *apud* MILESKI, 2016) descreve a variedade do mel, a estirpe da levedura, os nutrientes disponíveis e o pH do meio como as variáveis importantes que afetam a produção e qualidade do produto final, sendo que a variedade do mel (teor de açúcar) e a estirpe da levedura são responsáveis pelo teor alcoólico.

A técnica molecular da PCR (*Polymerase Chain Reaction* ou Reação em Cadeia da Polimerase) é baseada na amplificação *in vitro* de milhões de cópias de uma determinada sequência da molécula de DNA catalisada por uma enzima DNA polimerase termorresistente, além de requerer a presença dos quatro tipos de desoxinucleotídeos (dATP, dCTP, dTTP e dGTP) e *primers*, ou iniciadores, como são conhecidos os oligonucleotídeos sintéticos (SILVA FILHO, 2003; TOSTA, 2004; REGITANO, 2001). Dessa forma, sendo possível a consequente comparação com banco de dados existente para identificação da nova espécie (AZEVEDO, SEVERINO; MAGALHÃES, 2004).

Tosta (2004) ressalta que o aperfeiçoamento da PCR nos últimos anos a tem tornado cada vez mais confiável e aplicável na caracterização e identificação de leveduras, sendo que, atualmente, esta técnica possui algumas derivações, como o RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA* ou Polimorfismo do DNA Amplificado ao Acaso), em que a sequência de DNA amplificado não é previamente conhecida ou determinada, portanto, ao acaso.

Desta forma, este estudo teve como objetivo a verificação de amostras isoladas de leveduras obtidas por fermentação natural de hidromeis verificando se o ambiente e os diferentes ingredientes utilizados influenciaram no genótipo de levedura obtida, além de verificar o potencial fermentativo das leveduras selvagens isoladas para produção de bebidas alcoólicas.

## 2 METODOLOGIA

As análises foram realizadas na Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Deputado Roque Trevisan, na cidade de Piracicaba/SP. Onde as atividades foram desenvolvidas nos Laboratórios de Microbiologia, Biotecnologia e Cromatografia.

### 2.1 Isolamentos das Leveduras

Os hidromeis Tipo A, B e C foram confeccionados na cidade de Piracicaba/SP e o Tipo D na cidade de Santa Bárbara d'Oeste/SP. Sendo que a água utilizada foi a dos municípios onde eles foram elaborados. O mel utilizado foi o mesmo para todos os hidromeis, constituindo de embalagem comercial adquirido em hipermercado da cidade de Piracicaba. O teor de Brix inicial foi de 17,60; 16,80; 19,60 e 16,10 e final foi de 6,90; 8,00; 8,00 e 9,40 para o hidromel tipo A, B, C e D, respectivamente. Além disso o pH dos hidromeis variam de 2,67 até 4,49, durante todo o processo de confecção da bebida.

As leveduras analisadas são oriundas da fermentação natural de 4 tipos de hidroméis, conforme a Tabela 1, onde as leveduras serão denominadas: LA, para levedura do Tipo A, LB, Tipo B, LC, Tipo C e LD, para levedura oriunda do Tipo D.

**Tabela 1 - Tipos de hidromeis**

<b>Ingredientes</b>	<b>Tipo A</b>	<b>Tipo B</b>	<b>Tipo C</b>	<b>Tipo D</b>
<b>Mel</b>	200,00	200,00	200,00	200,00
<b>Água</b>	800,00	800,00	800,00	800,00
<b>Limão</b>	-	92,00	-	-
<b>Uva-Passa</b>	-	-	100,00	-
<b>Maça Gala</b>	-	-	-	146,00

**Fonte:** Autores. \*Valores apresentados em gramas

Ao final do processo fermentativo, realizou-se o isolamento, por estriamento em placas de petri com meio de cultura YPD, para o desenvolvimento de colônias, das leveduras de cada hidromel.

## 2.2 Análise de Teor Alcoólico

### 2.2.1 Instrumental

A determinação do teor de álcool etílico foi realizada no cromatógrafo gasoso, marca *PerkinElmer*, modelo Clarus 600, com detector de ionização de chama (*flame ionization detector* - FID). Utilizou-se uma coluna capilar *PerkinElmer* modelo Elite-WAX com dimensões de 30 m x 0,25 mm x 0,5 µm. O gás de arraste utilizado foi nitrogênio a uma vazão de 1,20 mL min<sup>-1</sup>, do hidrogênio foi 45 mL min<sup>-1</sup> e do ar sintético foi 450 mL min<sup>-1</sup>, todos com alto grau de pureza (99,999%). O volume de injeção da amostra foi de 300 µL a uma velocidade de 250 µL s<sup>-1</sup>, empregando-se o “split” de 1: 10. A temperatura do forno foi de 100 °C por 5 minutos. A temperatura do injetor foi de 150 °C e o detector a 300 °C.

O cromatógrafo ainda possui um amostrador automático da marca *Combipal*, modelo *CTC Analytics, Pal System*, com o forno para *Headspace*.

### 2.2.2 Preparação de soluções padrões

O álcool etílico (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) utilizado para a análise em cromatografia é de grau padrão cromatográfico (Marca LiChrosolv® Merck).

As soluções padrões contendo álcool etílico absoluto, expressas em v/v (volume em mL do analito e 100 mL de solução), foram preparadas com as seguintes concentrações: padrão 1 (0,5% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), padrão 2 (1,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), padrão 3 (2,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), padrão 4 (3,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), padrão 5 (4,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), padrão 6 (5,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), padrão 7 (6,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), padrão 8 (7,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), padrão 9 (8,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), padrão 10 (9,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), padrão 11 (10,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), padrão 12 (11,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), padrão 13 (12,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) e padrão 14 (14,0% de C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O). Realizou-se a construção da curva analítica e se obteve o R<sup>2</sup> o valor de 0,993197, apresentado pela equação  $y = (155,812613) + (950,097041)x$ .

### 2.2.3 Análise do teor álcool etílico

Para realizar a análise de teor alcoólico, utilizou-se como base a metodologia de Brasil (2012) e Gomes, Yoshinaga & Bortoleto (2020), foram coletadas 4 amostras, sendo uma de cada hidromel, a cada 7 dias após o preparo do hidromel, sucessivamente até completar 56 dias, totalizando 36 amostras, acrescidas depois de mais quatro amostras no 57º dia.

Todas as amostras foram incubadas no forno do amostrador automático para utilização da extração *Headspace*, a 60 °C pôr 5 min com uma agitação de 500 rpm. Após foram injetadas no cromatógrafo gasoso.

### 2.3 Reação em cadeia da polimerase (RCP) ou *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

O DNA total foi extraído das amostras de leveduras (5 amostras de cada hidromel), através do método adaptado de Doyle & Doyle (1987). Com uma alça de platina, uma alçada de amostra das leveduras fora colocada em tubo Eppendorf e macerados, juntamente com 600 µL de tampão de extração (1,4M NaCl; 100mM TrisHCl pH=8; 20mM EDTA pH=8; 1% PVP-40; 1% SDS e água ultrapura). Em seguida foram agitados com o auxílio de um agitador de tubos e mantidos por 20 minutos a 60°C, com homogeneização em intervalos de 5 minutos. Passados os 20 minutos as amostras repousaram em temperatura ambiente por 5 minutos, posteriormente realizou-se a de 600 µL de CIA (24 mL clorofórmio : 1 mL álcool isoamílico), realizando a homogeneização para formação de uma emulsão por inversão dos tubos (25 vezes), por fim, centrifugou (15.000 rpm) as amostras, à temperatura ambiente, por 7 minutos.

Em um novo tubo, transferiu a fase aquosa (superior) e adicionou-se 500 µL isopropanol para a precipitação do DNA em temperatura ambiente. Realizando a homogeneização suave por inversão dos tubos (1 minuto), por fim, centrifugou (15.000 rpm) novamente as amostras, à temperatura de 4°C, por 15 minutos. O sobrenadante foi então descartado e o precipitado lavado com 500 µL de uma solução de álcool etílico a 70%, mantido sob refrigeração (-20°C) por 20 minutos, antes da centrifugação por 15 minutos, 4°C, a 15.000 rpm.

Realizou-se o descarte do sobrenadante cuidadosamente e deixou o precipitado secando, após a secagem foi ressuscitado em 30 µL de água ultrapura e armazenado em geladeira para completa dissolução do precipitado.

A reação de PCR do DNA das leveduras com 4 pares de primers específicos (CARVALHO-NETTO *et al.*, 2013) para caracterização molecular, foi feita para um volume final de 10 µL, utilizando-se 9 µL do primer e 1 µL de amostra, utilizando-se *Drem Taq*<sup>®</sup> (Fermentas), conforme recomendações do fabricante.

A amplificação dos segmentos de DNA das leveduras analisadas foi realizada em duas etapas, devido a diferenças na temperatura de anelamento dos pares de *primers*. Para dois pares (P1 e P2) o programa utilizado no termociclador TECHNE, modelo TC-4000, foi 5 minutos iniciais a 94°C, e 45 ciclos de 45 segundos a 94°C, 40 segundos a 54°C e 1 minuto e 30 segundos a 72°C; mais 2 minutos a 72°C, para extensão final. Para os outros dois pares de primers (P3 e P4), mudou-se apenas a temperatura de anelamento, ficando, portanto: 5 minutos iniciais a 94°C, e 45 ciclos de 45 segundos a 94°C, 40 segundos a 57°C e 1 minuto e 30 segundos a 72°C; mais 2 minutos a 72°C, para extensão final (CARVALHO-NETTO *et al.*, 2013).

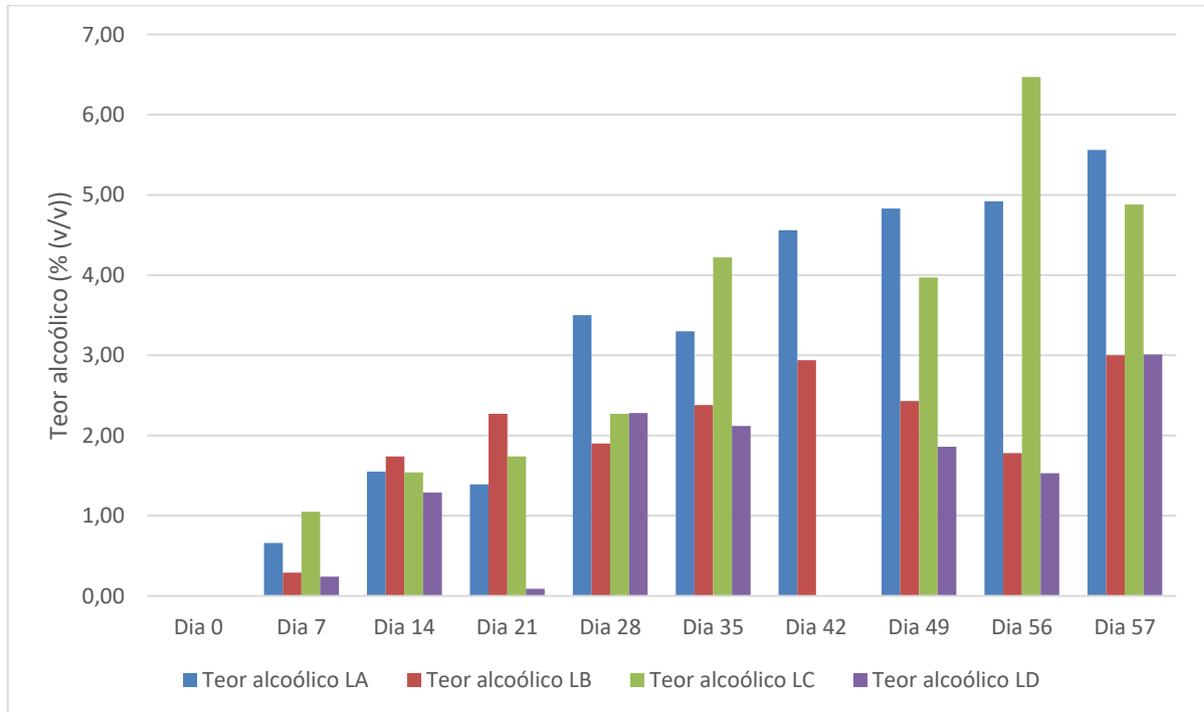
O produto de PCR (10µL de cada reação) foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1% com tampão TBE 0,5x, submetido a corrente de 75V por 20 minutos, tendo como marcador de peso molecular 3 µL DNA *Ladder* (Fermentas), sendo todos acrescidos de tampão de amostra (*Dye IV*) (SAMBROOK, FRITSCH, MANIATIS, 1989). As bandas foram visualizadas por meio de coloração com brometo de etídio à 0,01 ng/mL sob luz ultravioleta e registradas com o fotodocumentador Gel *Logic 212 Pro* (*Carestream MI SE*).

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No Gráfico 1, pode-se avaliar a produção de álcool etílico das leveduras selvagens nos 4 hidromeis. Tendo o maior destaque para a produção da amostra LA, que demonstrou maior eficiência, uma vez que a hegemonia e rusticidade das leveduras selvagens presentes, demonstra um ótimo desempenho fermentativo (Moreira *et al.*, 2013), apesar do único substrato presente ser o mel, e nos outros hidromeis tinham outros substratos que poderiam prover maiores quantidades de um corpo orgânico. Visto que, bioquimicamente falando, o processo de fermentação alcoólica ocorre onde a levedura a partir de um corpo orgânico faz a conversão para álcool etílico, dióxido de carbono e liberação de calor (TORTORA, FUNKE, CASE, 2012; SOARES, 2006). Mostrando que as leveduras selvagens presentes têm maior resistência em condições adversas do meio (Moreira *et al.*, 2013), já que as bebidas foram elaboradas de forma caseira, onde não havia controle de alguns parâmetros (temperatura e umidade). Lima, Basso e Amorim (2001), mencionam que as leveduras selvagens possuem habilidades fermentativas, de alta eficiência na produção de etanol, baixa produção de glicerol e alta tolerância a diversos fatores estressantes, além de possuírem material genético viável para agregar atributos metabólicos, por meio da biotecnologia. As leveduras selvagens devem ser estudadas devido ao seu potencial tecnológico na produção de bebidas alcoólicas, onde a tendência é o uso de leveduras com características próprias para elaboração de produtos exclusivos (FIORE *et al.*, 2005).

Conforme Brasil (2019), os hidromeis podem variar o teor alcoólico de 4 a 14%, desta forma apenas os hidromeis A e C obtiveram os teores finais preconizado pela legislação vigente. Além disso o hidromel tipo A atingiu o teor mínimo com 42 dias, demonstrando que a levedura LA, tem maior potencial para produção de etanol em bebidas alcoólicas, seguida da levedura LC.

Gráfico 1 - Teores alcoólicos dos hidromeis até o período de 57 dias



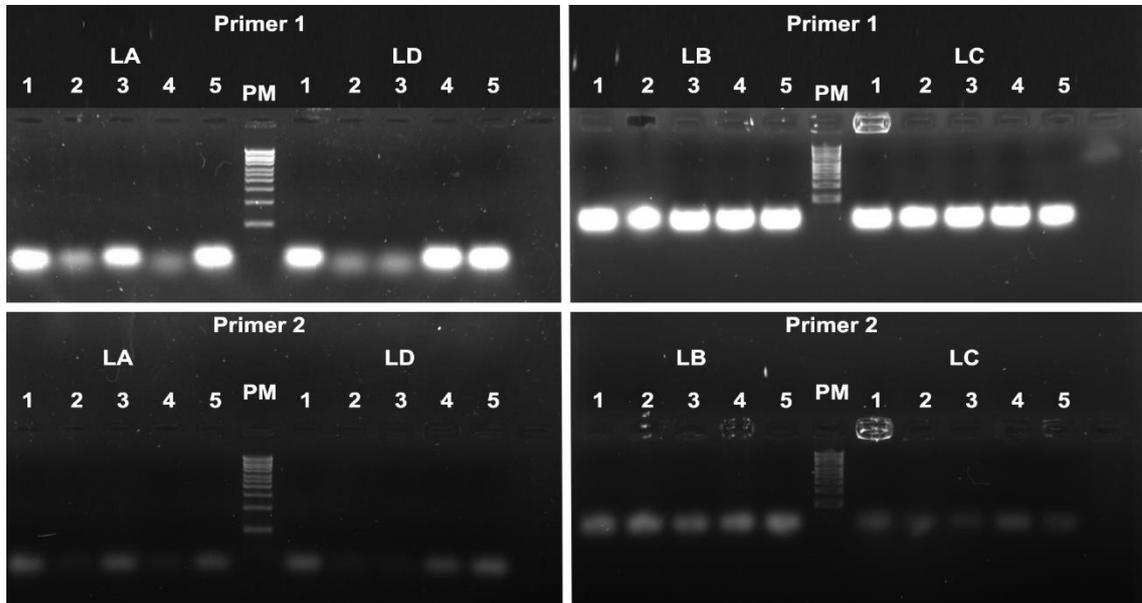
Fonte: Autores. \*As amostras do dia 42, da LC e LD, foram perdidas.

As leveduras selvagens isoladas dos hidromeis passaram pela reação de PCR, onde se utilizou de *primers* específicos para caracterização molecular (CARVALHO-NETTO *et al.*, 2013). Os eletroforetogramas, Figuras 1 e 2, mostram as bandas obtidas em comparação ao marcador de peso molecular DNA *Ladder* (PM).

Na Figura 1, nota-se que o perfil de bandas obtidas a partir dos primers P1 e P2, a 54°C, para leveduras LA e LD foram semelhantes entre si, além de uma possível presença de outro tipo de levedura, pois os produtos de amplificação resultantes apresentam altura e intensidade de banda diferentes após a PCR, porém a análise exclusivamente através destas imagens não é conclusiva. Para as leveduras LB e LC, o padrão de bandas são semelhantes.

BENETOLE, Bianca Martins; GOMES, Winston Pinheiro Claro; NASCIMENTO, Daniela Defávári do

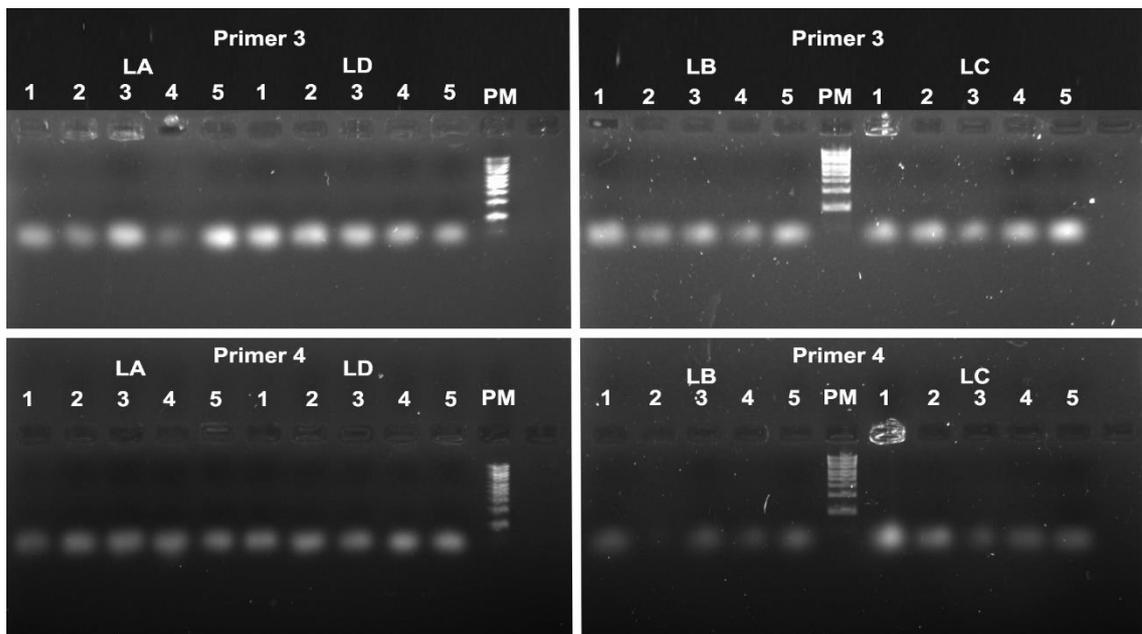
Figura 1 - Eletroforetograma das bandas dos primers P1 e P2, a 54°C, das amostras de levedura dos hidromeis, para caracterização molecular, comparados com o marcador de peso molecular (PM)



Fonte: Autores.

Já na Figura 2, nota-se que o perfil de bandas obtidas a partir dos primers P3 e P4, a 57°C, foram semelhantes entre si para os 4 tipos de hidromeis, demonstrando que para essas amostras não houve especificidade para demonstrar suas diferenças. Pois os *primers* são desenhados de acordo com o código genético que será estudado, logo, o código genético dessas leveduras são semelhantes, na região que os primers atuaram (OLIVEIRA *et al*, 2015).

Figura 2 - Eletroforetograma das bandas dos primers P3 e P4, a 57°C, das amostras de levedura dos hidromeis, para caracterização molecular, comparados com o marcador de peso molecular (PM)



Fonte: Autores.

## CONCLUSÃO

Através desse trabalho foi possível observar que o tipo de hidromel utilizado não influenciou no tipo de levedura selvagem que apareceu nos hidromeis, pois pela análise de PCR, esperava-se que todos hidromeis apresentariam leveduras diferentes entre si, porém os pares de primers utilizados nas reações PCR não foram suficientes para detectar diferenças genéticas entre as leveduras, pelo padrão de bandas apresentado. Além disso, a levedura LA apresentou um bom potencial tecnológico para produção de bebidas alcoólicas, diante disso realizar novas pesquisas com essa levedura é importante.

## AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Tecnologia de Piracicaba "Deputado Roque Trevisan", Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza.

## REFERÊNCIAS

AZEVEDO, F. M.; SEVERINO, P.; MAGALHÃES, V. D. Detecção de leveduras clinicamente relevantes no sangue: avaliação de métodos de extração e amplificação de RNA. *Einstein*, v. 2, n. 4, p. 311-313, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do abastecimento. Norma Operacional nº 1, de 24 de janeiro de 2019. Norma interna DIPOV/SDA nº 1, de 24 de janeiro de 2019. Aprova a Consolidação das Normas de bebidas, fermentados acéticos, vinhos e derivados da uva e do vinho, nacionais e importados a ser utilizada pela inspeção e fiscalização agropecuária e pelos administrados, na forma do Anexo desta norma. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 30 jan. 2019a. ISSN 1111-1111. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/norma-operacional-no-1-de-2019\\_dipov-versao-15-08-19\\_anexo.pdf](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/norma-operacional-no-1-de-2019_dipov-versao-15-08-19_anexo.pdf). Acesso em: 22 out. 2020.

BRASIL, Z. de O. L. IT LABV 278 - Análise de Álcoois Superiores, Acetaldeído, Acetato de Etila, Furfural e Contaminantes Orgânicos por Cromatografia Gasosa. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). p. 1-5, 2012.

BRUNELLI, L. T. *Caracterização físico-química, energética e sensorial de hidromel*. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, p. 85. 2015.

CARVALHO-NETTO, O. V.; CARAZZOLLE, M. F.; RODRIGUES, A.; BRAGANÇA, W. O.; COSTA, G. G. L.; ARGUESO, J. L.; & PEREIRA, G. A. G., 2013. A simple and effective set of PCR-based molecular markers for the monitoring of the *Saccharomyces cerevisiae* cell population during bioethanol fermentation. *Journal of Biotechnology*, Amsterdam, n. 168, n.4, p.701–709. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.08.025>.

DOYLE, J. J. T.; DOYLE, J. L. *Isolation of plant DNA from fresh tissue Focus*, v. 12, p. 13-15, 1987.

FALASCA, M. T.; MUCHAGATA, E. A.; BASSAN, C. F. D. Vinho de Mel (hidromel) a partir do mel de Abelhas produzido pelo açúcar de cana-de-açúcar. Universidade de Marília, fórum de pesquisa e extensão, *anais...* ISSN 2178-2083, p. 84, 2010.

IORE, C. et al. Comparison between yeasts from grape and agave musts for traits of technological interest. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v. 21, n. 6-7, p. 1141-1147, 2005.

GOMES, W. P. C.; YOSHINAGA, F.; BORTOLETO, G. G. Determinação de álcoois em bebidas comerciais por cromatografia gasosa e amostragem por headspace. *Bioenergia em Revista: Diálogos* (ISSN: 2236-9171), v. 10, n. 1, 2020.

LIMA, U. de A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. de. Produção de Etanol. In: LIMA, U. de A. et al. (Coordenadores). *Biociência Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos*, v. 3, capítulo 1, São Paulo: Editora Blucher, 2001.

MATTIETTO, Rafaella de Andrade et al. Tecnologia para obtenção artesanal de hidromel do tipo doce. *Comunicado Técnico 170*, Embrapa: Belém. 2006.

MENDES-FERREIRA, A. et al. Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for mead production. *International Journal of Food Microbiology*, 144 (1), 193–198, 2010.

MILESKI, J. P. F. *Produção e caracterização de hidromel utilizando diferentes cepas de leveduras Saccharomyces*. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 72f., 2016.

MOREIRA, B. L. D. et al. Estudo de linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* oriundas da biodiversidade ambiental na fermentação alcoólica. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 29, Supplement 1, p. 1672-1677, nov. 2013.

OLIVEIRA, E. M. M. et al. *Comunicado Técnico 208 - Desenho de Primers Degenerados através de Bioinformática*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Embrapa Agroindústria de Alimentos. ISSN 01035231. Rio de Janeiro, RJ, 2015.

REGITANO, L. C. de A. *Introdução à análise de marcadores moleculares*. Embrapa Pecuária Sudeste. 15p., 2001.

RIBEIRO JUNIOR, M. R.; CANAVER, A. B.; BASSAN, C. F. D. Produção de hidromel: análise físico-química e sensorial. Universidade de Marília – *UNIMAR CIÊNCIAS*-ISSN1415-1642, Marília/SP, V. 24, (1-2), pp. 59-63, 2015.

ROLDAN, A., et al. Influence of pollen addition on mead elaboration: Physicochemical and sensory characteristics. *Food Chemistry*, 126 (2), 574–582, 2011.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. 765p.

SILVA FILHO, E. A. da. *Caracterização genética de populações de leveduras de destilarias de álcool combustível para otimização do processo de fermentação*. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

SOARES, T. L. *Álcoois, ésteres e aldeídos produzidos por diferentes isolados de Saccharomyces cerevisiae*. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Lavras, Lavras: UFLA, f. 75, 2006.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

TOSTA, C. D. *Biotipagem de leveduras industriais através de do sistema Killer*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 78 p., 2004.

**1 BENETOLE, Bianca Martins** é Graduanda em Tecnologia em Alimentos na Faculdade de Tecnologia de Piracicaba - Centro Paula Souza, onde é estagiária no Laboratório de Biotecnologia sob a orientação da Professora Dra Daniela Defávári do Nascimento desde 05 de setembro de 2018 e é aluna de Iniciação Científica no projeto "Cultivo *in vitro* de ora-pro-nóbis" no mesmo laboratório desde fevereiro de 2019. Desde agosto de 2019 é estagiária no Laboratório de Cromatografia sob a orientação da Professora Dra Gisele Gonçalves Bortoleto. Graduada em Engenharia Agrônoma na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) em dezembro de 2016. Realizou treinamento técnico no Laboratório de Fertilidade do Solo, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) de 17 de abril de 2013 até 17 de outubro de 2013, onde desenvolveu trabalhos relacionados com a área de Solos e Nutrição de Plantas. Participou de uma parte de uma Iniciação Científica com bolsa concedida pelo CNPq intitulada "Estudo das Relações entre 1-Metilciclopropeno (1-MCP) e Etileno na Qualidade de Mamões 'Golden' durante o período que fez estágio no Laboratório de Pós-colheita de Produtos Hortícolas na ESALQ-USP de 05 de dezembro de 2013 até 02 de fevereiro de 2015. Em dezembro de 2016, apresentou seu Trabalho de Conclusão de Curso, cujo título do projeto é "Avaliação de mudas propagadas *in vitro* de *Heliconia orthotricha* cultivar Eclipse Total conduzidas em cultivo protegido com adubação verde intercalar" realizado no Laboratório de Floricultura e Plantas Ornamentais na ESALQ-USP, onde foi estagiária desde 16 de junho de 2015 até a conclusão do trabalho.

**2 GOMES, Winston Pinheiro Claro** é Mestrando do programa de Ciências (Energia Nuclear na Agricultura), na área Química na Agricultura e no Ambiente, no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), graduando em Tecnologia em Alimentos na Faculdade de Tecnologia de Piracicaba - Centro Paula Souza, onde é estagiário no Laboratório de Cromatografia e Biotecnologia desenvolvendo a Iniciação Científica de "Análise de álcoois superiores em cervejas artesanais por Cromatografia Gasosa empregando Headspace". Graduação em Tecnologia Têxtil pela Faculdade de Tecnologia de Americana - Centro Paula Souza, em dezembro de 2010, onde foi bolsista pelo "Programa de Iniciação Científica e Tecnológica para Micro e Pequenas Empresas - BITEC" na Europa Indústria Têxtil LTDA.

**3 NASCIMENTO, Daniela Defávári do.** Possui graduação em Engenharia Agrônoma pela Universidade de São Paulo (1997), graduação em Licenciatura Em Ciências Agrárias pela ESALQ/USP (1998), mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas pela ESALQ/USP (2000) e doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) pela ESALQ/USP (2005). Atualmente cursa MBA em Agronegócios pelo PECEGE/ESALQ/USP. Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Bioquímica e Biologia Molecular, atuando principalmente nos seguintes temas: cultura de tecidos, micropropagação de plantas, clonagem gênica, transformação genética de plantas (Tabaco, Arabidopsis, Eucalipto e cana-de-açúcar), análises moleculares, DNA e RNA. Seleção e identificação molecular de: bactérias envolvidas na produção de biogás; e de leveduras para produção de cervejas artesanais.

# Detecção de OGM e Qualidade Microbiológica de Soja (*Glycine max (L.) Merrill*) e seus Derivados

PINTON, Murilo Gallani  
TSAI, Siu Mui  
NASCIMENTO, Daniela Defavari do

## Resumo

Com os avanços tecnológico e científico no campo da genética foi possível romper barreiras, especialmente, na área agrícola por meio do melhoramento genético permitindo a transferência de características de interesse agrônomo entre espécies que originaram os transgênicos. Dentre os alimentos transgênicos, a soja, uma planta rica em proteínas teve um aumento significativo de sua área plantada em nível mundial e vem ganhando cada vez mais destaque no cenário brasileiro devido aos inúmeros benefícios nutricionais à saúde humana de seu consumo e derivados. Assim, o presente trabalho teve como objetivo detectar a presença do promotor 35S em alimentos processados com soja transgênica por meio de técnicas moleculares e avaliar a qualidade sanitária dos alimentos usando análise microbiológica. Os resultados obtidos mostraram que as amostras analisadas apresentaram quantidade significativa de DNA (acima de 5,0nm/ $\mu$ L), embora de baixa qualidade. Para a análise de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), observou-se traços transgênicos somente no controle positivo, enquanto na análise microbiológica não foram observadas alterações nas amostras analisadas. Os resultados apresentados confirmaram a presença do gene transgênico somente na semente de soja geneticamente modificada. Nos alimentos analisados, que apresentavam em sua embalagem o símbolo transgênico, não foram encontrados traços transgênicos. Dessa forma, valida-se a qualidade e a segurança desses alimentos para a saúde humana. As técnicas moleculares e microbiológicas utilizadas foram precisas e adequadas para este tipo de análise.

**Palavras-chave:** Soja, OGM (Organismo Geneticamente Modificado), PCR.

## Abstract

With the technological and scientific advances in the field of genetics it was possible to break down barriers, especially in the agricultural area through genetic improvement allowing the transfer of characteristics of agronomic interest among species that originated transgenics. Among transgenic foods, soybeans, a plant rich in proteins, have significantly increased their area planted worldwide and have been gaining more prominence in the Brazilian scenario due to the innumerable nutritional benefits to human health of their consumption and derivatives. Thus, the present work aimed to detect the presence of the 35S promoter in foods processed with transgenic soybean using molecular techniques and to evaluate the sanitary quality of the food using microbiological analysis. The results showed that the analyzed samples presented a significant amount of DNA (above 5.0nm /  $\mu$ L), but of low quality. For PCR analysis (*Polymerase Chain Reaction*), transgenic traits were observed only in the positive control. And in the microbiological analysis, no changes were observed in the analyzed samples. In the present work, the presented results confirmed the presence of the transgenic gene only in genetically modified soybean. In the analyzed foods, which had the transgenic symbol in their packaging, no transgenic traits were found. In this way, the quality and safety of these foods is validated for human health. The molecular and microbiological techniques used were accurate and adequate for this type of analysis.

**Key-words:** Soybean, GMO (Genetically Modified Organism); PCR.

## **Resumen**

Con los avances tecnológicos y científicos en el campo de la genética fue posible romper barreras, especialmente, en el área agrícola por medio del mejoramiento genético permitiendo la transferencia de características de interés agronómico entre especies que originaron los transgénicos. Entre los alimentos transgénicos, la soja, una planta rica en proteínas tuvo un aumento significativo de su área plantada a nivel mundial y vienen ganando cada vez más destaque en el escenario brasileño debido a los innumerables beneficios nutricionales a la salud humana de su consumo y derivados. Así, el presente trabajo tuvo como objetivo detectar la presencia del promotor 35S en alimentos procesados con soja transgénica por medio de técnicas moleculares y evaluar la calidad sanitaria de los alimentos usando análisis microbiológico. Los resultados obtenidos mostraron que las muestras analizadas presentaron una cantidad significativa de DNA (por encima de 5,0 nm /  $\mu$ l), pero de baja calidad. Para el análisis de PCR (Polymerase Chain Reaction), se observaron rasgos transgénicos solamente en el control positivo. En el análisis microbiológico, no se observaron cambios en las muestras analizadas. En el presente trabajo, los resultados presentados confirmaron la presencia del gen transgénico solamente en la semilla de soja modificada genéticamente. En los alimentos analizados, que presentaban en su embalaje el símbolo transgénico, no se encontraron trazos transgénicos. De esta forma, se valida la calidad y la seguridad de esos alimentos para la salud humana. Las técnicas moleculares y microbiológicas, utilizadas fueron precisas y adecuadas para este tipo de análisis.

**Palabras clave:** Soja, OGM (Organismo Genéticamente Modificado), PCR.

## INTRODUÇÃO

O termo transgenia representa uma evolução do melhoramento genético convencional, que permite transferir características de interesse agrônomo entre espécies diferentes. Isso acaba mostrando a importância desta tecnologia que permite aos cientistas isolarem genes de microrganismos, por exemplo, e transferi-los para plantas, com o objetivo de torná-las resistentes a doenças e a ações indesejadas de pragas ou fortalecer a planta deixando-as mais nutritivas, entre outras inúmeras aplicações, estabelecendo o desenvolvimento sustentável e controle dos recursos naturais. Essa alteração no DNA permite expressão de característica que não inexistente anteriormente. Na natureza, alterações ou mutações naturais acontecem e esses genes que contêm essas características acabam definindo o organismo ao receber um outro gene de outro organismo, como por exemplo, transformar um vegetal mais resistente a pragas ou deixá-lo mais nutritivo (EMBRAPA, 2018). Portanto, pode-se entender que transgênico é um organismo que possui uma sequência de DNA (ou parte do DNA) de outro organismo, que pode ser de uma outra espécie diferente. Já um OGM é um organismo que foi modificado geneticamente, que pode receber o gene transgênico de outro organismo ou ele pode possuir esse gene naturalmente. Portanto, um organismo transgênico foi submetido a técnica específica de inserção de um trecho de DNA de outra espécie. Assim, o transgênico é um tipo de OGM, mas nem todo OGM é um transgênico (EMBRAPA, 2018).

Com o avanço dessas técnicas de manipulação de genes e a eficiência que elas possuem, empresas viram potencial e começaram a investir em técnicas da engenharia genética, pois elas mostram os principais benefícios que seria a diminuição dos impactos do homem sobre a natureza, e as lavouras transgênicas, apresentando uma segurança para o meio ambiente e para a sociedade, oferecendo benefícios em relação às lavouras convencionais, substituindo técnicas convencionais como o preparo da terra, plantio e colheita por técnicas avançadas (GAVIOL; NUNES, 2015). Plantas transgênicas que estão disponíveis no mercado reduzem a necessidade de aplicação de defensivos agrícolas para combater as pragas, com isso colaboram a diminuir o gasto de água na preparação do agro defensivo e reduzir uso de combustíveis em máquinas utilizadas na lavoura. Assim as lavouras acabam se tornando mais produtivas e acabam contribuindo na redução de plantio em novas áreas (EMBRAPA, 2018).

Alimentos transgênicos têm ganhado bastante destaque no cenário brasileiro cada vez mais por conta da soja, milho e algodão. Por influenciarem na saúde, na economia, na política, na cultura e no meio ambiente como um todo, no entanto, a soja é a principal fonte de especulações e questionamentos, pois está em alta nos processos produtivos e mercado consumidor (HIRAKURI;

LAZZAROTTO, 2010). A produção de soja no Brasil é destaque nacional e internacional, concorrendo com grandes países como Estados Unidos, Argentina e China. A maior parte da soja produzida atualmente apresenta modificação genética, e os seus derivados mais relevantes são: grãos, farelos e óleos. Com base nas verificações iniciais, é notório o valor da soja brasileira partindo da avaliação de fatores micro e macroeconômicos que circundam a produção da oleaginosa nos contextos mundial e nacional (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2010). O agronegócio brasileiro é responsável por 23,5% do Produto Interno Bruto (PIB), segundo dados da Confederação Nacional da Agricultura (CNA) de 2017, portanto o complexo da soja tem sido de extrema importância para a economia brasileira.

A soja (*Glycine Max*), é uma planta da família *Fabaceae* e hoje é cultivada mundo afora, principalmente na China que é seu país de origem. É importante ressaltar que sua agricultura duplicou a área de cultivo devido à expansão do setor produtivo e do crescimento mundial, seu grão contém de 18% a 20% de óleo e o farelo representa 79% (tem teor de proteína de 45%) (AGEITEC, 2019). O grão apresenta formato arredondado e cor amarela, da mesma família do feijão e é riquíssima em proteínas vegetais, com um perfil de aminoácidos de boa qualidade, apesar do teor reduzido de aminoácidos sulfurados, metionina e cistina. Por outro lado, possui alto teor de lisina, aminoácido limitante nos cereais (UFRGS, 2018).

A soja apresenta vitaminas do complexo B, com exceção da vitamina B12. Quando está na fase madura, contém as vitaminas E e K, mas não a D e quando está verde, apresenta bons teores de ácido ascórbico e  $\beta$ -caroteno. Além disso, a soja apresenta importantes fontes anti-nutricionais, tais como anti-tripsina, sendo encontrada no estado natural (crua) que inibe a absorção das proteínas. Após passar por um tratamento térmico amplia seu valor nutricional e inativa os fatores anti-nutricionais. Pode-se dizer que é considerada uma fonte de proteína completa, apresentando importantes aminoácidos essenciais para o organismo que devem ser adquiridos por fontes externas, por causa de sua inabilidade para sintetizá-los (UFRGS, 2018). A soja é também conhecida por possuir isoflavona (fito estrógeno), que auxilia a aliviar os sintomas relacionados à menopausa e climatério. O consumo da mesma, seria uma alternativa natural à terapia de reposição hormonal; onde colabora a reduzir propensão à osteoporose; além de ajudar diminuir os níveis de colesterol total e LDL (“colesterol ruim”), e eleva os níveis de HDL (“colesterol bom”), onde colabora a reduzir a incidência e o risco de determinados tipos de câncer, principalmente os hormônio-dependentes (GÓES-FAVONI et al., 2004).

Abrangendo todos os tópicos citados, o presente trabalho teve como objetivo detectar, por meio de técnicas moleculares, traços transgênicos em produtos derivados de soja a partir da extração de DNA e posterior utilização da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*). A qualidade

dos produtos industrializados derivados de soja também foi avaliada por meio de análises microbiológicas, buscando pela presença de coliformes.

## **1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

A soja, além de ser a principal cultura do agronegócio nacional e o principal grão cultivado no Brasil, vem se expandindo em diversas áreas, superando os demais grãos e cultivos da agricultura brasileira como a cana-de-açúcar (CONAB, 2018). Com esta grande expansão no mercado agrícola, a soja tem sido amplamente comercializada e distribuída interna e externamente, atraindo diversas empresas para este agronegócio, devido à alta demanda no mercado, que é promissora por conta da matéria prima e os seus produtos derivados como o farelo e óleo. Por conta das condições climáticas o Brasil, tem a expectativa de superar os Estados Unidos, em produção cultivada de soja, permitindo-o se tornar o principal produtor do grão (HIRAKURI et al., 2018).

A biotecnologia é, hoje, uma ciência essencial para disposição da área de pesquisa e para o pesquisador. Está em plena expansão e tem muito a contribuir para a sociedade do futuro. As novas descobertas na área consistirão importante material para diversas aplicações. Apresenta soluções para o futuro em relação aos problemas da alimentação humana, pois com seu grande avanço na produção anual dos alimentos pode-se aumentar consideravelmente e satisfazer às necessidades da população, e os produtos alimentícios acabam sendo mais econômicos e com melhor qualidade (OMS, 2008). Sendo assim a melhoria genética dos alimentos apresenta soluções para evitar cenários de fome por todo o mundo, situando que os alimentos transgênicos podem ser mais nutritivos, mais resistentes a pragas e ter maior adaptação em solos pobres em nutrientes do que os convencionais (THIEMAN; PALLADINO, 2004).

A agricultura tem alcançado não somente aumentar a produtividade dos alimentos, mas reduzir, ou mesmo eliminar, danos ao meio ambiente. O aprimoramento de técnicas agrícolas está aumentando a produtividade, melhorando a fertilidade do solo e protegendo o meio ambiente. Porém, deve-se considerar que o potencial produtivo e o melhoramento de plantas são considerados uma nova tecnologia para a obtenção de outras variedades melhoradas (THIEMAN; PALLADINO, 2004). Nesse contexto, a transgenia tem grande potencial considerando a variabilidade existente e disponível de seres vivos. Sendo assim, quando uma característica desejável não é encontrada no genoma da espécie de interesse, mas o gene responsável por essa característica é identificado em outra espécie, o gene pode ser transferido para a espécie a ser melhorada. Isso é possível porque o código genético é universal, ou seja, é o mesmo para todos os seres vivos (PATERNIANI, 2001).

A técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) possui um desenvolvimento acelerado nos estudos de sequências de ácidos nucleicos (Molina; Tobo, 2004) e por meio de diversas etapas de variação de temperatura, a duplicação de cadeias de DNA *in vitro*. A reação tem como objetivo amplificar o DNA onde envolve o emprego dos quatro nucleotídeos (dNTP's do DNA); sequências iniciadoras que seriam os primers e uma DNA polimerase termoestável, possibilitando a obtenção de várias cópias de uma sequência específica de ácido nucleico, a partir da fita molde. Desde o início da utilização da técnica de PCR, o avanço na área de genética molecular vem se revolucionado cada vez mais (MOLINA; TOBO, 2004).

O conceito de qualidade principalmente em alimentos tem evoluído cada vez mais por conta das principais formas de contaminação, dentre as quais destacam-se a manipulação e a conservação inadequadas dos alimentos (FRANCESCATO et al., 2002). Com a modernização na ciência, métodos uteis surgiram a partir da década de 70, conseqüentemente, tendo a necessidade de se reduzir o tempo necessário para a obtenção de resultados e produtividade laboratorial, além de simplificar o trabalho e a redução de custos. Por isso os métodos de análise de alimentos são usados na maioria dos laboratórios em diversos países (CUNHA, 2006). As técnicas de análise, em relação a qualidade microbiológica são de extrema importância além de ser válida e reconhecida (PRIETO et al., 2008).

## **2 METODOLOGIA**

As análises moleculares e microbiológicas deste presente trabalho foram realizadas no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), no Laboratório de Biologia Celular e Molecular

Utilizou-se metodologia simples e rápida de extração de DNA genômico da semente de soja, como descrito por Edwards; Johnstone e Thompson. (1991). Sementes da soja transgênica e convencional foram coletadas para a extração do DNA, conforme protocolo adaptado.

Após a coleta do material, o mesmo foi colocado em béquer com água ultrapura milli-Q autoclavada (para facilitar a maceração do mesmo), em seguida o material (sementes) foi macerado em cadinho usando pistilo de porcelana e nitrogênio líquido até obtenção de um pó (observação: nunca deixar o material descongelar). Após este processo foram transferidos 50 mg da amostra macerada para tubo Eppendorf de 1,5 mL, e adicionados 300 µL de tampão de Extração (200 mM Tris-HCl pH = 7,5; 200 mM NaCl; 25mM EDTA), colocando-o para homogeneizar em agitador tipo vortex por 30 segundos. Em seguida foi adicionado 10 µL de SDS 10%, e levado para centrifugar a 10.000g por 3 min a temperatura ambiente.

Posteriormente, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo e adicionado o mesmo volume de isopropanol e o tubo foi invertido 5 vezes, suavemente, levando-o para incubação a

temperatura ambiente por 5 min, e em seguida foi centrifugado a 10.000g por 10 min a temperatura ambiente. Após essa etapa, o sobrenadante foi descartado e foram adicionados 500 µL de etanol 70% gelado, e novamente centrifugado 10.000g por 5 min em temperatura ambiente. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi seco em temperatura ambiente por 30 min. Em seguida, colocando entre 50-75 µL de Tris-RNase, e levado para incubação do DNA a 37°C por 30 min, após foi mantido em freezer a -20°C até o uso.

O kit que foi utilizado para a extração de DNA dos alimentos é o Wizard® Magnetic DNA Purification System for Food, o qual é comumente utilizado para a extração e purificação de DNA de amostras de vários tipos de alimentos, incluindo os processados, de forma que o DNA extraído pode ser utilizado para detecção de traços transgênicos em alimentos. Os alimentos derivados de soja analisados foram hambúrguer de tofu; suco a base de soja não transgênica; bolacha com base de traços de soja transgênica e bolacha com base de traços de soja não transgênica.

Foram pesados 200 mg da amostra de alimento e transferidos para um tubo de 2 ml, assim foram adicionados 500 µL de Lysis Buffer A e 5 µL de RNase. Em seguida foi levado ao agitador tipo vortex por alguns segundos, adicionando posteriormente 250 µL de Lysis Buffer B, sendo novamente agitado em vortex por 15 segundos. Após esse processo a amostra foi incubada em temperatura ambiente (22-25 °C) por 10 minutos. Passado este tempo foi adicionado 750 µL de Precipitation Solution e novamente agitado em vortex. Em seguida foi centrifugado por 10 minutos a 13.000 xg. Após esse processo, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo (verificando exatamente o volume que foi transferido), foram utilizados 800 µL da amostra.

Foi necessário misturar vigorosamente a solução MagneSil® PMPs por 30 segundos e adicionar 50 µL ao tubo com o sobrenadante. Logo após foi adicionado isopropanol em uma proporção 0.8 µL em relação ao sobrenadante (ex: se foram transferidos 1000 µL de sobrenadante, adiciona-se 800 µL de isopropanol), foram adicionados 640 µL de isopropanol e incubados em temperatura ambiente por 5 minutos, misturando o conteúdo do tubo a cada minuto. Após este tempo, a amostra foi inserida no tubo e levada ao Magne Sphere® Technology Magnetic Separation Stand onde permaneceu por 1 minuto e, após, foi retirado o líquido com uma pipeta e descartado. O tubo foi removido do Stand e adicionados 250 µL de Lysis Buffer B. Invertendo o tubo 3 vezes para misturar. E novamente inserindo o tubo no Stand e deixando por 1 minuto e, após, foi retirado o líquido com uma pipeta e descartado.

Adicionou-se 1 ml de Etanol 70%, retornando o tubo para o Stand e deixando por mais 1 minuto. Retirou-se o líquido com uma pipeta e descartando. Este passo, foi repetido mais duas vezes, para um total de três lavagens com etanol 70%. Após terminar as lavagens as amostras, foram deixadas secando em (temperatura ambiente por 30 minutos, ou a 65 °C por 10 minutos, ou

a 45 °C no vácuo por 5 minutos), em processo a vácuo por 5 minutos a 45 °C. E em seguida foi adicionado 100 µL de TE (Tampão Tris EDTA), e levado para o agitador novamente para vortex por alguns segundos e incubado a 65 °C por 5 minutos em banho-maria. Por último as amostras contidas nos tubos foram levadas novamente ao Stand permanecendo por 1 minuto. Após este tempo, foi retirado o líquido - que é o DNA purificado - com uma pipeta e transferido para novo tubo.

As amostras de DNA de semente de soja e alimentos foram analisadas em relação a qualidade e quantidade de DNA em espectrofotômetro Nanodrop 2000c (Thermo Fisher Scientific), com densidade ótica de 260nm.

Para a verificação da presença de traços transgênicos nos alimentos industrializados, foi realizado o teste de prospecção do promotor35S (tamanho do fragmento 195 pb), por meio de PCR convencional no equipamento Termociclador Gene Amp PCR System 9700 (Life Technologies). Os *primes* utilizados para a reação de PCR foram o 5'-GCTCCTACAAATGCCATCA-3' (forward) e 5'-GATAGTGGGATTGTGCGTCA-3' (reverse). Foram utilizados como controle positivo e negativo da reação DNA extraídos das sementes de soja transgênica e convencional, respectivamente. As análises foram realizadas de acordo com protocolo descrito a seguir:

Reagentes e o volumes propostos para a condição do mix : 2,50 µL de BUFFER 10X PCR ; 0,75 µL de MgCl<sub>2</sub> 50 mM; 0,25 µL de DNTP's 10 mM ; 1,25 µL de P35SF 5 pMoles/µL; 1,25 µL de P35SR 5 pMoles/mL; 1,00 µL de DNA; 0,20 µL de Taq 5U/mL; e 17,8 µL de água. Tendo um total de 25,0 µL.

As condições de ciclagem que foram utilizadas para a reação de PCR convencional foram de 96°C por 3 minutos para a pré-desnaturação do DNA, seguido por 35 ciclos. O anelamento foi programado com um gradiente de temperatura, iniciando a 67°C e terminando com 62°C após 10 ciclos. Os 25 ciclos restantes foram programados da seguinte maneira: 94°C por 1 minuto para a desnaturação; 62°C por 1 minuto para o anelamento; e 72°C por 1 minuto para a extensão. Por fim, foi programado para a extensão final uma etapa de 10 minutos a 72°C. Após a reação de PCR, a confirmação da presença ou ausência de traços transgênicos nas sementes e nos produtos industrializados derivados de soja foram realizadas em gel de agarose 1%, corado com GelRed™ em Tris Buffered Saline (TSB). Em seguida o gel foi submetido a campo elétrico de 100V por aproximadamente 30 minutos e posteriormente foto-documentado.

Neste trabalho foi realizado análise microbiológica com as mesmas amostras de alimentos industrializados derivados de soja utilizados nas análises moleculares, seguindo o protocolo

“Análises Microbiológicas do Laboratório de Biologia Celular e Molecular” do CENA, para a análise de Teste Presuntivo.

Para o preparo do meio de cultura com concentração maior, foi pesado 4,2g do meio Lauryl Tryptose Broth (LTB) e adicionados 120 mL de água Ultrapura, após este passo é distribuído em quatro tubos de ensaio contendo o tubo Durhan invertido, 10 mL do meio de cultura em cada tubo e o tubo foi tampado, o mesmo serve para o preparo do meio de cultura menor porem foram pesados 4,2g do meio Lauryl Tryptose Broth (LTB) e adicionados 240 mL de água Ultrapura e distribuídos para oito tubos de ensaio contendo o tubo Durhan invertido, em seguida foram levados para autoclavar por 121°C (1Kg/cm<sup>2</sup> de pressão) durante 15 minutos; Para o preparo da amostra, foi pesado 10g de cada amostra em frascos de shot e diluídos com 90 mL de água Ultrapura, em seguida homogeneizada e levado para a capela de fluxo com o bico de Bunsen ligado, junto com o material já autoclavado.

Utilizando uma serie de doze tubos contendo o Caldo LTB, nos primeiros quatro tubos (os que contêm Caldo LTB de concentração maior) inoculou-se com pipeta esterilizada, 10 mL da amostra em cada tubo (Diluição 1:1); nos oito tubos restantes (os que contêm Caldo LTB de concentração menor), foram inoculados nos quatro primeiros tubos 1 mL da amostra (Diluição 1:10); e nos quatro últimos tubos, inocular 0,1mL da amostra, em cada tubo (Diluição 1:100). Após serem feitas as análises os tubos foram incubados em uma estufa BOD a 37°C por 48 horas.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os DNAs extraídos das amostras foram submetidos a análises para identificar a quantidade e qualidade do DNA extraído (Tabela 1).

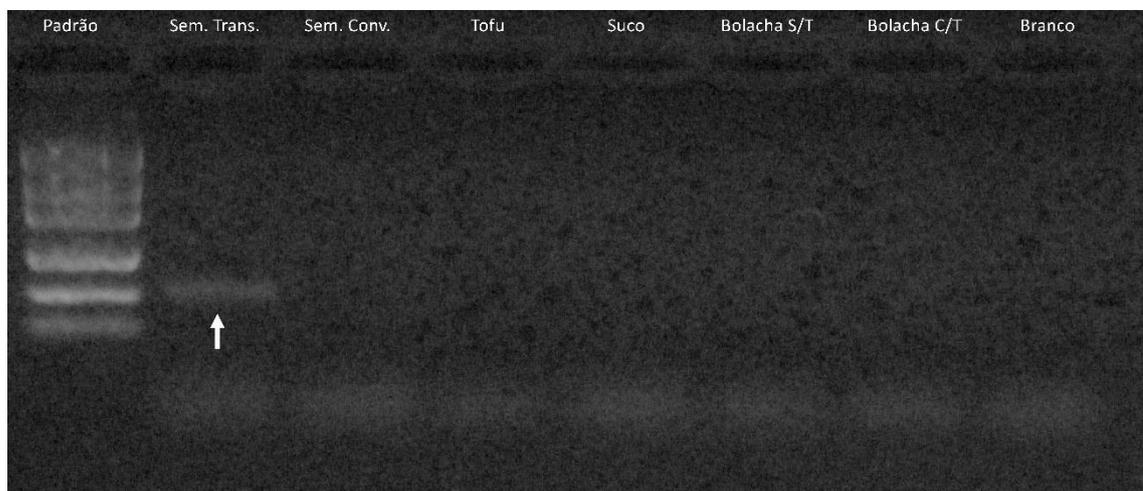
**Tabela 1 - resultados de quantidade e qualidade do DNA extraído da semente de soja e dos alimentos derivados de soja**

TIPOS DE AMOSTRAS	QUANTIDADE (mg/μl)	QUALIDADE (260nm/280nm)
Semente transgênica	83,0	1,66
Semente convencional	118,9	1,36
Tofu	5,8	8,54
Suco	42,6	4,64
Bolacha (S/T)	57,7	8,68
Bolacha (C/T)	59,7	7,81

As amostras apresentaram características distintas incluindo textura e umidade, conseqüentemente se comportaram diferentemente durante o processo de extração de DNA. O padrão 260/280 obtido foi abaixo do valor indicado que é entre 1,8 e 2,0 nm. Isso deve-se a possível presença de contaminantes e reagentes nas amostras (VENTURINI et al. 2019 submetido). Em relação à quantidade, foi possível obter uma boa quantidade de DNA, sendo que todas amostras testadas apresentaram concentração acima de 5,0ng/μL apesar de ter sido observada variação entre as amostras. O ácido nucléico necessita estar livre de impurezas (proteínas, lipídeos, outro ácido nucléico, reagentes de extração, etc.) apresentando uma concentração mínima de 5μg/mL, portanto quantidades menores não podem ser utilizadas (VIEIRA, 2008).

A análise de PCR foi realizada para as sete amostras, uma amostra de cada semente de soja convencional e transgênica; quatro alimentos industrializados derivados de soja; e o branco utilizado como controle negativo. Como resultado, obteve-se a confirmação da presença de traços transgênicos apenas na amostra da semente transgênica de soja, indicando que as amostras remanescentes não continham traços do gene transgênico, como pode ser visto na figura 1 abaixo:

**Figura 3 - resultado da PCR das semente transgênicos e convencional e dos alimentos derivados de soja**



A amostra de bolacha com indicação de presença de traços transgênicos na embalagem não apresentou a presença do promotor 35S. Sendo que o fator qualidade não foi um problema para a reação de PCR, pois o controle positivo que é a semente de soja transgênica amplificou normalmente (Figura 1). Isso pode estar relacionado a diversos fatores. É possível que tenha ocorrido a degradação completa do DNA da amostra devido ao processamento industrial a qual foi submetida ou pode estar de fato relacionado à ausência de material transgênico na amostra, embora partilhe de linha de produção na qual ingredientes provenientes de transgênicos sejam

usados, assim, sendo a indicação de transgênicos na embalagem apenas para se adequar à legislação no caso de possível presença de traços remanescentes da produção de outros produtos.

Para a análise microbiológica, foram utilizadas as amostras de alimentos industrializados derivados de soja, os mesmos que foram utilizados nas análises moleculares: o hambúrguer de tofu; suco a base de soja não transgênica; bolacha com base de traços de soja transgênica (C/T) e bolacha com base de traços de soja não transgênica (S/T). O protocolo foi seguido com sucesso, pois durante o processo de incubação de 48 horas não houve nenhuma alteração ou formação de gás, indicando que as amostras analisadas obtiveram o resultado negativo, sendo assim não foi necessário fazer as análises confirmativas (FMS, 2013). Esses resultados indicam que os alimentos estão adequados para o consumo (Tabela 2).

**Tabela 2 - resultados das análises microbiológicas (não houve alteração)**

ALIMENTOS	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>
HAMBÚRGUER DE TOFU	-	-	-
SUCO	-	-	-
BOLACHA S/T	-	-	-
BOLACHA C/T	-	-	-

## CONCLUSÃO

Foi possível identificar traços transgênicos apenas na semente de soja transgênica, que as amostras remanescentes não continham o gene transgênico. Além disso, amostras estão com qualidade aceitáveis para o consumo, indicando que as técnicas moleculares (extração de DNA e amplificação (PCR)) e microbiológica (deteção de coliformes), são precisas e convenientes para este tipo de análise.

## REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em:  
<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fbl23vmz02wx5eo0sawqe3vtldl7vi.html>. Acesso em 24/05/2019.
- ANÁLISES Microbiológicas do (Laboratório de Biologia Celular e Molecular) Resp. Prof. <sup>a</sup> Dra. Tsai Siu Mui, 2004.
- CUNHA, M. A. Métodos de deteção de microrganismos indicadores. *Saúde & Ambiente em Revista*, v. 1, n. 1, p. 09-13, 2006.
- CAMARGO, C. F. D.; SILVA, P. R. Q. D. *Aplicação das técnicas de PCR e suas técnicas derivadas em diagnóstico molecular*. Disponível em:  
<http://www.cpgls.pucgoias.edu.br/6mostra/artigos/SAUDE/CLEYTON%20FLORENCIO%2>

0DE%20CAMARGO%20E%20PAULO%20ROBERTO%20QUEIROZ.pdf. Acesso em: 14 mai. 2019.

CONAB. Séries históricas de produção de grãos. 2018. Disponível em: Acesso em: 20 mai. 2019.  
EDWARD, K.; JOHNSTONE, C.; THOMPSON, C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. *Nucleic Acids Research*, v. 19, n. 6, p.1349, 1991.

EMPRESA Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Transgenia: quebrando barreiras em prol da agropecuária brasileira. Disponível em: <https://www.embrapa.br/tema-transgenicos/sobre-o-tema>. Acesso em: 10/09/2018.

ESTEVEES, E. A.; MONTEIRO, J. B. R., 2001. Efeitos benéficos efeitos benéficos das isoflavonas de soja em doenças. *Rev. Nutr*, 14(1), p. 43-52.

FRANCESCATO, R. F.; SEBASTIÃO, P. C. A.; SANTOS, H. H. P. Frequência de patógenos emergentes relacionados com doenças transmitidas por alimentos em áreas selecionadas no estado de São Paulo-julho de 1998 a julho de 2000. *NET-DTA*, v. 2, n. 1, 2002.

FUNDAÇÃO Nacional de Saúde (FMS) *Manual Prático de Análise de Água 4. Edição*. Brasília, 2013.  
GAVIOLI, A. P. R. and NUNES, J. D. S. *A soja transgênica no Brasil e suas influências à saúde e ao meio ambiente*, 2015.

GÓES-FAVONI, S. P., BELÉIA, A. D. P., CARRÃO-PANIZZI, M.C. and MANDARINO, J. M. G., 2004. Isoflavonas em produtos comerciais de soja. *Ciênc. Tecnol. Aliment*, 24(4), p. 582-586.  
GUERREIRO, L., 2006. Dossiê técnico: produtos de soja. *Rio de Janeiro: Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro (REDETEC), Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas (SBRT)*.

HIRAKURI, M.H., out 2018. *Análise de aspectos econômicos sobre a qualidade de grãos de soja no Brasil*. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/187998/1/CIRCULAR-TECNICA-145.pdf>. Acesso em: 22 mai. 2019.

JUHÁSZ, A. C. P., PÁDUA, G. D., WRUCK, D. S. M., FAVORETO, L. and RIBEIRO, N. R., 2013. Desafios fitossanitários para a produção de soja. *Informe Agropecuário*, 34(276), p. 66-75.  
LAZZAROTTO, J. J. and HIRAKURI, M. H., 2010. Evolução e perspectivas de desempenho econômico associadas com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro. Londrina: *Embrapa Soja*, p. 46.

MATOS, E. C., ATUI, M. B., da SILVA, A. M., FERREIRA, A. R., NOGUEIRA, M. D., dos Santos Soares, J. and MARCIANO, M. A. M., 2015. Estudo da identidade histológica de subprodutos de soja (*Glycinemax* L.). *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 74(2), pp.104-110.

MOLINA, A. L.; TOBO, P. R. *Série Biologia Molecular Parte 2- Uso das Técnicas de biologia molecular para diagnóstico*. Hospital Israelita Albert Einstein. São Paulo-SP, 2004.  
ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). *Convenção sobre Diversidade Biológica*, 2008.

PATERNIANI, E. Agricultura sustentável nos trópicos. *Estudos Avançados*, São Paulo, v. 15, n. 43, p. 303-326, 2001.

PRIETO, M.; MOUWEN, J. M.; PUENTE, S. L.; SÁNCHEZ, A. C. Concepto de calidad en la industria Agroalimentaria. *Interciencia*, v. 33, n. 4, p. 258-264, 2008.

THIEMAN, W. J.; PALLADINO, M. A. *Introduction to biotechnology*. 4. ed. San Francisco: Pearson/Benjamin Cummings, 2004.

UNIVERSIDADE Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). *O grão da soja*. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/alimentus/objetos-de-aprendizagem/soja/o-grao-de-soja>. Acesso em 13 out. 2018.

VIEIRA D. P: São Paulo. Universidade de São Paulo. *Técnicas de PCR: aplicações e padronização de reações*, 30 de junho de 2008. Disponível em: <http://www.imt.usp.br/wp-content/uploads/proto/protocolos/aula1.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2019.

**1 PINTON, Murilo Gallani.** Possui graduação em Tecnologia de Alimentos pela Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Deputado Roque Trevisan (2019). Com estágio no Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Laboratório de Biologia Celular e Molecular (CENA/USP). Tem experiência nas áreas Biologia Molecular, BPL (Boas Práticas de Laboratório) e Administração. Atualmente, é Auxiliar da Garantia da Qualidade BPL com ênfase em Resíduos de Agrotóxicos da Campo Verde Pesquisas Agrônomicas Ltda.

**2 TSAI, Siu Mui.** Graduada e licenciada em Engenharia Agrônômica pela Universidade de São Paulo (1971), com mestrado (1974) em Ciências (Energia Nuclear na Agricultura) e doutorado (1978) em Agronomia (Solos e Nutrição de Plantas) pela USP, especialização em Microbiologia pela Division of Plant Industry, CSIRO-Canberra, Austrália (1975), pós-doutorado em ecologia microbiana e em estudos genéticos da fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro, na Universidade de California - Davis (1989-1992). Prof. Livre-Docente em Biotecnologia Vegetal (1997) e Prof. Titular em 2006 pela USP, desenvolve pesquisas no Laboratório de Biologia Celular e Molecular (CENA-USP). Atualmente, exerce a função de vice-diretora do CENA/USP e vice-prefeita do Campus USP "Luiz de Queiroz". Foi membro do Comitê Gestor do Fundo Setorial do Agronegócio como representante do setor acadêmico-científico do MCTI-DF e membro do CA-Agrárias. Recipiente da Medalha Mérito Científico e Tecnológico, do Prêmio Scopus 2008, do Prêmio Desafio 2050 no Agronegócio (FAO) e Medalha "Amiga da Marinha" em 2018. Eleita membro titular da Academia Brasileira de Ciências em maio de 2008 e da Academia Mundial de Ciências em novembro de 2018. Áreas de Estudo: Agronomia, com ênfase em Microbiologia e Ecologia Microbiana Molecular, atuando principalmente nos seguintes temas: interação planta-microrganismos, simbioses, marcadores moleculares, sequenciamento de genomas, genes de defesa em plantas, ecologia microbiana, desmatamento e conversão do uso da terra com foco nos ciclos biogeoquímicos. Estudos com feijoeiro se concentram na determinação da tolerância ao estresse hídrico em genótipos elites na associação com microssimbiontes.

**3 NASCIMENTO, Daniela Defavari do.** Possui graduação em Engenharia Agrônômica pela Universidade de São Paulo (1997), graduação em Licenciatura em Ciências Agrárias pela ESALQ/USP (1998), mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas pela ESALQ/USP (2000) e doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) pela ESALQ/USP (2005). Especialista (MBA) em Agronegócios pelo PECEGE/ESALQ/USP (2012). Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Bioquímica e Biologia Molecular, atuando principalmente nos seguintes temas: cultura de tecidos, micropropagação de plantas, clonagem gênica, transformação genética de plantas (Tabaco, Arabidopsis, Eucalipto e cana-de-açúcar), análises moleculares. Desde 2010 é professora concursada por prazo indeterminado para as disciplinas: Biotecnologia e Bioetanol do curso de Graduação em Biocombustíveis; e Biotecnologia e Bioquímica de Alimentos do curso de Graduação em Alimentos, todos da FATEC Piracicaba "Deputado Roque Trevisan".

# Determinação de metanol e etanol na produção de fermentado artesanal de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*)

PIRES, Juliana Angelo  
TEIXEIRA, Natália Navarro  
GOMES, Winston Pinheiro Claro

## Resumo

O consumo de bebidas alcoólicas vem aumentando ao longo dos anos, e assim, cada vez mais, o padrão de qualidade das mesmas necessita de mais rigor. As análises dos parâmetros físico-químicos são responsáveis pelo controle de qualidade e identidade, podendo revelar fraudes, adulterações ou utilização de matérias-primas de má qualidade que podem elevar metabólitos tóxicos oriundos do processo fermentativo. Desta forma, este trabalho objetivou avaliar a possibilidade da fermentação de dois processos distintos para produção de fermentado artesanal de jaboticaba, comparando e quantificando os teores de etanol e metanol em ambos os processos. As jaboticabas foram colhidas, transportadas e higienizadas com solução sanitizante. No Processo 1 (P1) foi realizado o esmagamento para a ruptura das bagas e produção do mosto. Este mosto foi tratado com metabissulfito de sódio e posteriormente foi adicionado leveduras comerciais da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Para o processo 2 (P2) as frutas foram mantidas em sua integridade e foi adicionado açúcar com pequena quantidade de água, metabissulfito e a mesma levedura de P1. A fermentação foi considerada encerrada após a estabilização do valor de sólidos solúveis, sendo para P1 24Brix iniciais e 5Brix finais e para P2 45Brix iniciais e 24Brix finais. Posteriormente, a parte sólida foi separada da bebida. Posteriormente o fermentado foi centrifugado e envasado em frascos âmbar. Para quantificação dos teores de etanol e metanol foi realizada análise em cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama e extração por *headspace* (*Headspace - Gas Chromatography - Flame Ionization Detector*). Os resultados obtidos para o teor alcoólico estão em consonância com o que estabelece a legislação vigente para fermentados de jaboticabas, entretanto P1 apresentou maior quantidade de etanol que P2. Quanto aos teores de metanol apresentaram abaixo do limite máximo de toxicidade nos dois processos, sendo que P2 apresentou menor valor relativo ao P1. Portanto, foi possível produzir um fermentado artesanal de jaboticaba com teores de etanol conforme exigido pela legislação e com teores de metanol dentro dos limites tolerados pelo organismo humano, comprovando que a quantidade de pectina na jaboticaba não é suficiente para ter um fermentado com alto teor de metanol.

**Palavras-chave:** Jaboticaba. Fermentado artesanal. Cromatografia gasosa.

## Abstract

The consumption of alcoholic beverages has been increasing over the years, and so the quality standard of them needs more rigor. Analyzes of physical-chemical parameters are responsible for quality and identity control, and may reveal fraud, adulteration or use of poor-quality raw materials that can elevate toxic metabolites from the fermentation process. This work aimed to evaluate the possibility of fermentation of two different processes for the production of artisanal fermented of jaboticaba, comparing and quantifying the levels of ethanol and methanol in both processes. The jaboticabas were harvested, transported and sanitized with a sanitizing solution. In Process 1 (P1), crushing was carried out to break the berries and produce the must. This must was treated with sodium metabisulfite and later commercial yeasts of the species *Saccharomyces cerevisiae* were added. For process 2 (P2) the fruits were kept in their integrity and sugar with a small amount of water, metabisulfite and the same yeast as P1 was added. The fermentation was considered finished after the stabilization of the soluble solids value, being for initial P1 24Brix and final 5Brix and for P2 45Brix initial and final 24Brix. Afterwards the solid part was separated from the drink. Subsequently, the fermented wine was centrifuged and filled in amber bottles. To quantify the ethanol and methanol levels, gas chromatography analysis with flame ionization detection and headspace extraction

(Headspace - Gas Chromatography - Flame Ionization Detector) was performed. The results obtained for the alcoholic content are in line with what is established in the current legislation for fermented of jaboticaba, however P1 presented a greater quantity of ethanol than P2. As for methanol content, presented below the maximum toxicity limit in both processes, and P2 presenting a lower value relative to P1. Therefore, it was possible to produce an artisanal fermented of jaboticaba with levels of ethanol as required by law and with levels of methanol within the limits tolerated by the human body, proving that the amount of pectin in the jaboticaba is not sufficient to have a fermentate with a high content of methanol.

**Keywords:** *Jaboticaba*. Handmade fermented. Gas chromatography.

### Resumen

El consumo de bebidas alcohólicas viene creciendo desde hace los años, y cada día más se necesitan estándares de calidad más estrictos. El análisis de dos parámetros físico-químicos son responsables del control de calidad e identidad, pueden revelar fraude, adulteración o el uso de materias primas de calidad inferior que pueden generar metabolitos tóxicos en el proceso de fermentación. Así, este trabajo tiene como objetivo validar la posibilidad de fermentación de dos procesos diferentes para la producción de fermentado de jaboticaba artesanal, comparando y cuantificando el contenido de etanol y metanol en ambos procesos. Las jaboticabas se recolectaron, transportaron y desinfectaron como solución desinfectante. En el proceso No. 1 (P1) se realizó aplastamiento para romper las bayas y producir el mosto. Este mosto se trató con metabisulfito de sodio y posteriormente se añadieron levaduras comerciales de la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Para el proceso 2 (P2) los frutos se mantuvieron completamente y se añadió azúcar con una pequeña cantidad de agua, metabisulfito y la misma levadura que P1. La fermentación se consideró finalizada después de la estabilización del valor de sólidos solubles, siendo para P1 24 Brix inicial y 5 Brix final y para P2 45 Brix inicial y 24 Brix final. Posteriormente, la parte sólida se separó de la bebida. Posteriormente el fermentado, se centrifugó y se almacenó en botellas de color ámbar. Para la cuantificación de dos niveles de etanol y metanol, se realizó un análisis por cromatografía de gases con detección de ionización de llama y extracción por headspace (*Headspace - Gas Chromatography - Flame Ionization Detector*). Los resultados obtenidos para el contenido de alcohol están de acuerdo con la legislación vigente para fermentado de jaboticaba artesanal, sin embargo, P1 tiene mayor cantidad de etanol que P2. Acerca del contenido del metanol se presentaron debajo del límite máximo de toxicidad en los dos procesos, teniendo P2 un valor menor en relación a P1. Por tanto, fue posible producir fermentado de jaboticaba artesanal con el contenido de etanol como exige la legislación y dentro de dos límites tolerados por el cuerpo humano, comprobando que la cantidad de pectina en la jaboticaba no es suficiente para ser fermentada con un alto contenido de metanol.

**Palabras clave:** *Jaboticaba*. Fermentado hecho a mano. Cromatografía de gases.

## INTRODUÇÃO

Segundo o relatório da *World Health Organization* (WHO), cerca de 2,3 bilhões de pessoas são consumidoras de bebidas alcólicas, sendo que no Brasil, cerca de 40% da população consumiu álcool nos últimos dois anos. Além disso, existe um progressivo aumento na demanda por alimentos identificados de "*comfort food*", que se trata de alimentos que possuem apelo emocional e nostálgico, e que sujeita aos alimentos que são elaborados de maneira artesanal. Logo, bebidas artesanais são amostras típicas dessa classe de alimentos (WANSINK, CHENEY & CHAN, 2003; WHO, 2018).

Entre as bebidas alcoólicas mais consumidas estão as fermentadas, que no Brasil representa cerca de 65% do consumo de álcool *per capita*, podendo ser destacados os fermentados de frutas. No Brasil a definição para fermentado de fruta é: “fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica de 4 a 14% (v/v), a 20°C, obtida pela fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura de uma única espécie, do respectivo suco integral ou concentrado, ou polpa, que poderá nestes casos, ser adicionado de água”, obedecendo assim a legislação vigente (BRASIL, 2009; WHO, 2018; BRASIL, 2019).

Além de estabelecer mínimo e máximo de graduação alcoólica do fermentado de jabuticaba, a Norma operacional nº 1, de 24 de janeiro de 2019 estabelece os valor mínimo de 30 mEq L<sup>-1</sup> para acidez fixa, valor máximo de 20 mEq L<sup>-1</sup> para acidez volátil e para acidez total mínimo e máximo de 50 e 130 mEq L<sup>-1</sup> respectivamente, além de estabelecer valor máximo de anidro sulfuroso de 0,35 g L<sup>-1</sup>, chaptalização com açúcar da fruta tendo valor máximo de 50% e também valor máximo para cloretos totais de 0,5 g L<sup>-1</sup>, já para extrato seco reduzido o valor mínimo e de 7 g L<sup>-1</sup> e ausência de edulcorantes. Caso o fermentado seja gaseificado o valor mínimo e máximo para Pressão atmosférica a 20° C é de 2 e 3 respectivamente. E se o fermentado for seco a quantidade de açúcar deve ter valor máximo de ≤ 3 g L<sup>-1</sup> e se for doce ou suave o valor mínimo e de > 3 g L<sup>-1</sup> de açúcar (BRASIL, 2019).

A jabuticaba é uma fruta tropical, tipicamente brasileira, sendo originária da região centro-sul. Popularmente apreciada por suas características sensoriais *in natura*, e pela utilização em produtos processados como geleias, licores e bebidas fermentadas. Como a jabuticaba é uma fruta com características físico-químicas parecidas com as uvas, possui bioativos, como taninos, compostos fenólicos e antocianinas presentes em suas cascas, porém em maior quantidade, e presença de açúcares fermentescíveis, sendo passível de fermentação e de produção de um bom fermentado (CORAZZA; RODRIGUES & NOZAZI, 2001; GUEDES, 2009; SASSO; CITADIN & DANNER, 2010; FORTES, 2012; MACHADO *et al.*, 2013).

No entanto, as jabuticabas possuem teores consideráveis de pectinas, que são utilizadas durante o crescimento e desenvolvimento da fruta ou quando ocorre danos mecânicos na parede celular da fruta, desta forma promovendo a desmetilesterificação da pectina pelas enzimas pectinametilesterase (PME) e promovendo a formação do metanol (ASCHARI *et al.*, 2006; DOROKHOV *et al.*, 2015).

Avaliar o teor de metanol, que é um composto volátil tóxico, é de supra importância já que é uma substância neurotóxica para o ser humano, agindo no sistema nervoso, causa acidose metabólica, cegueira, instabilidade cardiovascular ou até mesmo morte. A ingestão acima de 25 mL pode causar cegueira e até ser fatal ao ser humano (PEREIRA & ANDRADE, 1998; PAINE & DAVAN, 2001; SEQUEIRA, 2018)

Este trabalho teve como objetivo produzir fermentado seco de jabuticaba artesanal de duas maneiras distintas, verificar e comparar o teor alcoólico, além disso determinar o teor de metanol, devido a pectina presente nas jabuticabas, utilizando-se da análise por cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama e extração por *headspace* (*Headspace - Gas Chromatography - Flame Ionization Detector*).

## **1 MATERIAIS E MÉTODOS**

Os experimentos foram realizados no laboratório de Alimentos e de Cromatografia, da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba “Deputado Roque Trevisan”, na cidade de Piracicaba/SP.

Para a produção do fermentado de jabuticaba, foram colhidos os frutos (*Myrciaria jabuticaba* (Vell) Berg, jabuticaba sabará) em jabuticabeira da cidade de Piracicaba, ao final do mês de outubro, e foram armazenadas em recipiente plástico para serem transportadas até o laboratório.

Realizou-se a seleção dos melhores frutos, excluindo os mais verdes e os que estavam em estado de senescência. Posteriormente os frutos foram devidamente higienizados em solução sanitizante de Ácido Peracético PAC 200, sendo utilizada uma solução à 0,5%.

Foram realizados dois procedimentos distintos para a fabricação do vinho, sendo amostra P1, no qual as jabuticabas foram esmagadas para o rompimento das cascas que foi realizado manualmente, e amostra P2 onde as frutas não sofreram ruptura da casca, sendo colocadas inteira no fermentador. Em ambos os casos as jabuticabas foram devidamente higienizadas com sanitizante Ácido Peracético PAC 200 sendo preparada uma solução à 1%.

Para obtenção dos fermentados, foram utilizadas 10 kg de jabuticabas em cada fermentador. No Processo 1 (P1) foram adicionados 0,4 g de metabissulfato de sódio para

aproximadamente 5 L de mosto, para controle bacteriano, e 83 g de leveduras espécie *Saccharomyces cerevisiae* do tipo *Fleischmann*, adquiridas em estabelecimento local. Posteriormente foi feita a correção da quantidade de sólidos solúveis com adição de sacarose até atingir 20 °Brix (FORTES, 2012).

Para o Processo 2 (P2) foi realizada uma adaptação do método de Fortes (2012), sendo assim, foi adicionado 1 L de água com 0,1 g de metabissulfito dissolvido e 166 g da mesma levedura utilizada -no processo P1, e 1 kg de açúcar para que o líquido da jabuticaba fosse transportado por osmose para o meio extremamente açucarado, tendo 49 °Brix.

As cascas das jabuticabas permaneceram em contato com o mosto durante toda a fermentação alcoólica, que durou aproximadamente sete dias (FORTES, 2012).

A remontagem, ou seja, mergulhar a parte sólida que sobe à superfície, foi feita 1 vez ao dia, para evitar avinagrar no P1, e no P2 foi realizada apenas uma movimentação dos frutos trazendo os de baixo para cima (GUERRA *et al.*, 2009).

A descuba foi feita de acordo com a metodologia de Guerra *et al.* (2009), separando cascas e bagaços (parte sólida) do líquido, ao abrir o dispositivo de saída existente no recipiente fermentativo. As amostras, ainda turvas devido a quantidade de fermento existente, foram centrifugadas em centrífuga de bancada do tipo refrigerada.

Após a centrifugação, os vinhos foram envasados em garrafas de vidro de 100 mL de cor âmbar, devidamente esterilizadas.

Para a determinação metanol e etanol utilizou-se como base a metodologia de Lutz (2008), Brasil (2012) e Gomes, Yoshinaga e Bortoleto (2020), com um cromatógrafo gasoso da marca *PerkinElmer*, modelo Clarus 600, e detector de ionização de chama (*Flame Ionization Detector* - FID). Utilizou-se uma coluna capilar *PerkinElmer* modelo Elite-WAX com dimensões de 30 m x 0,25 mm x 0,5 µm. O gás de arraste empregado foi nitrogênio à uma vazão de  $1,20 \text{ mL min}^{-1}$ , do hidrogênio foi  $45 \text{ mL min}^{-1}$  e do ar sintético foi  $450 \text{ mL min}^{-1}$ , todos com alto grau de pureza (99,999%). O volume de injeção da amostra foi de 500 µL a uma velocidade de  $250 \text{ µL s}^{-1}$ , empregando-se o “*split*” de 18:1. A temperatura inicial do forno foi de 45°C, seguida por uma rampa de aquecimento de taxa de  $9^\circ\text{C min}^{-1}$ , até 153°C, permanecendo nesta temperatura por 1,5 min. O tempo total de corrida foi de 15 min. O injetor foi operado à 150°C e o detector a 300°C. As amostras foram incubadas no forno do amostrador para utilização da extração por *Headspace*, a 80°C por 5 min com agitação de 500 rpm, no amostrador automático da marca *Combipal*, modelo *CTC Analytics, Pal System*, com forno para *Headspace*, equipado no cromatógrafo.

Para os padrões foram utilizados etanol e metanol (LiChrosolv® Merck). As soluções padrões de metanol foram preparadas com concentrações entre 15 a 800,0 mg L<sup>-1</sup>, apresentando a seguinte equação  $y = 15,66 + 3,0563x$ , com coeficiente de determinação  $R^2 = 0,9966$ . As soluções padrões de etanol foram preparadas com as concentrações entre 1 a 15 % (v/v), resultando na equação  $y = -2.921,5 + 17.497x$  com coeficiente de determinação  $R^2 = 0,9992$ .

## 2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas análises por cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama e extração por *headspace* (*Headspace - Gas Chromatography - Flame Ionization Detector*), no fermentado artesanal de jabuticaba estão expostos na Tabela 1. Em relação ao teor alcoólico, ambos os fermentados de jabuticabas apresentaram valores dentro dos limites estabelecidos pela Norma Operacional nº 1, de 24 de janeiro de 2019 (BRASIL, 2019). Demonstrando que neste quesito ambos os processos permitem obter um produto com teor alcoólico adequado. Além disso, ambos os processos apresentaram pH variando entre 3,0 e 4,0, o que segundo Hashizume (2008) é ideal, já que nesta faixa de pH a chances de contaminações bacterianas são menores.

**Tabela 1 - Valores encontrados para os parâmetros de sólidos solúveis, pH, teor de metanol e teor de etanol na amostra P1 e amostra P2 dos fermentados de jabuticaba**

Amostras	°Brix inicial	°Brix final	pH inicial	pH final	Teor de metanol (mg 100 mL <sup>-1</sup> )	Teor de etanol (% (v/v))
<b>P1</b>	20	5	3,37	3,36	4,96 ± 0,04	10,58 ± 0,19
<b>P2</b>	45	24	3,37	3,03	3,91 ± 0,01	8,80 ± 0,12

Fonte: Autores.

No entanto P1 apresentou maior teor de etanol que P2, essa diferença se deve a concentração do substrato, pois conforme mostrado na Tabela 1, o P2 possui uma quantidade maior de açúcar, para que ocorresse o efeito osmótico, deixando o meio externo mais concentrado que o meio interno da fruta. Contudo no caminho metabólico das leveduras há o que se chama de região de saturação, ao ser extrapolada o substrato passa a ter efeito inibitório, causando desativação de enzimas essenciais a fermentação, ou seja, a rota metabólica do microrganismo é alterada e a produção de etanol diminui (THATIPAMALA, ROHAI & HILL, 1992).

Aguirre (2006) elaborou dois fermentados de jabuticaba que apresentaram o teor alcoólico de 12 e 12,5% (v/v), Pires (2018) elaborou um fermentado que apresentou o teor alcoólico de 11% (v/v), assim o presente trabalho apresenta valor semelhante para P1, somente P2 apresentou valor inferior.

Como parâmetro analítico para o teor de metanol foi utilizado o que Norma Operacional nº 1, de 24 de janeiro de 2019, estabelece para vinho de mesa, pois a legislação não estabelece um parâmetro analítico para metanol em fermentado de jabuticaba, e as frutas (uva e jabuticaba) possuem características similares e o preparo das duas bebidas é o mesmo (BRASIL, 2019). Desta forma estabeleceu como nível aceitável para o fermentado de jabuticaba, o valor máximo de  $400 \text{ mg L}^{-1}$  de metanol presente na bebida. Assim podendo averiguar que os valores encontrados estão abaixo dos limites máximos apresentados pela legislação.

Colaborando com o trabalho de Souza (2015) que elaborou um fermentado de jabuticaba que apresentou um teor de metanol de 1,27 mg por 100 mL de bebida e Campolina (2018) que elaborou alguns fermentados de jabuticaba que tiveram teores variando de 49,0 a 113,7 mg por 100 mL de bebida. A variação apresentada nos trabalhos, pode ser devido à quantidade de pectina presente na matriz, que apresenta 611,09 mg 100 g<sup>-1</sup> de pectina, que pode variar de acordo com a espécie, grau de maturação, processo de produção e outros fatores, já que o metanol produzido na bebida é oriundo da desmetilesterificação da pectina e não das leveduras durante o processo fermentativo. Segundo Miranda (2019) 30% da parede celular jabuticaba é composta de pectina. O maior teor de metanol da amostra P1 em relação a amostra P2 é justificado devido ao fato que neste processo ocorre o esmagamento da jabuticaba, para que haja o rompimento da casca, esse dano mecânico na parede celular promove desmetilesterificação da pectina pelas enzimas pectinametilesterase (PME), resultando na produção de metanol (PEINADO *et al.*, 2004; CABAROGLU, 2005; DOROKHOV *et al.*, 2015; SOUZA, 2015; BOESSO, 2017; CAMPOLINA, 2018).

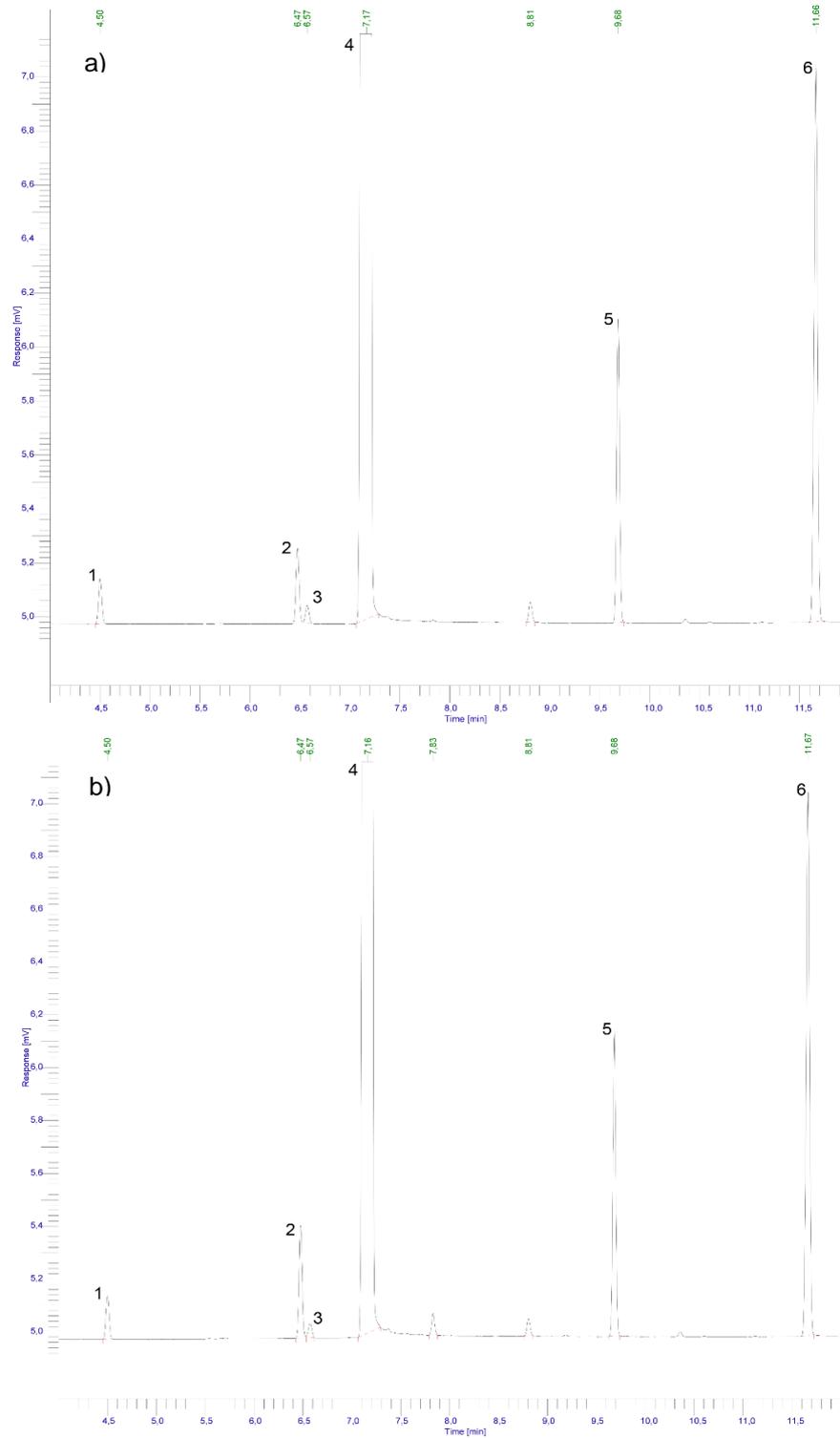
A importância da quantificação de metanol na fermentação alcoólica ocorre pois a pectina presente nas frutas, é uma substância da família dos oligo e polissacarídeos, e possui como estrutura um homolímero 1→4 ácido galacturônico, com graus variáveis de grupos carboxilas metil esterificados, que quando fermentadas, sofrem desmetoxilação por ação da enzima pectinesterase, formando o metanol (VORAGEN *et al.*, 1995; PEREIRA *et al.*, 2003; WILLATS, KNOX & MIKKELSEN, 2006; UENOJO & PASTORE, 2007; VORAGEN *et al.*, 2009).

Metanol é um composto tóxico a ingestão acima de 25 mL pode causar cegueira e até ser fatal ao ser humano. A metabolização do metanol pelo organismo é lenta, desta forma seu efeito é

considerado acumulativo e os produtos gerados da sua metabolização, como formaldeído e ácido fórmico, também são tóxicos. Este álcool tem aparecido em várias situações de intoxicação associados ao consumo de bebidas alcólicas adulteradas, assim apresentando teores elevados de metanol, essa adulteração acontece devido o metanol ser mais barato que o etanol (PEREIRA & ANDRADE, 1998; PAINE & DAVAN, 2001; SEQUEIRA, 2018).

Na análise qualitativa, identificou-se a presença das seguintes espécies químicas: acetaldeído, acetato de etila, metanol, etanol, isobutanol e isoamílico, com os respectivos tempos de retenção: 4,50; 6,47; 6,57; 7,16; 9,68 e 11,67 minutos. Conforme pode-se observar nos cromatogramas apresentados na Figura 1.

Figura 1 – Cromatogramas do fermentados de jabuticabas. a) Amostra P1; b) Amostra P2. Espécies químicas: 1) Acetaldeído, 2) Acetato de Etila, 3) Metanol, 4) Etanol, 5) Isobutanol e 6) iso-Amílico



Fonte: Autores.

Pelos cromatogramas pode-se observar que o perfil de componentes voláteis em ambas as amostras são similares, demonstrando que independente do processo não ocorre a presença de espécies químicas diferentes, porém deve ser realizado maiores estudos para quantificar esses componentes, pois como mencionado por Soares (2001) vários tipos de erros, como erros sistemáticos, erros aleatórios e erros devido a matriz usada para o preparo do padrão ser diferente da matriz da amostra, podem aparecer durante a elaboração da curva analítica. E esse estudo é de grande importância para associar a quantidade das espécies químicas com a qualidade da bebida e o processo de produção, já que esses compostos estão associados a qualidade do *bouquet* de bebidas fermentadas, onde em baixas concentrações, aproximadamente  $0,3 \text{ g L}^{-1}$  ou valor inferior, estão relacionados com a complexidade do *bouquet* da bebida fermentada e concentrações superiores, acima de  $0,3 \text{ g L}^{-1}$ , irão camuflar o *bouquet* da bebida fermentada (JACKSON, 2020).

## CONCLUSÃO

Através deste trabalho foi possível comprovar a produção de fermentado artesanal de jabuticaba, com teor alcoólico exigido pelo padrão de qualidade e identidade estabelecido pela legislação vigente, com teor de metanol em nível baixo que não afeta a saúde do ser humano, podendo ser consumido sem o risco de intoxicação por este componente.

Também se comprovou que a quantidade de pectina na jabuticaba não é suficiente para ter um fermentado artesanal de jabuticaba com alto teor de metanol e que a quantidade de substrato fermentescível interferiu na produção de etanol durante a fermentação, demonstrando que em quantidades superiores de substrato fermentescível a região de saturação será atingida e a produção de etanol será menor.

Entretanto são necessários estudos futuros dos outros padrões físico-químicos exigidos pela atual legislação brasileira, além da quantificação dos componentes voláteis para verificação da influência na qualidade final do fermentado artesanal de jabuticaba.

## AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Tecnologia de Piracicaba "Deputado Roque Trevisan", Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza.

## REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, L. H. L. *Desarrollo de um vino de jaboticaba (Myrciaria cauliflora) em la Escuela Agrícola Panamericana*. 2006. 41 f. Projeto especial (Título de Engenheiro em agroindústria) - *Zamorano Carrera de Agroindustria*, Honduras, 2006.
- ASCHARI, D. P. R. *et al.* Obtenção de farinhas mistas pré-gelatinizadas a partir de arroz e bagaço de jaboticaba: efeito das variáveis de extrusão nas propriedades de pasta. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 1, 2006.
- BOESSO, F. F. *Protocolo de produção, aceitabilidade e qualidade nutricional de geleia convencional e light de jaboticaba*. 2017. Tese (Doutorado), Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP - Campus de Botucatu, Botucatu, São Paulo.
- BRASIL. *Portaria nº 229*, de 25 de outubro de 1988. Ministro de Estado da Agricultura. Disponível em: [http://www2.agricultura.rs.gov.br/uploads/126989498929.03\\_enol\\_p\\_229\\_88\\_mapa.doc+&ccd=3&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br](http://www2.agricultura.rs.gov.br/uploads/126989498929.03_enol_p_229_88_mapa.doc+&ccd=3&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br). Acesso em: 20 mai. 2020.
- BRASIL. *Decreto nº 6.871 de 2009*, Ministério de Estado da Agricultura.net. São Paulo. Disponível em <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=247520>. Acesso em: 15 jun. 2020.
- BRASIL. *Instrução Normativa 34 de 29 de outubro de 2012*. Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento. Net. São Paulo. Disponível em <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=247520>. Acesso em: 15 jun. 2020.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA). *Norma operacional nº 1, de 24 de janeiro de 2019*. Norma interna DIPOV/SDA nº 01, de 24 de janeiro de 2019. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, ISSN 1111-1111, Ano 3, n. 1.22, 30 jan. 2019.
- CABAROGLU, T. Methanol contents of Turkish varietal wines and effect of processing. *Food Control, Guildford*, v. 16, n. 2, p. 177-181, 2005.
- CAMPOLINA, G. A. *Elaboração de fermentados alcoólicos de jaboticaba conduzidos com leveduras livres e imobilizadas*. 2018. 117 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.
- CORAZZA, M. L.; RODRIGUES, D. G.; NOZAKI, J. Preparação e Caracterização do vinho de laranja. *Quim. Nova*, v.24, n. 4., p. 449-452, 2001.
- DOROKHOV, Y. L. *et al.* Metabolic Methanol: Molecular Pathways and Physiological Roles. *Physiological reviews*, 95, p. 603–644. 2015.
- FORTES, G. A. C. *Análise multiparimétrica da qualidade dos frutos, mostos e vinhos de jaboticaba*. 2012, fl. 62. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

GOMES, W. P. C.; YOSHINAGA, F.; BORTOLETO, G. G. Determinação de Álcoois em Bebidas Comerciais por Cromatografia Gasosa e Amostragem por *Headspace*. *Bioenergia em Revista: Diálogos*, v. 10, n. 1, p. 111-124, 2020. Disponível em:

<http://www.fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/view/371/373782>. Acesso em 09.08.20.

GUEDES, M. N. S. *Diversidade de acessos de jaboticabeira sabará em diamantina por meio de caracterização biométrica e físico-química dos frutos e fisiológica das sementes*. 2009. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Jequitinhonha, Diamantina, 2009.

GUERRA, C. C. *et al.* *Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos*. Documento n. 48, Bento Gonçalves, jun. 2009.

HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E. *et al.* (coordenadores), *Biotecnologia Industrial*. Biotecnologia na produção de alimentos, São Paulo: Blücher, v. 4, p. 21-68, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: *Instituto Adolfo Lutz*, p. 1020, ed. 4. 2008.

JACKSON, R. S. *Wine Science: Principles and Applications*. *Academic Press*, 5. ed., 2020.

MIRANDA, Bruna Melo. *Extração de bioativos da casca de jaboticaba: pectina e antocianinas*. Goiânia, 2019. Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, como exigência para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fl 100.

PAINE A.; DAVAN A. D. Defining a tolerable concentration of methanol in alcoholic drinks. *Human & Experimental Toxicology*, v. 20, n. 11, p. 563-568, 2001.

PEINADO, R. A. *et al.* Gas chromatographic quantification of major volatile compounds and polyols in wine by direct injection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 52, n. 21, p. 6389-6393, 2004.

PEREIRA, P. A. de P.; ANDRADE, J. B. de. Fontes, Reatividade e Quantificação de Metanol e Etanol na Atmosfera. *Química Nova*, v. 21, n. 6, São Paulo, nov./dez. 1998.

PEREIRA, N. E. *et al.* Compostos secundários em cachaças produzidas no estado de Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 27, n. 5, out. 2003.

PIRES, J. A. *Efeito da radiação gama (<sup>60</sup>Co) em fermentado de jaboticaba, tipo vinho tinto*. 2018. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

SASSO, S. A. Z.; CITADIN, I.; DANNER, M. A. Propagação de Jaboticabeira por estaquia. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 2, p. 577-583, jun. 2010.

SEQUEIRA, A. S. da S. *Desenvolvimento de uma membrana de fibras para conversão enzimática de CO<sub>2</sub>*. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, f. 85, 2018.

SOARES, L. M. V. Como obter resultados confiáveis em cromatografia. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 60, n. 1, p. 79-84, 2001.

SOUZA, A. C. de. *Utilização de cagaíta, jabuticaba e pitaya na elaboração de fermentado alcoólico e vinagre*. 2015. 139 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras: UFLA, 2015.

THATIPAMALA, R.; ROHAI, S.; HILL, G. A. Effects of high product and substrate inhibition on the kinetics in biomass and products yields during ethanol batch fermentation. *Biotechnol. Bioeng.*, v. 40, n. 2, p. 289-297, 1992.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 388-394, 2007.

VORAGEN, A. G. J. *et al.* Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Struct Chem*, v. 20, p. 263-275, 2009.

VORAGEN, A. G. J. *et al.* Pectins. In: STEPHEN A. M. (ed). *Food polysaccharides and their applications*. Marcel Dekker, New York, p. 287–339, 1995.

WANSINK, B.; CHENEY, M. M.; CHAN, N. Exploring comfort food preferences across age and gender. *Elsevier: Physiology & Behavior*, 79(4-5), p. 739–747. 2003.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, v. 17, p. 97-104, 2006.

World Health Organization (WHO). Global status report on alcohol and health 2018. Geneva: *World Health Organization*, 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

**1 PIRES, Juliana Angelo** é Doutoranda do Programa de Ciências e Tecnologia de Alimentos, pela Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" ESALQ/USP. Possui Mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear Aplicada (2018), com foco no efeito da radiação gama (Co60) em bebidas alcoólicas, pelo Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares (IPEN/USP). Possui graduação em Tecnologia de Biocombustíveis (2011) e em Tecnologia em Agroindústria (2015) e Tecnologia em Alimentos (2018) todas pela Faculdade de Tecnologia Dep. Roque Trevisan - FATEC em Piracicaba. Tendo experiência na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, com ênfase em tecnologia das bebidas fermentadas e destiladas, estudando métodos de envelhecimento.

**2 TEIXEIRA, Natalia Navarro** é Mestranda do programa de Ciências, na área Química na Agricultura e no Ambiente, no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP). Graduanda no curso de Ciências do Alimentos pela Escola Superior de Agronomia "Luiz de Queiroz" ESALQ/USP. Atualmente é estagiária do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE) em Química Analítica Quantitativa na Escola Superior de Agronomia "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP). Graduada em Design pela Faculdade de Administração e Arte de Limeira (2014).

**3 GOMES, Winston Pinheiro Claro** é Mestrando do programa de Ciências (Energia Nuclear na Agricultura), na área Química na Agricultura e no Ambiente, no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), graduando em Tecnologia em Alimentos na Faculdade de Tecnologia de Piracicaba - Centro Paula Souza, onde é estagiário no Laboratório de Cromatografia e Biotecnologia desenvolvendo a Iniciação Científica de "Análise de álcoois superiores em cervejas artesanais por Cromatografia Gasosa empregando Headspace". Graduado em Tecnologia Têxtil pela Faculdade de Tecnologia de Americana - Centro Paula Souza, em dezembro de 2010, onde foi bolsista pelo "Programa de Iniciação Científica e Tecnológica para Micro e Pequenas Empresas - BITEC".

# Análise da indústria da moda e a importância da sustentabilidade e da circularidade para o setor

SANTOS, Caroline Conceição dos  
SIGRIST, Vanina Carrara

## Resumo

O conceito de moda circular tem sido mais discutido nos últimos anos devido à crescente relevância do tema da sustentabilidade perante impactos socioambientais negativos causados pela indústria de consumo linear. O objetivo desta pesquisa é aprofundar a discussão a respeito da economia circular no setor têxtil, levantando questionamentos sobre os impactos do modelo ainda vigente de produção e consumo, e possíveis soluções para as problemáticas encontradas. A natureza da pesquisa é aplicada e explicativa, com abordagem qualitativa e pesquisa de campo com aplicação de questionário estruturado. Os resultados indicam que a indústria da moda é uma das que mais geram renda e emprego no mundo e, em contrapartida, uma das que mais acarretam efeitos nocivos em toda a sua extensão, sendo que sua transformação para a lógica circular traria muitos benefícios. Complementarmente, os dados da pesquisa de opinião revelam que os consumidores procuram comprar vestuário apenas quando necessário e se atraem pelas ofertas, mas admitem não usar tudo o que compram e ainda conhecer pouco dos valores da moda circular.

**Palavras-chave:** moda circular; sustentabilidade; indústria.

## Abstract

The concept of circular fashion has been more discussed in recent years due to the growing relevance of the theme of sustainability in the face of negative socio-environmental impacts caused by the linear consumer industry. The objective of this research is to deepen the discussion about the circular economy in the textile sector, raising questions about the impacts of the current model of production and consumption, and possible solutions to the problems encountered. The nature of the research is applied and explanatory, with a qualitative approach and field research with the application of a structured questionnaire. The results indicate that the fashion industry is one of the ones that generate more income and jobs in the world and, on the other hand, one of the ones that cause more harmful effects in all its extension, being that its transformation to circular logic would bring many benefits. In addition, data from the opinion poll reveal that consumers seek to buy clothing only when necessary and are attracted by offers, but admit not to use everything they buy and still know little about the values of circular fashion.

**Keywords:** circular fashion; sustainability; industry.

## Resumen

El concepto de moda circular ha sido más discutido en los últimos años debido a la creciente relevancia del tema de la sostenibilidad frente a los impactos socioambientales negativos causados por la industria de consumo lineal. El objetivo de esta investigación es profundizar la discusión sobre la economía circular en el sector textil, planteando preguntas sobre los impactos del modelo actual de producción y consumo, y las posibles soluciones a los problemas encontrados. La naturaleza de la investigación es aplicada y explicativa, con un enfoque cualitativo e investigación de campo con la aplicación de un cuestionario estructurado. Los resultados indican que la industria de la moda es una de las que genera más ingresos y empleos en el mundo y, por otro lado, una de las que causa más efectos nocivos en toda su extensión, ya que su transformación a la lógica circular traería muchos beneficios. Además, los datos de la encuesta de opinión revelan que los consumidores buscan comprar ropa solo cuando es necesario y se sienten atraídos por las ofertas, pero admitten no usar todo lo que compran y aún saben poco sobre los valores de la moda circular.

**Palabras clave:** moda circular; sostenibilidad; industria.

## INTRODUÇÃO

Embora seja uma das que mais geram renda e emprego no mundo e propague uma imagem muitas vezes positiva, a indústria da moda provoca, em toda sua extensão, impactos nocivos profundos e difusos, que vão desde a extração predatória de vários tipos de matérias-primas até o descarte impróprio, compreendendo também condições de trabalho análogas às da escravidão, consumo descartável e volumosas quantidades de lixo têxtil e de embalagens.

Esse modelo econômico linear de produção-consumo-descarte está chegando ao seu limite, e tem sido repensado por pesquisadores e autoridades preocupados com a sustentabilidade das práticas produtivas e logísticas. Segundo o aviso de diversos órgãos internacionais, como, por exemplo, o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA, 2019), a demanda por bens de consumo pressiona as reservas de recursos naturais. Seria impossível promover o mesmo modelo de vida dos países desenvolvidos para o resto da população mundial com os recursos naturais ainda disponíveis no planeta. Dessa forma, é preciso pensar em formas inovadoras e sustentáveis de produção, consumo e abordagem econômica.

Portanto, a moda circular torna-se uma alternativa de resposta frente às mazelas acarretadas pela indústria tradicional da moda, já que, segundo Anna Brismar (2017), dona da empresa de consultoria sueca *Green Strategy*, a moda circular tem como proposta uma mudança em como os produtos devem ser projetados, preocupando-se com a longevidade, a eficiência de recursos locais, biodegradabilidade, não toxicidade, reciclabilidade e ética, além de pensar em formas diferentes de consumo, como compartilhamento, aluguel, troca e empréstimos, e, posteriormente, em como os produtos devem ser redesenhados para dar ao insumo e aos componentes uma nova vida.

Segundo a Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção (ABIT, 2018), o Brasil detém a maior cadeia têxtil completa do ocidente: desde a produção de fibras, como plantação de algodão, até as semanas de desfile de moda internacional, passando ainda por fiações, tecelagens, beneficiadoras, confecções e um forte varejo. Desse modo, o Brasil precisa estar alinhado a esse novo panorama que surge para o setor; a gestão da sustentabilidade e de uma possível transição para um sistema circular de produção e consumo deve ganhar mais espaço na agenda de estratégias das empresas brasileiras. Logo, torna-se mais necessário ainda um profissional na área de gestão capacitado e atualizado nessa matéria.

Nesse panorama, esta pesquisa tem por objetivo fomentar discussão sobre um tema já difundido em mercados internacionais, mas ainda pouco explorado no país, propondo questionamentos e possíveis tratativas para as problemáticas acerca da moda circular apontadas durante o estudo.

A natureza da pesquisa é aplicada e explicativa, com revisão bibliográfica dos principais conceitos da área, acompanhada de pesquisa de campo qualitativa, com aplicação de questionário estruturado a 600 participantes, de uma amostra aleatória, dos quais foram obtidas 125 respostas válidas.

## **REVISÃO DE LITERATURA**

### **Breve história da moda**

A palavra moda vem do latim *modus* e significa modo, maneira ou comportamento. Moda é a tendência de consumo. É composta por diversos estilos que são influenciados pelo tempo, dentro de um contexto político e sociológico. Segundo o estilista e historiador João Braga (2004, apud SAFATLE, 2017, s/p), “A moda sempre nega o que está em vigência para apresentar algo novo. É um bem, por natureza, perecível”. Sua observação ajuda a antepor moda e sustentabilidade, já que a primeira se alimentaria da brevidade e da impermanência face a necessidade da vanguarda.

A sociedade de consumo ajudou a acelerar tais características, mas essa problemática nasce desde que o vestuário, além de proteger o corpo do sol e do frio, passa a designar certo *status* social, certa diferenciação de poder, passando a ser copiado por quem almejava a ascensão aos altos níveis da sociedade. Assim, os “lançamentos da moda” passaram a ser frequentes.

Na época das Cruzadas, o Ocidente ficou deslumbrado com aquilo com que se deparou pela primeira vez no Oriente, tecidos sofisticados, perfumes líquidos, tapeçarias enfeitando paredes e chão. Os cruzados que conseguiram sobreviver às guerras regressaram para casa trazendo novidades para a nobreza ocidental, interessada pelos artefatos (SAFATLE, 2017). Nasce, então, o mercantilismo, com os primeiros rumores do sistema capitalista. Nasce a burguesia formada por comerciantes que se enriqueceram tirando proveito dessas transações nos burgos ao redor dos feudos.

Apesar de a palavra moda começar a ser usada na França de Maria Antonieta (SAFATLE, 2017), a primeira grande referência da moda francesa foi o rei Sol, Luís XIV, no século XVII, por ter ficado conhecido por sua vaidade excessiva, concedendo conseqüentemente à França o título de centro ditador da moda (de início estabelecida pela nobreza com os alfaiates apenas seguindo as orientações dos seus desejos). Mas, com o declínio do sistema medieval e, com ele, das leis suntuárias que impunham a forma como cada classe social deveria se vestir, a burguesia que tinha dinheiro (sem ter “sangue azul”) buscava ser respeitada socialmente copiando os tecidos, o jeito de se portar e, principalmente, a forma de se vestir da nobreza. Os nobres, evidentemente, não ficaram satisfeitos ao ver cópias de suas roupas na recém-criada classe social, então começaram a inventar

códigos internos de vestuário que mudavam rapidamente, antes que a burguesia tivesse tempo para copiá-los. “Foi assim que surgiu o prazo de validade na moda. A moda foi, é e será um diferenciador social”, afirma João Braga (2004, apud SAFATLE, 2017, s/p). É nesse período, também, que nascem as regras de etiqueta com o objetivo de diferenciar a origem das pessoas, já que pelo vestuário estava cada vez mais difícil.

A cultura de consumo surge com a evolução do capitalismo, especialmente a partir de dois acontecimentos de extrema importância ocorridos nas décadas finais do século XIX, a Revolução Industrial e a revolução burguesa, política e liberal que culmina na Revolução Francesa. A indústria têxtil, assim, desenvolveu-se fortemente na Revolução Industrial – o tecido de algodão, insumo ligado à expansão marítima e ao comércio ultramarino, passou a ser usado não apenas para artigos domésticos e forros, mas também para o vestuário da alta sociedade. Logo depois, as técnicas de estamparia do algodão foram mecanizadas, o que acarretou no aumento da procura e venda do produto. Enquanto a Revolução Industrial permitiu a produção de mercadorias para serem escoadas, a Revolução Liberal possibilitou a condição certa para o florescimento da indústria da moda, a mobilidade social (SAFATLE, 2017).

A indústria têxtil trouxe a massificação, mas trouxe também um novo problema: como se diferenciar socialmente? A resposta foi o lançamento sucessivo de coleções em um ritmo extremamente acelerado. Atualmente, em um mundo digital, a facilidade de copiar e seguir tendências é tão grande que não faz mais sentido lançamentos sazonais que acompanham as estações da natureza (outono-inverno e primavera-verão). Agora, os lançamentos são feitos semanalmente, muitas vezes até diariamente. Tal fenômeno ganhou o nome de *fast fashion*. Esse novo ritmo de consumo desenfreado que vem fomentando questionamentos (devido aos seus grandes impactos e mazelas socioambientais decorrentes de sua produção, consumo e descarte linear), notadamente a partir da conferência Eco-92 ocorrida no Rio de Janeiro, é a principal problemática neste artigo.

### **Impactos da indústria da moda**

Têxteis e vestuários são parte fundamental na vida cotidiana de milhões de indivíduos. É difícil imaginar um mundo sem eles. As roupas proporcionam conforto e proteção, e para muitos são uma expressão importante da individualidade. A indústria da moda é um setor bastante significativo para a economia global, visto que movimenta cerca de US\$ 3 trilhões de dólares anualmente, sendo responsável por 2% do Produto Interno Bruto (PIB) mundial e empregando por volta de 300 milhões de pessoas ao longo de sua cadeia de valor (FASHION UNITED, 2017).

Apesar dos aparentes benefícios proporcionados, fica cada vez mais evidente que a forma como se projeta, fabrica e usa as roupas acarreta consequências caras ao planeta. O processo do sistema têxtil funciona de forma linear, isto é, grandes quantidades de recursos não renováveis são extraídas da natureza para manufaturar roupas que serão utilizadas com frequência por um curto período e, depois, os materiais são, na sua maioria, enviados para aterros sanitários ou incinerados.

Há cerca de vinte anos, as grandes marcas produziam apenas quatro coleções por ano, uma para cada estação. Hoje, essa lógica não faz mais sentido, devido à *fast fashion* que abastece as grandes lojas varejistas. São produzidas por volta de 52 coleções anuais, uma por semana, ou até mais (CABRAL, 2017). Todo esse trabalho resulta em mais de 80 bilhões de peças de vestuário despejadas no mercado anualmente. Consomem-se 400% mais roupas do que no começo deste século, porém, isso não significa que sejam utilizadas por mais tempo. Segundo dados do relatório da *Ellen MacArthur Foundation* (2017), mais da metade da “moda rápida” produzida no mundo é descartada em menos de um ano. Na China, por exemplo, o tempo de utilização do vestuário caiu 70% nos últimos 15 anos, e 60% das pessoas afirmam ter mais roupas do que precisam, o mesmo resultado visto na Alemanha. Calcula-se que, a cada ano, US\$ 460 bilhões são jogados fora em roupas que ainda poderiam ser utilizadas. Esse consumo voraz é impulsionado por uma crescente população de classe média em todo o mundo e aumento das vendas *per capita* nas economias (ELLEN MACARTHUR FOUNDATION, 2017).

Para atender toda essa demanda, o preço precisa ser competitivo, o custo de produção o menor possível e, conseqüentemente, o ritmo de trabalho deve ser incessante. Para isso, as multinacionais têxteis se realocaram em países onde economia, legislação, leis trabalhistas e leis ambientais estão em desenvolvimento, tornando mais simples a produção em larga escala, o que coloca pressão sobre os recursos naturais, polui e degrada o meio ambiente e provoca impactos sociais negativos percebidos em escala local, regional e global.

Quem usa um vestido de marca glamorosa não necessariamente está ciente de que sua peça foi confeccionada por uma costureira morta no desabamento do Edifício Rana Plaza em Bangladesh, no dia 24 de abril de 2013. O prédio em péssimas condições de conservação, que abrigava confecções de várias marcas globais famosas, ruiu matando 1.134 trabalhadores, na sua maioria mulheres e crianças, e deixando mais de 2.500 feridos. O segmento têxtil é um dos que mais exploram trabalhos análogos à escravidão no mundo, perdendo apenas para o setor de tecnologia. Os dados da fundação *Walk Free* (THE GLOBAL SLAVERY INDEX, 2018) revelam que existem cerca de 40,3 milhões de vítimas dentro da realidade da escravidão moderna, sendo que 71% desses atingidos são mulheres. Outro levantamento, feito via *Sourcemap* (2017), evidencia que a rota feita pelos produtos atualmente continua a mesma feita de 150 anos atrás – países que

foram colonizados permanecem, em geral, fornecendo matéria-prima e mão de obra para países que foram colonizadores. É uma questão complexa, na qual estão envolvidos fatores de raça, gênero e classe social.

Além do ambiente de trabalho insalubre devido a processos inseguros, os trabalhadores podem sofrer com o contato com substâncias perigosas usadas em todas as partes da cadeia de valor. Ainda segundo os dados do relatório da *Ellen MacArthur Foundation* (2017), a produção de algodão consome cerca de 2,5% de toda a terra cultivável do mundo, mas corresponde a 16% de todos os pesticidas utilizados. Para se ter uma ideia, na Índia 50% de todos os pesticidas são utilizados para o cultivo de algodão, o que afeta a saúde dos agricultores. Calcula-se que cerca de 20% da poluição industrial da água a nível global é originada do tingimento e tratamento de têxteis. Por exemplo, na Indonésia, o rio Citarum possui ao longo de suas margens por volta de 200 fábricas têxteis que liberam substâncias químicas em suas águas, provocando a mudança de cor e dizimação do seu ecossistema.

Apesar de se beneficiarem dos empregos gerados pela indústria, as comunidades locais são as mais sensíveis às más práticas ambientais, quando as empresas lançam águas residuais de produção não tratadas nos rios locais usados para tomar banho, beber, pescar, entre outras atividades diárias. As substâncias químicas utilizadas na fabricação podem ficar retidas nos têxteis acabados, provocando preocupação com o impacto sobre o usuário e podendo ser liberadas no meio ambiente durante fabricação, lavagem e descarte. Na maioria das vezes, esse impacto não é mensurado devido à falta de transparência e de maiores informações. Para ilustrar, as roupas são frequentemente tratadas com formaldeído para obter resistência ao vinco, porém, essa substância foi classificada pela Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer como carcinogênico para humano, e está ligada a dermatite alérgica de contato. Outro problema em potencial para a saúde é o acúmulo de substâncias tóxicas no corpo humano por exposição à água e/ou a alimentos contaminados (ELLEN MACARTHUR FOUNDATION, 2017).

Um dos impactos mais graves e conhecidos da indústria da moda é o alto consumo de água. A produção têxtil (incluindo a cultura de algodão) consome cerca de 93 bilhões de metros cúbicos de água anualmente (Ibid.), o que representa por volta de 4% da captação de água doce do planeta; nessa conta, o setor é responsável pelo consumo de mais de dois terços dessa água. Uma calça jeans consome em sua fabricação por volta de 11.000 litros de água limpa. Isso daria para sustentar uma família de quatro pessoas por quase 20 dias. Vale ressaltar que mais de meio bilhão de pessoas no mundo não tem acesso a água potável (WATER AID, 2017). Muitos dos principais produtores de algodão, atualmente, como China, Índia, Estados Unidos, Paquistão e Turquia, estão sob elevado

estresse hídrico. Na China, por exemplo, de 80% a 90% das fibras de tecido, fio e plástico são fabricadas em áreas com grande escassez de água ou estresse hídrico (Ibid.).

A questão da presença dos plásticos nos oceanos é outro problema alarmante que gera grande preocupação devido às implicações ambientais e de saúde associadas. Recentemente, a indústria têxtil foi apontada como uma das maiores contribuintes para esse problema. Todos os anos, estima-se que cerca de meio milhão de toneladas de microfibras de plásticos é despejado durante o processo de lavagem de têxteis como poliéster, acrílico ou náilon, o que seria equivalente a mais de 50 bilhões de garrafas plásticas (ELLEN MACARTHUR FOUNDATION, 2017).

Vale ressaltar, também, a interferência da indústria da moda no efeito estufa no planeta. Em 2015, cerca de 1,2 bilhão de toneladas de CO<sub>2</sub> (o equivalente a mais do que todos os voos internacionais e transportes marítimos combinados), foi lançado no meio ambiente pela produção têxtil (ELLEN MACARTHUR FOUNDATION, 2017).

### **Economia e moda circular**

No planeta Terra, os sistemas vivos existem há bilhões de anos e continuarão existindo por muitos outros. É um processo cíclico que se autorregula, no qual os materiais fluem, o sol fornece energia, os resíduos de uma espécie servem de alimento para outra, tudo nasce e morre e retorna ao solo em segurança como nutriente. Porém, atualmente, o ser humano cada vez mais desequilibra essa balança devido ao sistema de produção linear em que produz, consome e, logo em seguida, descarta. Um novo aparelho celular com um pequeno incremento de inovação é lançado no mercado, e rapidamente o antigo é descartado; entretanto, toda vez que se age assim se utiliza um conjunto de recursos finitos que muitas vezes geram lixo tóxico, além de que boa parte do lixo eletrônico gerado em países mais desenvolvidos, onde o poder de consumo é elevado, tem por destino países com graves problemas de desenvolvimento econômico e humano, como vários do continente africano.

Se o modelo circular encontrado nos sistemas vivos funciona há muito tempo de modo equilibrado e saudável, as práticas humanas de operar também deveriam seguir a economia circular. A expressão “economia circular” dialoga com diversas escolas e linhas de pensamento que ajudam a construir o debate sobre desenvolvimento sustentável, tais como: *cradle to cradle* (do berço ao berço), *design* regenerativo, ecologia industrial, gestão do ciclo de vida, economia de performance, dentre outras (ELLEN MACARTHUR FOUNDATION, 2017).

Pode-se entender o desenvolvimento sustentável como um modelo que busca preservar o ambiente do qual a economia se serve para satisfazer as necessidades da geração que lhe é contemporânea, sem comprometer a capacidade de vivência das gerações futuras. Assim, quanto

maior for a durabilidade do produto e quanto menos energia for consumida para atender tal necessidade, mais característica de sustentável o processo possuirá. No Brasil, o Instituto Ethos é uma referência nessas discussões de sustentabilidade no setor empresarial, sendo uma Organização da Sociedade Civil de Interesse Público que promove periodicamente, desde 2007, o Fórum Amazônia Sustentável, por exemplo, e publica cartilhas com indicadores temáticos sobre limpeza urbana, mobilidade, inclusão de pessoas com deficiência física, equidade racial, direitos humanos, entre outros temas. Uma dessas publicações explora as possíveis contribuições das empresas para a configuração de cidades sustentáveis, pautando-se por exemplos de projetos nacionais e internacionais de cidadania corporativa (INSTITUTO ETHOS, 2009).

A economia circular tem como base a inteligência da natureza, para a qual não há a ideia de resíduo, sendo tudo constantemente fonte para um novo ciclo (ELLEN MACARTHUR FOUNDATION, 2019). Não é apenas uma atitude voltada para a sustentabilidade, mas uma mudança no paradigma do atual sistema produtivo. Busca-se a utilização mais racional dos recursos finitos. Para isso, é necessário o aprimoramento da eficiência na concepção de produtos os quais devem ser pensados: visando o design regenerativo e restaurativo por natureza, eliminando o desperdício e os restos do processo; utilizando insumos mais facilmente recicláveis e não perigosos (não tóxicos); maximizando o valor dos materiais para permitir uma maior vida útil dos componentes e do produto; adiante, com o esgotamento de uso do manufaturado, prestando-se ao *upcycling* (reaproveitamento), à reforma, ao conserto, à remanufatura e à última etapa da reciclagem (SCHUCH, 2017).

Faz-se uma distinção, nessa lógica, entre ciclos biológicos e técnicos. O consumo se aplica apenas nos ciclos biológicos, nos quais alimentos e outros insumos de base biológica, como madeira e algodão, são concebidos para retornar ao sistema por intermédio de procedimentos como compostagem e digestão anaeróbica. Nesses ciclos, regeneram-se os sistemas vivos como o solo, que, por sua vez, propiciam recursos renováveis para a economia. Já os ciclos técnicos fazem a recuperação e restauro dos produtos e materiais mediante as estratégias já citadas anteriormente, como reuso e remanufatura. A atividade econômica passa a contribuir para a saúde geral do sistema, refletindo uma mudança metódica que desenvolve resiliência em longo prazo, construindo novas oportunidades de negócios, o que pode possibilitar, também, benefícios socioambientais (ELLEN MACARTHUR FOUNDATION, 2019).

Iniciativas já começam a surgir no setor como, por exemplo, a primeira coleção circular de camisetas com certificação nível ouro do *Cradle-to-Cradle*<sup>TM</sup> (C2C) da C&A (CNI, 2018). O projeto foi desenvolvido em parceria com a iniciativa *Fashion For Good*: desde o design, engajaram e alinharam as estratégias com todos os envolvidos, fornecedores, equipe de vendas, funcionários,

entre outros. A camiseta foi produzida usando apenas materiais seguros, diminuindo radicalmente o volume de resíduos, reutilizando a água, apostando na energia renovável no processo de fabricação, valorizando a responsabilidade socioambiental (CNI, 2018).

O conceito de moda circular foi utilizado pela primeira vez por dois atores distintos, quase simultaneamente, em 2014, ano em que a noção de economia circular ganhou força na agenda política da Europa, matéria que serviu de base para o desenvolvimento e a criação de uma moda que procura ser mais sustentável (CIRCULAR FASHION, 2019).

Em maio daquele mesmo ano, um desses atores a usar inicialmente, e oficialmente, os termos “moda circular” foi a equipe de sustentabilidade da H&M durante uma apresentação pública no evento *Almedalen Week*, em *Gotland*, no Sul da Suécia. Outro ator foi Anna Brismar, proprietária da *Green Strategy*. Brismar usou a expressão em junho em uma reunião de planejamento para um evento sobre moda sustentável, *Circular Fashion – Show & Talk 2014*, realizado em Estocolmo, na Suécia. Como desenvolvedora e gerente do evento, demonstrou a primeira definição e os princípios da “moda circular”, que iriam constituir o pilar teórico do evento, como uma direção aos participantes do painel, que eram profissionais do ramo da moda sustentável e têxtil, bem como às marcas que participaram dos desfiles. Utilizando como base a estrutura da economia circular da Fundação Ellen MacArthur, Anna Brismar (2017, s/p) esclareceu:

A moda circular pode ser definida como roupas, sapatos ou acessórios que são projetados, produzidos e fornecidos com a intenção de serem utilizados de forma responsável e eficaz na sociedade pelo maior tempo possível na sua forma mais valiosa e, em seguida, retornam com segurança para a biosfera quando já não mais passíveis de uso humano.

Em outras palavras, os produtos devem ser projetados objetivando longevidade, maior eficiência de recursos, não uso de insumos tóxicos, reciclabilidade, biodegradabilidade e consciência ética. Eles devem ser obtidos e produzidos buscando prioritariamente recursos locais, com práticas seguras e eficientes. Os produtos também devem ser utilizados pelo maior tempo possível, mediante o hábito de bons cuidados, consertando, remodelando e compartilhando o mesmo item entre outros usuários, por meio de aluguel, empréstimo, trocas, entre outras possibilidades. Na sequência, os produtos devem ser redesenhados para dar uma nova vida aos insumos e componentes, através de reciclagem. Se não estiverem apropriados, os insumos biológicos devem, ao invés disso, ser usados na compostagem, para servir de nutrientes a organismos vivos no ecossistema, como plantas.

De forma geral, todo o ciclo de vida do produto não deve trazer impactos ambientais e socioeconômicos negativos, mas, ao contrário, deve contribuir para o desenvolvimento e bem-estar dos seres humanos, da sociedade e da natureza em geral.

## **METODOLOGIA**

Notada a ausência de relatórios e pesquisas recentes sobre moda circular na realidade brasileira, vislumbrou-se a possibilidade de realização de pesquisa de campo, com objetivo de contribuir para a reunião de dados e informações sobre a matéria, bem mais difundida e estudada em mercados internacionais. A natureza da pesquisa, então, já explicativa, acresceu-se de métodos de pesquisa de coleta junto a amostra aleatória simples, análise inferencial qualitativa, com aplicação de um questionário estruturado de onze perguntas.

De um total de cerca de 600 contatos convidados por meio digital a responder ao questionário, formulado em plataforma gratuita, foram obtidas 125 respostas válidas, através das redes sociais Facebook e Whatsapp. O período de coleta foi entre novembro e dezembro de 2018, tendo como público-alvo participantes maiores de 16 anos.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A pesquisa procurou explorar o nível de consciência e preocupação dos participantes com questões que abordam os impactos negativos da indústria da moda sobre o meio ambiente e a sociedade, e qual a responsabilidade de cada um para esse sistema de exploração e consumo linear atualmente vigente.

Os primeiros resultados são referentes ao gênero e à faixa etária dos respondentes:

**Tabela 1: Dados preliminares dos participantes**

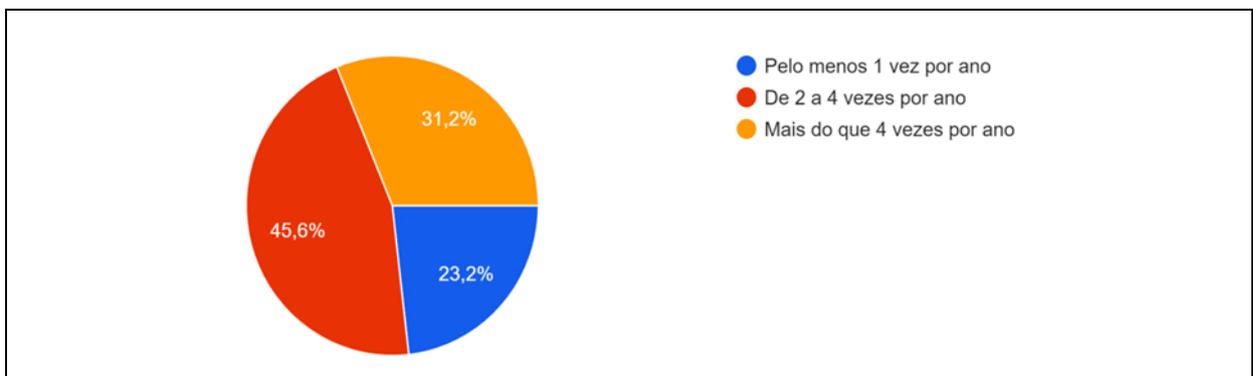
<b>Gênero</b>	
<b>Feminino</b>	80%
<b>Masculino</b>	20%
<b>Faixa etária</b>	
<b>16 a 24 anos</b>	19,2%
<b>25 a 40 anos</b>	55,2%
<b>41 a 53 anos</b>	15,2%
<b>54 anos ou mais</b>	10,4%

**Fonte:** Dos autores (2019).

É interessante realçar que, apesar das diferentes gerações destacadas na tabela, foi notada certa homogeneidade nas respostas que revelavam a preocupação com questões ambientais, por isso, não foi possível, pela junção dos resultados subsequentes, determinar algum padrão de resposta para cada geração aqui representada. Destacou-se mais a uniformidade perante as afirmações apresentadas no questionário.

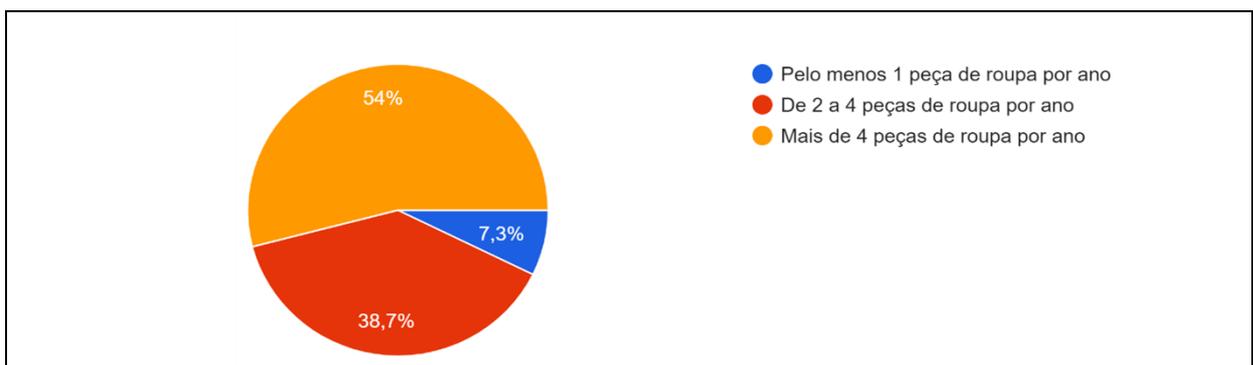
Em conformidade ao que foi encontrado em relatórios internacionais, a amostragem revelou que 82,4% dos participantes não utilizam todas as roupas que estão em seu guarda-roupa, isto é, possuem mais roupas do que realmente precisam. Esse dado se vincula a outros que foram obtidos, a respeito da frequência e da quantidade de consumo, representados nos Gráficos 1 e 2:

**Gráfico 1: Frequência com que compra peças de vestuário**



Fonte: Dos autores (2019).

**Gráfico 2: Quantidade de peças de vestuário compradas no ano**



Fonte: Dos autores (2019).

Uma parcela bastante significativa, de 31,2% dos entrevistados, afirma ir mais do que quatro vezes por ano às compras, dado que se relaciona diretamente ao fator das estações do ano e das trocas de coleções no varejo, e que mostra que a motivação de consumo excede essas necessidades sazonais. Mas essa tendência fica mais clara quando é observada a quantidade de peças compradas

por ano, pois 54% dos entrevistados dizem comprar mais do que quatro peças anualmente, o que sobrepõe o fator da quantidade ao da assiduidade.

Todavia, também foi constatado nos dados fornecidos que o hábito da reutilização das roupas é praticado: por volta de 76% dos participantes, porcentagem superior às anteriores, afirmam comprar peças seminovas ou de segunda mão, o que pode caracterizar uma possível receptividade a serviços de compartilhamento, aluguel, conserto e reparo de vestuário, essenciais ao fortalecimento da moda circular.

Além disso, como se sabe que a autoimagem do consumidor de moda é determinante para seu comportamento, e que nessa área a estética, o pertencimento a uma tendência, a identidade visual de grupo, a expressão de um estilo, enfim, a relação com tipos, padrões, com o próprio corpo e suas características mais idiossincráticas é estruturante do seu papel perante a indústria da moda, os entrevistados puderam escolher mais de uma opção dentre várias de uma lista que apresentava perfis. Na tabela abaixo estão os dados referidos:

**Tabela 2: Perfis escolhidos pelos participantes**

<b>Características</b>	<b>Respostas</b>	<b>Percentuais</b>
Compra só quando há necessidade	98	78,4%
Sempre barganha e é atraído por ofertas	46	36,8%
Quer se destacar na multidão	9	7,2%
Quer parecer uma celebridade	4	3,2%
Quer pertencer a algum grupo ou “tribo”	3	2,4%

**Fonte:** Dos autores (2019).

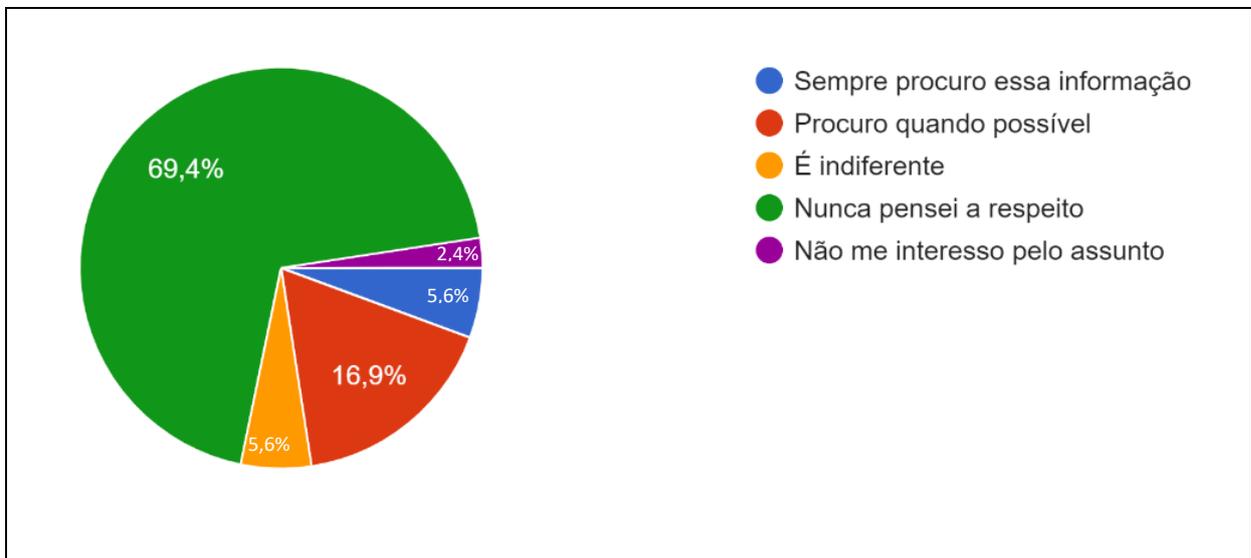
As respostas estão organizadas por ordem decrescente de incidência. Sendo assim, como se observa, destacaram-se dois perfis como mais escolhidos, o de quem só compra quando necessário e o de quem é atraído por bons preços, principalmente se se leva em consideração a sociedade altamente estratificada no Brasil e o contraste entre poder aquisitivo e padrão de consumo. A primeira postura conflita, num certo sentido, com a segunda mais votada, porque comprar quando precisa é prescindir do apelo publicitário dos descontos e ofertas sazonais, que, muitas vezes, incitam ao consumo supérfluo e desnecessário – “compra porque está barato”. Ademais, o dado segundo o qual 98 de 125 participantes seguem a postura do consumo consciente

é discrepante em relação à porcentagem dos 82,4% que haviam revelado não utilizar todas as roupas que estão no armário.

Essa contradição se explica, possivelmente, pela crise econômica que assola o país desde o ano de 2015, sendo um retrato da mudança no padrão de consumo de milhares de brasileiros desempregados, em subempregos ou remunerados há anos sem reajustes compensatórios para os índices de inflação, que se viram obrigados a fazer um maior planejamento financeiro antes de adquirir algum produto ou serviço, priorizando itens de primeira necessidade. Desse modo, grande parte dos consumidores ainda compra mais do que deveria (na lógica da sustentabilidade), mas tem a sensação de consumir o estritamente necessário, pois seu nível de consumo obrigatoriamente diminuiu ao longo da recessão econômica nacional. Decerto, esse ponto da pesquisa mereceria uma maior abrangência de estudo para ajudar a revelar o que o comprador entende como uma real necessidade e se realmente esse perfil de comprador tende a aumentar em virtude da crise econômica.

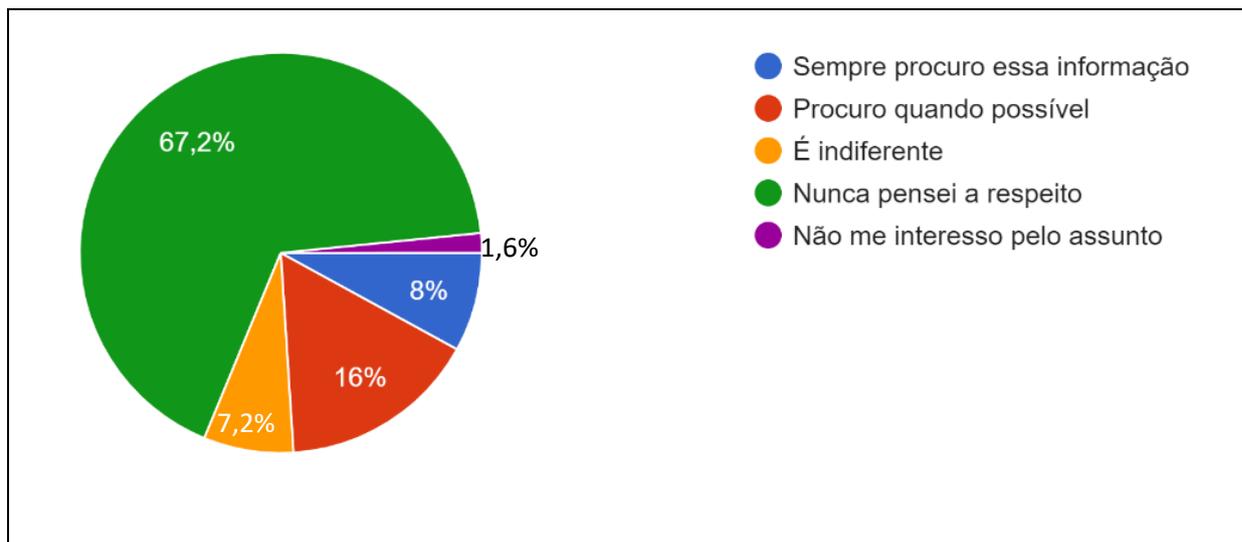
Os participantes, em sua maioria, também revelaram pouca sensibilidade aos temas de trabalho análogo à escravidão e de degradação do meio ambiente, como mostram os Gráficos 3 e 4:

**Gráfico 3: Preocupação com peças que sejam oriundas de organizações com consciência ambiental**



Fonte: Dos autores (2019).

**Gráfico 4: Preocupação com peças que sejam oriundas de organizações com condições dignas de trabalho**



Fonte: Dos autores (2019).

Somadas as porcentagens de quem não pensa sobre o assunto, não se interessa ou é indiferente, chega-se ao elevado índice de 71% de indivíduos que se autodeclararam despreocupados com os valores de responsabilidade ambiental das organizações, apesar dos 83,1% que, em pergunta posterior, afirmaram que deixariam de comprar vestuário de empresas envolvidas com problemas dessa natureza. Já em relação às condições de trabalho análogas à escravidão, que envolvem jornada exaustiva, ausência de direitos trabalhistas e de carteira de trabalho assinada devido a contratação de mão de obra imigrante ilegal, ambiente insalubre onde grupos numerosos trabalham e residem, frequentemente com seus filhos pequenos, ameaças e pressões de vários tipos, ausência de liberdade de abandonar esse sistema impiedoso, dentre outros, apenas 24% se dizem interessados em buscar conhecer se a organização segue tais condutas.

Esses dados revelam que, se soubessem, até boicotariam as marcas pouco idôneas, que compõem o que se chama de “Lista Suja” do setor têxtil (cuja problemática foi bem explorada por MASCARENHAS; DIAS; BAPTISTA, 2015). Não se observa, no entanto, postura determinada para tomar conhecimento de práticas de gestão possivelmente ilícitas e corruptas por grande parte dos consumidores da amostra. Não têm o hábito ou sequer sabem onde localizar informações desse tipo que os ajudem a escolher de quem comprar.

Campanhas públicas e privadas de conscientização são, nesse cenário, urgentes. Denúncias muitas vezes não acontecem ou não alcançam amplitude de divulgação por envolverem marcas e corporações do setor da moda que financiam as próprias mídias tradicionais, ou apoiam autoridades políticas e empresariais influentes. Porém, para que o modelo predominante vá se desconstruindo em prol de alternativas mais condizentes com o mundo atual, da escassez de recursos, da

superpopulação mundial, da pobreza crescente, e também o da explosão das mídias digitais, do crescente acesso à informação na *web* e da lenta, mas fundamental, abertura de mentalidade para a importância da preservação ambiental e dos direitos humanos básicos, é necessário que a cultura da economia circular e da moda circular se torne mais e mais conhecida e angarie adeptos.

Cerca de 68% dos participantes da pesquisa afirmaram que pagariam mais caro por uma peça de roupa considerada sustentável, ou seja, feita de insumos recicláveis e renováveis e que valoriza e respeita o trabalhador envolvido em sua produção. Portanto, é perceptível que, se convencido de suas vantagens, o consumidor conseguiria notar o valor agregado de produtos com esse tipo de preocupação, e que faria o possível para custear essa tendência.

Mas, no conjunto todo dos resultados da pesquisa, percebe-se nitidamente que há inconsistências na opinião dos entrevistados, ou que há certas contradições em alguns dos hábitos perscrutados, porque as maiores tendências de comportamento da amostra analisada são um tanto conflitantes, como consumo consciente de quem compra o necessário *versus* consumo desmesurado de quem não usa o vestuário que possui; pouco interesse por práticas sustentáveis *versus* alto interesse por pagar mais caro por peças sustentáveis.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Sendo a indústria da moda uma das que mais geram renda e emprego no mundo e uma das que mais acarretam efeitos nocivos em toda a sua extensão, sua transformação para a lógica circular traria muitos benefícios, como foi possível averiguar neste trabalho. Foi discutida a necessidade de mudanças que questionem o tradicional modelo econômico linear vigente, de produção-consumo-descarte, que vem chegando ao seu limite e pressiona as reservas de recursos naturais do planeta. Foi também confirmada a necessidade de buscar alternativas inovadoras e prósperas em termos de produção com preocupação socioambiental, mesmo que, para tanto, sejam dispensados esforços de divulgação, conscientização e alteração na concepção de todos os agentes da cadeia de valor. Mudanças de atitude são paulatinas e permanentes. Implicam mudanças de cultura organizacional, incentivos fiscais, transparência dos processos.

O caminho para essa transformação começa pela renovação dos sistemas de negócios, de curto prazo para os de longo prazo, disseminando as ideias de maior valor agregado aos recursos e, principalmente, de design pensado para a circularidade e os ciclos reversos. Além disso, é fundamental a parceria com centros de pesquisa e universidades que estudem e testem novos materiais, e com representantes políticos que valorizem a infraestrutura para desenvolvimento de novas tecnologias.

O Brasil, como detentor da maior cadeia têxtil completa do ocidente, precisa estar alinhado a esse novo panorama. Como foi confirmado por este estudo, o consumidor brasileiro ainda precisa ser mais sensibilizado às questões socioambientais, o que evidencia, mais que um desafio, um nicho a ser explorado no mercado. Somando-se ao comportamento empreendedor e de inovação, o país ainda possui outras potencialidades a serem suscitadas, como a diversidade cultural de seu povo e a grande biodiversidade presente em seu território, valores essenciais à circularidade.

Trabalhos futuros poderiam ampliar a pesquisa de campo aqui realizada, para que uma representação bem maior de consumidores brasileiros pudesse ser investigada. Também estudos de caso em organizações que têm aderido a projetos de moda circular poderiam ser desenvolvidos, para que fossem confrontados com a literatura acadêmica que começa a se fortalecer no Brasil.

## REFERÊNCIAS

ABIT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA TÊXTIL E DE CONFECÇÃO. *O poder da moda*. rev. e atual. São Paulo: [s/n], 2018.

BRISMAR, Anna. Predictions on sustainability and fashion for 2018 and beyond. *Circular Fashion*. 2017. Disponível em: <https://circularfashion.com/predictions-on-sustainability-and-fashion-for-2018-and-beyond/>. Acesso em: 18 dez. 2018.

CABRAL, Magali. Como a indústria global da moda afeta a sociedade e o ambiente. *P22On*. 2017. Disponível em: <http://www.p22on.com.br/2017/10/31/como-a-industria-global-da-moda-afeta-a-sociedade-e-o-ambiente/>. Acesso em: 03 jan. 2019.

CIRCULAR FASHION. *Origin of the concept of circular fashion*. Disponível em: <https://circularfashion.com/circular-fashion-definition/> Acesso em: 16 jun. 2019.

CNI - CONFEDERAÇÃO NACIONAL DA INDÚSTRIA. *Economia circular: oportunidades e desafios para a indústria brasileira*. Brasília: CNI, 2018. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/324729539\\_Economia\\_Circular\\_Oportunidades\\_e\\_d\\_esafios\\_para\\_a\\_industria\\_brasileira](https://www.researchgate.net/publication/324729539_Economia_Circular_Oportunidades_e_d_esafios_para_a_industria_brasileira). Acesso em: 22 dez. 2018.

ELLEN MACARTHUR FOUNDATION. *A new textiles economy: redesigning fashion's future*. [S.I.], 2017. Disponível em: <https://www.ellenmacarthurfoundation.org/publication/>. Acesso em: 20 dez. 2018.

\_\_\_\_\_. *What is the circular economy?* 2019. Disponível em: <https://www.ellenmacarthurfoundation.org/circular-economy/what-is-the-circular-economy> . Acesso em: 23 mai. 2019.

FASHION UNITED. *Global fashion industry statistics: international apparel*. 2017. Disponível em: <https://fashionunited.com/global-fashion-industry-statistics/>. Acesso em: 25 jan. 2019.

INSTITUTO ETHOS. *Cidades sustentáveis: como as empresas podem contribuir*. 2009. Disponível em: [https://www.ethos.org.br/wp-content/uploads/2012/12/01\\_Cidades-Sustent%C3%A1veis.Como-as-Empresas-Podem-Contribuir-dezembro-2009.pdf](https://www.ethos.org.br/wp-content/uploads/2012/12/01_Cidades-Sustent%C3%A1veis.Como-as-Empresas-Podem-Contribuir-dezembro-2009.pdf). Acesso em: 15 dez. 2019.

MASCARENHAS, A. O.; DIAS, S. L. G.; BAPTISTA, R. M. Elementos para discussão da escravidão contemporânea como prática de gestão. *RAE – Revista de Administração de Empresas FGV/EAESP*. São Paulo, p.1-13, 2015. Disponível em: [https://rae.fgv.br/sites/rae.fgv.br/files/elementos\\_para\\_discussao\\_da\\_escravidao\\_contemporanea\\_como\\_pratica\\_de\\_gestao.pdf](https://rae.fgv.br/sites/rae.fgv.br/files/elementos_para_discussao_da_escravidao_contemporanea_como_pratica_de_gestao.pdf). Acesso em: 15 jan. 2019.

PROGRAMA das Nações Unidas para o Meio Ambiente. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/agencia/onumeioambiente/>. Acesso em: 10 mai. 2019.

SAFATLE, Amália. Cultura de consumo: o grande nó da sustentabilidade na cadeia da moda. *P22On*. 2017. Disponível em: <http://www.p22on.com.br/2017/10/31/cultura-de-consumo-o-grande-no-da-sustentabilidade-na-cadeia-da-moda/>. Acesso em: 03 jan. 2019.

SCHUCH, Alice. Moda circular: a moda sustentável pelo viés da economia circular. In: MAROTTO, Isabella (Org.). + *Sustentabilidade às marcas de moda: reflexões e indicadores*. Rio de Janeiro: 2017, p. 58-71. Disponível em: <http://porfavormenoslixo.com.br/wp-content/uploads/2018/01/LIVRO-SUSTENTABILIDADE-%C3%80S-MARCAS-DE-MODA.pdf>. Acesso em: 02 nov. 2018.

SOURCEMAP. *Fashion transparency: the All-in-One Solution*. 2017. Disponível em: <https://www.sourcemap.com/fashion-transparency>. Acesso em: 03 fev. 2019.

THE Global Slavery Index. *Modern slavery: a hidden, everyday problem*. 2018. Disponível em: <https://www.globalslaveryindex.org/>. Acesso em: 02 fev. 2019.

WATER AID. *Facts and statistics*. 2017. Disponível em: <https://www.wateraid.org/us/facts-and-statistics>. Acesso em: 17 jun. 2019.

**1 Santos, Caroline Conceição dos. [carolineconceicaosantos@hotmail.com](mailto:carolineconceicaosantos@hotmail.com)**

**2 Sigrist, Vanina Carrara.** Professora de Ensino Superior Nível III C na Faculdade de Tecnologia da Baixada Santista (FATEC-RL), possui Bacharelado e Licenciatura em Letras pela Unicamp (2003), Mestrado e Doutorado em Teoria e História Literária pela Unicamp (2012). Atua em cursos de graduação e é membro da Comissão de Iniciação Científica. É coordenadora de Comunicação da Equipe Web da FATEC-RL. Tem experiência nas áreas de Letras e Educação, com ênfase em comunicação, redação e produção de conteúdo digital. Seus temas de interesse na docência e na pesquisa estão direcionados às relações entre conhecimento, cultura, literatura e tecnologias de informação. [vanina.sigrist01@fatec.sp.gov.br](mailto:vanina.sigrist01@fatec.sp.gov.br)

# Vila dos Pescadores da Praia Grande de Niterói: Análise Urbana e Estrutural

SILVA, Raphaela Reis Conceição Castro  
SOUZA, Fernando de

## Resumo

Este trabalho tem como objetivo analisar a comunidade da vila dos pescadores da Praia Grande, localizado no bairro central da cidade de Niterói, no âmbito urbanístico e estrutural e sua relação para com o entorno de caráter comercial e cultural e os equipamentos urbanos como: Caminho Niemeyer, Terminal Rodoviário João Goulart e mercado e terminal hidroviário – Estação Arariboia. Verificar a situação tanto dos moradores quanto da atividade econômica principal do local – pesca-, e o incentivo que o Estado possa dar a esta atividade com caráter artesanal e cultural à cidade. Estudar o novo Plano Diretor de Niterói (Lei no. 3385 – 2019) e esmiuçar trechos e partes deste documento que atendam e contemplem a região estudada, comparando com o atual momento da vila dos pescadores da Praia Grande de Niterói. Elaborar diretrizes e propostas de atuação viabilizando ações de cunho socioambiental, mitigar os impactos ambientais, atender a comunidade tradicional, a fim de contribuir com a preservação e sustentabilidade do meio ambiente. Revitalização dos equipamentos públicos e coletivos locais como: praça e cais, propondo intervenções pontuais, em detrimento da demanda local.

**Palavras-chave:** Pesca artesanal. Plano Diretor. Praia Grande. Intervenção urbana. Meio Ambiente. Baía de Guanabara

## Abstract

This work aims to analyze the community of the fishermen's village in Praia Grande, which is located in the central district of the city of Niterói, concerning the urban and structural scope and its relationship with the commercial and cultural environment and urban equipment such as: Caminho Niemeyer, João Goulart Bus Terminal and market and waterway terminal - Arariboia Station. Besides, our goal is to verify the situation of both residents and the main economic activity of the place - fishing -, and the incentive that the State Government can give towards this activity with an artisanal and cultural character to the city. Moreover, we aim to study the new Master Plan of Niterói (Law No. 3385 - 2019) and scrutinize excerpts and parts of this document that meet and contemplate the studied region, comparing with the current moment of the fishing village of Praia Grande in Niterói. This study's objective is to elaborate guidelines and action proposals, enabling social and environmental actions, mitigating environmental impacts, serving the traditional community, in order to contribute to the preservation and sustainability of the environment. There are some suggestions of revitalization of local public and collective facilities such as: square and pier, proposing specific interventions, to the detriment of local demand.

**Keywords:** Artisanal fishing. Master plan. Big beach. Urban intervention. Environment. Guanabara's Bay

## Resumen

Este trabajo tiene como objetivo analizar la comunidad de la aldea de pescadores de Praia Grande, ubicada en el distrito central de la ciudad de Niterói, en el ámbito urbano y estructural y su relación con el entorno comercial y cultural y equipamientos urbanos como: Caminho Niemeyer, Terminal de autobuses João Goulart y terminal de mercado y vías navegables - Estación Arariboia. Verificar la situación tanto de los vecinos como de la principal actividad económica del lugar -la pesca-, y el incentivo que el Estado puede dar a esta actividad con carácter artesanal y cultural a la ciudad. Estudiar el nuevo Plan Director de Niterói (Ley No 3385 - 2019) y escudriñar extractos y partes de este documento que se

encuentran y contemplan la región estudiada, comparándola con el momento actual del pueblo pesquero de Praia Grande de Niterói. Elaborar lineamientos y propuestas de acción, posibilitando acciones sociales y ambientales, mitigando los impactos ambientales, sirviendo a la comunidad tradicional, con el fin de contribuir a la preservación y sustentabilidad del medio ambiente. Revitalización de equipamientos públicos y colectivos locales como: plaza y malecón, proponiendo intervenciones puntuales, en detrimento de la demanda local.

**Palabras clave:** Pesca artesanal. Plan Maestro. Playa Grande. Intervención urbana. Medio ambiente. Bahía de Guanabara

## INTRODUÇÃO

Essa pesquisa teve por objetivo analisar a estrutura urbana da Comunidade de Pesca da Praia Grande e as demandas dos moradores e dos pescadores. A escolha do local se faz necessária devido ao abandono destes moradores por parte da Prefeitura Municipal de Niterói, principalmente nos processos de construção dos planos de reurbanização e requalificação de áreas costeiras da região central da cidade.

A região em questão se encontra em um local que sofreu inúmeras transformações, principalmente físicas e sociais. Estas transformações iniciaram-se após dois grandes fatos que catalisaram e impulsionaram estas e outras modificações urbanísticas, econômicas e antropológicas em toda a cidade: a construção da Ponte Costa e Silva que ligou o município ao Rio de Janeiro, sendo um intenso catalisador da expansão imobiliária, tornando-se a 5ª maior população do Estado do Rio de Janeiro (IBGE, 2018) e do aterro da Praia Grande, ocorridas no início da ditadura militar no Brasil (1964-1985).

A Colônia de Pescadores da Praia Grande foi fisicamente afetada também pela construção do terminal rodoviário presidente João Goulart e posteriormente pelo caminho Niemeyer. A primeira intervenção com o apelo de mobilidade urbana e a outra com o apelo da importância arquitetônica, cultural e turística para a cidade. Esta última intervenção está inclusive amparada pela Lei Municipal nº 2411/06 que regulamenta a área de especial interesse urbanístico do Caminho Niemeyer, nos termos da Lei 1.967/02 - PUR das praias da baía e dá outras providências para reabilitação urbana do centro de Niterói.

Antes da implementação destas intervenções, a Praia Grande era considerada a maior praia da Baía de Guanabara. Esta especulação imobiliária e obras públicas construídas e citadas acima, exerceram pressões que deslocam, comprimem, ou retiram os espaços antes ocupados pela população tradicional. Seguindo esta linha, temos os povos e comunidades tradicionais diretamente afetados, e principalmente, há os problemas sociais da perda de identidade cultural do conhecimento tradicional e o abandono da principal atividade econômica. Por fim, o da própria localidade.

Em tese, a região em si se transformou para atender a estas e outras demandas referentes ao progresso e melhor adequação aos interesses do Estado, atuando principalmente nos bairros periféricos a vila de pescadores da Praia Grande, incentivando o desenvolvimento de práticas comerciais. Surge assim, a sensação de invisibilidade social por parte destes moradores,

consolidando situações de inferiorização de atividades como a pesca artesanal e outras atividades similares de pequeno porte que outrora eram de grande relevância e importância a cidade.

Assim, esta pesquisa baseou-se no estudo da Lei no. 3385 - Plano Diretor de Niterói - reformulado e aprovado em janeiro de 2019, contraponto diretrizes e decretos existentes no plano recém-aprovado com ações práticas e efetivas na Vila de Pescadores da Praia Grande. Plano este que tem como finalidade: definição de um caminho a ser percorrido para que se alcance um objetivo ou um conjunto de objetivos. Esse caminho é percorrido através de ações que devem ser tomadas pelos diversos atores que participam do desenvolvimento urbano. Portanto, o plano diretor deve indicar quais são essas ações, e como elas se integram para constituir o caminho que nos leva da situação atual à situação desejada (SABOYA, 2006).

O fator motivador para esta análise se baseia na situação estrutural da fonte de renda da vila: a pesca. A estrutura atual se encontra aquém do necessário e fundamental para a prática da ação e das condições inadequadas de limpeza e balneabilidade da Baía de Guanabara. A atividade pesqueira nesse corpo hídrico vem sendo afetada pela falta de políticas públicas de saneamento e gestão adequada dos resíduos sólidos nos municípios do entorno da Baía, que resultam em intensa poluição desse ecossistema e de seu entorno.

Para alcançar tal objetivo, o artigo está estruturado em cinco partes. Além desta introdução, a segunda seção trata do Referencial teórico sobre a lei municipal que regulamenta o crescimento e o funcionamento dos municípios, com foco sobre o Plano Diretor de Niterói. Em seguida apresenta-se os caminhos metodológicos para execução do estudo, e a análise da situação da Vila de pescadores da Praia Grande. Por fim, as considerações finais do estudo com algumas sugestões de ações futuras.

## **1 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **1.1 Plano Diretor Municipal**

“O Plano Diretor é uma lei municipal que deve ser elaborada com a participação de toda a sociedade. Ele organiza o crescimento e o funcionamento do município. No Plano está o projeto de cidade que queremos. Ele planeja o futuro da cidade decidido por todos” (INSTITUTO PÓLIS, 2006, p. 02). Segundo o Instituto Pólis (2006), o plano vale para todo o território, seja este urbano ou rural, e tem por característica a capacidade de criar diretrizes que possam orientar o desenvolvimento urbano do município. Estas diretrizes são desenvolvidas através da aplicação do Estatuto da Cidade (Lei no. 10.257/2001) e da participação da

comunidade, evocando suas demandas e necessidades em assembleias e audiências públicas abertas, a partir da participação de lideranças dos diferentes segmentos da sociedade (governo, empresas, sindicatos e movimentos sociais).

O Estatuto da Cidade é uma lei federal (Lei Federal no 10.257/2001) que diz como deve ser feita a política urbana em todo o país. Seu objetivo é garantir o Direito à Cidade para todos e, para isso, traz algumas regras para se organizar o território do município. É ele que detalha e desenvolve os artigos 182 e 183 do capítulo de política urbana da Constituição Federal (INSTITUTO PÓLIS, 2005, p. 02).

De acordo com o Instituto Pólis (2005), o Estatuto da Cidade tem suas diretrizes e princípios oriundos da Constituição de 1988 e sua existência se torna um marco legal no desenvolvimento e planejamento das cidades. O estatuto definiu também a obrigatoriedade da elaboração de um plano diretor para todos os municípios com população acima de 20 mil habitantes, que façam parte de regiões metropolitanas, que sejam áreas de potencial turístico e/ou tenha em sua localidade obras que coloquem em risco o meio ambiente ou que impactam a região como aeroportos, barragens, rodovias e hidrelétricas. Outra determinação do estatuto é que caso o município já possua um plano diretor por mais dez anos, este deve ser atualizado. E se o município não se enquadre nas determinações acima e queira elaborar um plano diretor, essa cidade pode também desenvolver um, mas, sem a obrigatoriedade da revisão a cada dez anos.

O plano diretor é um projeto de cidade no que tange aos seus aspectos físico-territoriais, elaborado pelo Poder Executivo Municipal, sob a responsabilidade técnica de um arquiteto urbanista com a participação de uma equipe interdisciplinar, em um processo de planejamento participativo. Além disso, o plano diretor deve ser aprovado pela Câmara Municipal, com o que obtém eficácia de vinculação jurídica em face dos atores públicos e privados que concorrem na produção e transformação do espaço urbano (MINISTÉRIO PÚBLICO DO PARANÁ, 2016, p. 03).

O Ministério Público do Paraná (2016) define o plano como um conjunto de fatores e atores que trabalham na esfera pública e privada, movimentando diversas classes de profissionais para que se tenha valor técnico e legal em cada princípio proposto. Os arquitetos e urbanistas surgem como atores responsáveis pelo olhar conceitual e técnico, na elaboração das diretrizes. Estes têm em sua formação o conhecimento necessário para dosar entre a necessidade da população e do Estado, além da capacidade de planejar a médio e longo prazo ações urbanas que impactam diretamente na comunidade.

A prefeitura e os vereadores têm papéis de extrema importância na construção e aprovação deste plano. O poder executivo local elabora junto a profissionais como os arquitetos e urbanistas, enquanto os representantes do poder legislativo têm por função aprovar este conjunto de regras, parâmetros, incentivos e instrumentos para o desenvolvimento do município. Cabe ressaltar também o importante papel da comunidade através de representações e sindicatos, que possuem a missão de expor, comunicar e reivindicar suas necessidades e demandas a estes outros atores.

A Constituição do Brasil estabelece no § 1º do artigo 182 que o plano diretor: 1) é o instrumento básico da política de desenvolvimento e expansão urbana; 2) deve ser aprovado pela Câmara Municipal. Por seu turno, o § 2º do artigo 182 incumbe ao plano diretor definir as exigências fundamentais de ordenação da cidade que delineiam o cumprimento da função social da propriedade urbana. Na mesma linha, o Estatuto da Cidade (Lei Nacional n. 10.257/2001), no § 1º do artigo 40, também estabelece que o plano diretor é o instrumento básico da política de desenvolvimento e expansão urbana, sendo parte integrante do processo de planejamento do Município, devendo o plano plurianual, as diretrizes orçamentárias e o orçamento anual incorporar as diretrizes e prioridades nele contidas (MINISTÉRIO PÚBLICO DO PARANÁ, 2016, p. 4).

Segundo o Ministério Público do Estado do Paraná (2016), o plano diretor tem como uma de suas principais atribuições a questão do cumprimento da função social da propriedade urbana e a integração de instrumentos de planejamento e orçamento, definido na Constituição de 1988. É de extrema necessidade a união de outros setores e áreas para desenvolver este plano pois, os fatores econômico, político, social e urbano devem ser trabalhados em conjunto, pois o plano deve guiar o uso dos investimentos. Assim, cada município terá um plano diretor distinto dos demais municípios, em consequência das demandas, orçamentos e características morfológicas, estruturais e sociais distintas.

Conforme explica o Instituto Pólis (2006), cabe ao plano diretor, definido pelo Estatuto da Cidade, pressionar as propriedades privadas e públicas a cumprirem sua função social, através de instrumentos urbanísticos legais como mapas, levantamentos técnicos e decretos para cada área do município. Este mapeamento ocorre ao longo do período de vigência do plano, e em sua renovação, apresenta-se soluções e determinações de médio e longo prazo para uso do solo como: expansão ou retração de áreas de proteção ambiental; inclusão ou exclusão de regiões de interesse social para proteção de comunidades e atividades de caráter artesanal ou com grande valor histórico; aplicação de determinações legais com caráter urbano (desapropriação, remoção, proibição, multas, Outorga Onerosa de construir e taxas sobre ocupações do solo). Ainda

conforme ao Instituto Pólis (2006), o plano diretor tem a importante função de determinação do melhor uso do solo, garantindo espaços de uso coletivo como: escolas, creches, praças, hospitais; proporcionar assim o suporte urbano no quesito social, econômico e cultural a todos, principalmente a famílias de baixa renda.

De acordo com o Instituto Pólis (2005), tanto o Conselho Nacional das Cidades (órgão Federal eleito nas Conferências das Cidades, cuja função é ser um conselho de representação a diversas entidades como: movimentos populares, prefeituras, ONGs e outros grupos) quanto o Estatuto da Cidade atuam na elaboração e implantação de políticas nacionais de desenvolvimento urbano e que estas, sejam introduzidas e executadas pelos planos diretores. Atuam como uma fonte alimentadora para que os municípios possam desenvolver planos capazes de promover a todos os seus moradores moradia, acesso a serviços vitais como água, luz, saneamento básico, a preservação dos meios naturais e outros direitos que todo cidadão tem. Suas decisões e resoluções são normativas, assim devem ser cumpridas.

Vale ressaltar por fim, a importância da elaboração de um plano diretor e a execução deste, para que não seja apenas um instrumento de apenas consulta. É através deste plano que a população pode reivindicar direitos e vê-los sendo normatizados pela esfera pública e o próprio poder público tem um instrumento de normatização capaz de planejar o crescimento e desenvolvimento do município de forma eficiente e respeitando e gerindo interesses e necessidades de inúmeros setores. Veremos a seguir como a ausência de um plano diretor bem elaborado e executado podem interferir no desenvolvimento de áreas de suma importância para o município de Niterói e como os dois últimos planos elaborados nesta cidade podem contribuir para reorganizar a malha urbana e planejar diretrizes e reivindicações da comunidade a médio e longo prazo.

## **1.2 Plano Diretor de Niterói**

Segundo DAPP/FGV (2015), o município de Niterói, na região Metropolitana do Rio de Janeiro foi fundado em 1573, sendo uma das mais importantes cidades fluminenses. Nos séculos XVII e XVIII, com o nome de Vila da Praia Grande. A vila dos pescadores da Praia Grande tem vital importância na história do desenvolvimento urbano e social do município de Niterói, sendo o local de destaque na produção sucroalcooleira e principalmente da pesca, nos séculos XVII e XVIII. O princípio de povoação deu-se na área costeira, atualmente regiões como Icaraí, Jurujuba e a própria faixa litorânea da Praia Grande. Cabe ressaltar, que nesse período esta região era preservada em sua totalidade, pois atualmente ocorreu uma série de modificações como aterramentos e degradação dessa faixa litorânea.

O aterro do Praia Grande é possivelmente a maior intervenção urbana contemporânea no Centro de Niterói. Foi concebido em 1940 e fazia parte de um plano que visava o melhoramento da cidade. Sua origem data de 1940, quando da assinatura do Decreto-Lei 2.441 pelo Presidente Getúlio Vargas (PREFEITURA DE NITERÓI, 2006, p. 02).

Figura 1: Vista geral da cidade de Niterói - 1940



Fonte: Foto do acervo Almiro Baraúna

Segundo a Diretoria de Análise de Políticas Públicas da Fundação Getúlio Vargas (2015), teve um plano para povoação e construções de edificações em 1819. Este plano tinha como referência a cultura renascentista da época e sua principal característica era a ortogonalidade. Buscava-se a organização através do desenho em malha, simetria e abertura de grandes vias de acesso e edificações com testada estreita e grande profundidade, gerando fachadas contínuas e baixo gabarito.

Ainda conforme o DAPP/FGV, em 1940 planejou-se o aterro da Praia Grande para criar uma grande planície sobre o “water-front”, uma expansão do litoral, situado entre os morros da Armação e do Gragoatá. Foram inúmeras as interrupções nas obras ao longo dos anos, somente em 1967 a prefeitura aprovou um plano para lotear a região, no RGI (registro geral de imóveis). Cabe ressaltar que esta área era dividida em aterro norte e sul, sendo o sul

aquele ocupado pela construção do campus da Universidade Federal Fluminense e o Norte, atualmente ocupado pelo caminho Niemeyer, terminal rodoviário João Goulart e que faz divisa com a vila dos pescadores da Praia Grande. Ressalta-se também a solução jurídica em tornar todo esse aterro em área “non aedificandi” para combater o interesse do setor privado e não permitir desapropriações.

Após vários anos de embates judiciais, no início da década de 1970 o governo estadual investe e inicia as obras do aterro, que entre 1971 e 1974, estiveram a cargo da Companhia de Desenvolvimento e Urbanismo do Estado do Rio de Janeiro (CCHLA/UFRN, 2006, p. 05).

De acordo com o Projeto Viva Centro (2006), firmado sobre a lei 2411/2006 - Regulamentação da Área de Especial Interesse Urbanístico do Caminho Niemeyer - a intenção de todas estas obras e planos foi tornar o município de Niterói em uma cidade Moderna, e por isso, chamou-se arquitetos que tinham como filosofia de trabalho, obras e críticas de cunho modernistas, como Oscar Niemeyer e Sérgio Magalhães. Para tal, foi necessárias inúmeras modificações na estrutura urbana da região, como a construção de terminais viários urbanos, aberturas de grandes vias de acesso, centros de cultura e lazer, a própria construção da UFF e outras obras de infraestrutura urbana.

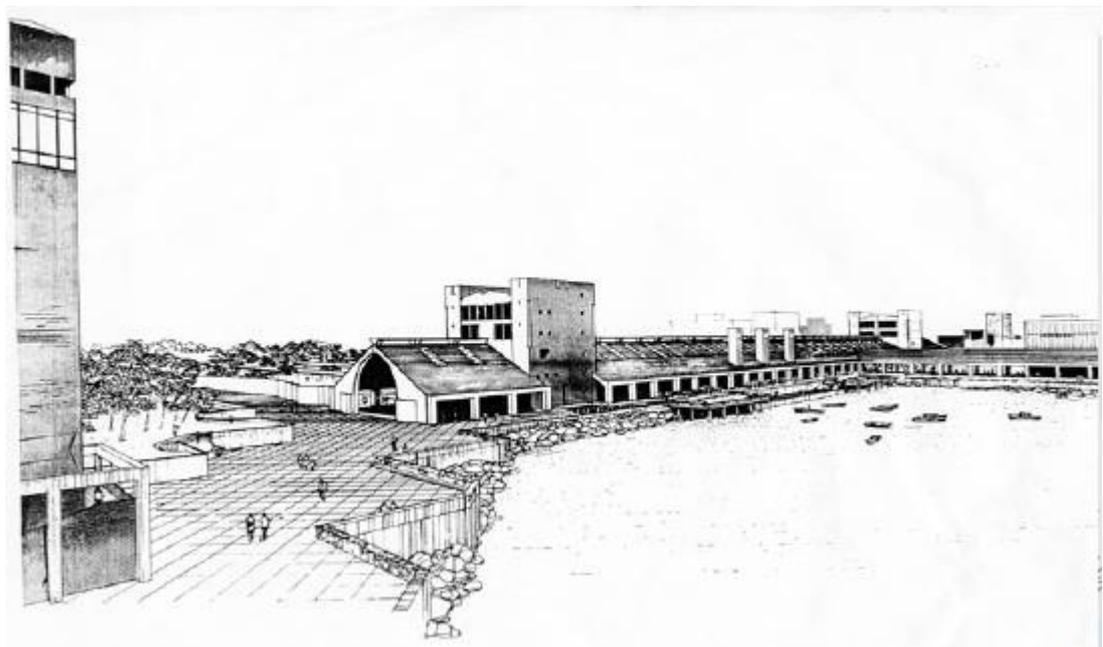
Entre 1977-1982, implantou-se os Terminais Urbanos Juscelino Kubistchek de Oliveira e Agenor Barcelos Feio (respectivamente Norte e Sul), “suprimindo e implantando novas vias e configurando assim, modificação no projeto de arruamento antes aprovado”. Durante a sua administração a Prefeitura deu seu “nada-a-por” ao pedido de aforamento da SETAL junto ao SPU (CCHLA/UFRN, 2006, p. 09).

Figura 2: Terminal Terminais Urbanos Juscelino Kubistchek de Oliveira - 1986



Fonte: Acervo Almiro Baraúna

Figura 3: Revitalização da Orla do Centro de Niterói, 1991-1996 (Perspectiva Isométrica. Projeto de João Sampaio e Sérgio Magalhães)



Fonte: Projeto Viva Centro (2006).

Ainda segundo com o Projeto Viva Centro (2006), a área denominada aterrado norte era considerada um grande vazio urbano, situado bem na área nobre do bairro Centro do município. Assim, iniciou-se entre os anos de 1983 e 1988, tentativas de projetos neste grande vazio e a primeira tentativa foi uma vila olímpica com a construção de um conjunto de quadras cobertas e descobertas. Após este projeto, ampliaram a via de acesso adjacente ao terreno (Avenida Visconde do Rio Branco) e projetaram um novo terminal rodoviário entre os anos de 1991 a 1996, obra dos arquitetos João Sampaio e Sérgio Magalhães.

No final da década de 90 a Prefeitura de Niterói encomendou ao arquiteto Oscar Niemeyer um grande projeto urbano, constituído por um conjunto de prédios culturais e religiosos, um terminal hidroviário e 4 torres de uso misto. A esse conjunto se deu o nome de “Caminho Niemeyer”, que originalmente compunha-se de obras projetadas por Niemeyer que se estenderiam desde o Museu de Arte Contemporânea até o Aterrado Norte, mas diversas alterações na concepção original foram realizadas até iniciar-se a sua materialização (CCHLA/UFRN, 2006, p. 14).

Para o Projeto Viva Centro da Prefeitura de Niterói (2006), o caminho Niemeyer possui edifícios de caráter cultural, social e coletivo como o Teatro Popular, a Fundação Oscar Niemeyer, a praça JK, a estação hidroviária e o próprio Museu de Arte Contemporânea. Com todas essas obras, ainda permaneceu o vazio urbano e principalmente ao afastamento ao restante do município, sua vizinhança se encontra subutilizada ou sem relação de conexão, proximidade para com o caminho. A vila de pescadores da Praia Grande é um bom exemplo desta vizinhança desconexa e desigual de atenção, proteção e manutenção por parte da Prefeitura.

“O Plano Diretor de Niterói é aprovado em 1992 (lei 1157/92) e se propõe a criação das APA-Us, Áreas de Proteção do Ambiente Urbano, a saber, Centro, Ponta Areia, e Boa Viagem/Gragoatá/São Domingos” (DAPP/FGV, 2015, p. 05). Tal qual o DAPP/FGV (2015) cita em seu artigo, o primeiro plano diretor da cidade é aprovado no começo da década de 90 pelo então prefeito Jorge Roberto Silveira. A missão era desenvolver a estrutura urbana e promovendo seu desenvolvimento de forma planejada e ordenada, para que o município possa ser tornar uma região atrativa ao setor privado e com ênfase no setor cultural, construindo uma identidade urbana única ao local. O plano foi desenvolvido pelo Departamento de Patrimônio e de caráter preservacionista, exemplo seria o congelamento de mais de 1800 imóveis no centro histórico, na região central da cidade.

Atualmente os esforços da Prefeitura são para integrar o Caminho ao restante do bairro e principalmente, revitalizar essa área através do remembramento de lotes subutilizados ou

degradados. A OUC (operação urbana consorciada) é uma iniciativa da Prefeitura em reestruturar e requalificar estes espaços livres no bairro Centro, visando a melhoria na qualidade de vida, a sustentabilidade ambiental e socioeconômica.

Um dos desafios da OUC é a integração do Caminho ao Centro e para tal a operação permite a alteração da morfologia urbana, promovendo o remembramento de lotes para viabilização de construção de grandes volumes. Essa medida, como foi dito, infringe o PUR das Praias da Baía, no que se refere à proteção do ambiente urbano e aos centros de quadras. Observa-se, no projeto, o estímulo à construção de grandes torres no Aterro da Praia Grande, permitindo-se edificações com mais de 50 metros de lado e com até 46 pavimentos, nas quadras vazias situadas entre o Caminho Niemeyer e o Centro, mencionadas no item anterior, e na Praça Araribóia, onde se localiza a estação das barcas que fazem a travessia na baía. Não é difícil imaginar que esse ‘paredão’ entre o centro da cidade e o Caminho Niemeyer não apenas iria afastar ainda mais o niteroiense do mar, como do próprio complexo arquitetônico, com impactos sobre a circulação de ar e a incidência de luz (FGV/DAPP, 2015, p. 10).

“A discussão de um novo centro passa por diferentes dificuldades a serem enfrentadas, e a solução deveria ser decorrente da discussão com a própria população e não apenas com os empreendedores da construção civil” (DAPP/FGV, 2015, p. 15). Ressalta-se neste contexto a invisibilidade da vila de pescadores da Praia Grande em todos os processos, planos e intervenções da prefeitura, cuja único olhar volta-se para regiões vizinhas em franca expansão e revitalização.

A cidade de Niterói teve em sua história dois planos diretores oficiais que serviram de base para organização urbana: Leis nº 1157 de 29/12/1992 e nº 2.123 de 04/02/2004. Estas foram revogadas por conta da aprovação da nova lei nº 3385 de 21/01/2019, novo plano diretor do município, elaborado e divulgado pela Procuradoria Geral do município de Niterói.

## **2 METODOLOGIA**

A pesquisa se inicia a partir da coleta de informações, reportagens, artigos e dados sobre a região estudada e referências de regiões semelhantes a esta, para embasar qualquer proposta ou argumento. Em um primeiro momento, a análise das leis e planos que vigoram e atendem o local será de suma importância para que se descubra a margem de ação e obrigações e deveres por parte do Estado para com os moradores, atento sempre ao grau de satisfação e demandas existentes da comunidade.

O segundo passo é o levantamento técnico geral e genérico do local, mediante contato e aprovação dos moradores, através de fotos, anotações, desenhos técnicos e croquis para saber dimensionar, determinar e propor qualquer ação ou argumento com maior exatidão. Após levantamento e análise destes dados, deve-se pensar em soluções e/ou intervenções no local, de curto e/ou médio prazo e de pequeno porte. Alguns exemplos seriam: projetar um local para armazenamento do lixo recolhido na baía de Guanabara, para revenda a cooperativas e um projeto de reforma do píer.

### **3 ANÁLISE**

#### **3.1 Situação (Atual) Urbana e Estrutural Comunidade de Pescadores da Praia Grande**

A vila dos pescadores da Praia Grande se localiza em uma pequena faixa ocupada as margens da Baía de Guanabara, fazendo divisa com o Caminho Niemeyer e com seu acesso em frente ao terreno do hipermercado Carrefour. Uma área ocupada de forma desordenada e natural, sem um plano ou um pré-projeto urbano, em uma região de complicado acesso e pouca visibilidade e apoio do Estado.

Analisando seu entorno, verifica-se a ausência de suporte e logística no quesito mobilidade urbana pois, a vila não possui parada de ônibus e outros meios de transporte coletivo ofertados pela prefeitura, tendo que se deslocar a pé até o terminal rodoviário João Goulart (cerca de 1km de distância). Este trajeto não possui iluminação adequada e segurança, sendo uma trajetória de pouca circulação de pessoas, devido ao número de terrenos subutilizados e vazios (Figura 4). O passeio público é relativamente novo, em termos de revitalização da pavimentação - muito decorrente das obras do caminho Niemeyer - porém não possui conexão com a pavimentação da entrada e de toda a vila dos pescadores, que se encontra irregular e necessitando de manutenção e revitalização (Figura 5).

**Figura 4: Circulação externa**



Fonte: Acervo pessoal.

**Figura 5: Pavimentação regular do passeio**



Fonte: Acervo pessoal.

Em relação a ocupação e povoamento, os moradores da vila da Praia Grande possuem habitações geminadas, com pequeno espaçamento para circulação (cerca de 1,00 metro de largura), inúmeras casas apenas com o conjunto básico habitacional: quarto, sala, cozinha e banheiro, em proporções mínimas, e com baixo acabamento em suas fachadas (Figura 6). Além das habitações simples, possui pequenos comércios (bares), uma capela - está com dimensões mínimas, sem mobiliário fixo ou local para permanência interna - (Figura 7) e uma praça com aproximadamente 85 metros quadrados. Para acessar a praça e a faixa litorânea da Praia Grande, a vila tem um corredor central de acesso (utilizado também como estacionamento para veículo dos moradores) com iniciais 8,90 metros de largura e 4,60 metros de largura para circulação interna da vila, conectando a entrada e a praça (Figura 8).

**Figura 6: Fachada das casas e comércios locais**



**Fonte:** Acervo pessoal.

Figura 7: Fachada da Capela de São Pedro



Fonte: Acervo pessoal.

Figura 8: Circulação interna da vila



Fonte: Acervo pessoal.

A praça (Figura 9) se situa como única área de convivência do local, com 6 grupos de bancos e mesas de concreto como mobiliário urbano, com largura e comprimento geral de 7,40 metros e 10,60 metros respectivamente. Esta área de convivência possui estratos vegetativos

arbóreos, criando áreas de sombra agradáveis, tendo um pequeno comércio ao seu lado, como suporte à comunidade e sendo a base da interação social do local (Figura 10).

**Figura 9: Praça e seu mobiliário**



Fonte: Acervo pessoal.

**Figura 10: Comércio local**



Fonte: Acervo pessoal.

O acesso à praia (Figura 11) se apresenta extremamente deteriorado, proporcionando dificuldade de locomoção e deslocamento até o píer e toda a faixa litorânea da Praia Grande

remanescente. Nesta área há inúmeros problemas estruturais e de salubridade, pois em quase toda sua extensão há embarcações ou parte delas abandonadas, criando inúmeros pontos de acúmulo de água pluviais e de lixo. Este acúmulo gera proliferação de doenças e áreas subutilizadas pelos moradores para lazer e aproveitamento dos meios naturais. Outro grande problema levantado pelos moradores, são as duas saídas de esgoto existentes nesta região (Figura 12), sendo a principal construída com seus desejos e fluidos despejados pelo grupo Carrefour - situação que se agrava em dias de chuva, criando “línguas negras” - e a secundária, na ponta extrema da praia, tendo sua origem e responsável desconhecido pelos pescadores.

**Figura 11: Acesso ao píer**



**Fonte:** Acervo pessoal.

Figura 12: Detalhe saída do esgoto



Fonte: Acervo pessoal.

O principal elemento construtivo utilizado e necessário aos pescadores é o píer. Este píer se encontra com problemas sérios estruturais (Figura 13), necessitando urgentemente de manutenção ou um novo projeto e construção deste equipamento. Atualmente conta com um em formato de L, tendo 3,00 metros de largura, aproximadamente 1,00 metro de altura e 45 metros de comprimento (do acesso inicial até a área de embarque) e possui inúmeras áreas com instabilidade estrutural e acúmulo de materiais e equipamentos como: pedaços de madeira de tamanhos distintos e equipamentos de carga e descarga (Figura 14). Há ainda, próximo a praça e aos barcos ancorados na praia (para manutenção ou abandonados), um espaço construído, semelhante às habitações existentes, de concreto armado com aberturas de pequena dimensão, para armazenamento da produção e de equipamentos.

**Figura 13: Estrutura do píer**



**Fonte:** Acervo pessoal.

Figura14: Detalhe do píer



Fonte: Acervo pessoal.

### 3.2 Impactos da Atualização do Plano Diretor de Niterói na Comunidade de Pescadores da Praia Grande

O plano diretor (Lei no. 3385 - Plano Diretor de Niterói) vigente apresenta modificações para com o anterior, onde categoriza esta região como área de especial interesse pesqueiro e elabora diretrizes e ementas para valorizar e dar suporte a estas regiões e atividades praticadas nesta comunidade. Ementas que procuram incentivar e capacitar estes pescadores e moradores, dando-lhes a oportunidade de demonstrar a qualidade e importância de sua função, ouvindo suas demandas e necessidades e incentivando também práticas solidárias e coletivas.

II – Incentivar a Economia do Mar, tanto no que se refere às atividades intensivas em capital e de grande escala, como pesca industrial, processamento de peixe, indústria naval e serviços portuários de apoio náutico, quanto às atividades de menor escala, como pesca artesanal ou de pequeno porte, turismo relacionado à praia, prática de esportes náuticos, cultivo de mexilhões, mercado de peixes, entre outros.

VI – Consolidar e capacitar as colônias de pescadores e as entidades representativas dos pescadores profissionais, promovendo as ações necessárias ao reconhecimento, regularização e profissionalização, viabilizando a instalação de infraestrutura adequada e acessível para operação e comercialização do pescado (PROCURADORIA GERAL DO MUNICÍPIO DE NITERÓI, 2019, p. 14).

Cabe ressaltar que estas diretrizes apenas representam uma perspectiva futura de melhoria, valorização da região e da atividade pesqueira, cuja prática, a situação ainda se encontra necessitando desta atenção e apoio por parte do poder público. Porém, através destas novas diretrizes se ratifica uma movimentação maior por parte do Estado em investir na região e principalmente, uma pequena conquista por parte dos moradores em terem direitos semelhantes a outras vilas de pescadores existentes em Niterói. Será nesse ponto que o trabalho se submeterá para propor soluções e alternativas que sejam embasadas neste novo plano diretor.

Considerando a situação atual de baixa atenção e apoio por parte do Estado à vila dos pescadores da Praia Grande, a Lei no. 3385 - Plano Diretor de Niterói - surge como uma possibilidade de investimento e desenvolvimento da região e da principal atividade praticada no local: a pesca. O incentivo à prática artesanal da pesca na vila, além da afirmação de apoio e suporte a esta atividade, através de diretrizes, possibilita o desenvolvimento de uma área de importância histórica ao município de Niterói e seus moradores. Além destas diretrizes apresentadas, há outras demandas e necessidades por parte dos moradores da vila da Praia

Grande como suporte nas áreas de vital importância como: tratamento do esgoto e dos resíduos despejados na baía e na orla da praia; além da execução da manutenção de elementos essenciais a prática da pesca como o píer; melhor distribuição e fornecimento de estrutura urbana (deslocamento, áreas de convívio e de lazer, serviços básicos como: distribuição de água, energia e tratamento do esgoto);

Através deste trabalho, foi levantado estas demandas dos moradores e a necessidade de executar essas diretrizes do novo plano diretor de Niterói, pôr em prática ações de incentivo à reciclagem, prática a atividade da pesca e outras atividades para melhorar a qualidade de vida dos pescadores, e principalmente qualificando-os para novas frentes de trabalho sustentáveis e que ajudem a solucionar algumas situações e problemas levantados da vila de Praia Grande.

Acredita-se que com o apoio do Estado na qualificação e atendimento aos moradores da vila e a execução destas obras de caráter emergencial (como a reforma do píer e limpeza e tratamento da Praia Grande), a região possa se desenvolver e diminuir a invisibilidade social que se apresenta no atual momento, por parte dos moradores para com o restante do município e a vizinhança de grande apelo econômico e cultural.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O desenvolvimento do presente estudo possibilitou uma análise com ênfase urbanística e estrutural da vila dos pescadores da Praia Grande de Niterói, região esta que se encontra com baixo suporte e atenção por parte do poder público. Analisando as demandas da comunidade e o histórico de atuação e planejamento urbano por parte do Estado, levantando a situação estrutural atual do local e dissecando o novo plano diretor da cidade, com o intuito de encontrar meios e formas de auxiliar o desenvolvimento da vila e da sua principal atividade - a pesqueira.

Após todas estas análises e pesquisas aqui apresentadas, vemos neste novo plano diretor, uma maior atenção e incentivo a pesca artesanal e principalmente, o reconhecimento desta vila da Praia Grande como uma zona de especial interesse social (assim como ocorre nas demais colônias de pescadores de Niterói). Incentivos estes que são diretrizes para futuras ações de apoio à prática da pesca artesanal e a qualificação destes moradores em ações de cunho socioambiental como a reciclagem e a limpeza da Baía de Guanabara.

Porém, atualmente a vila tem outras demandas mais como a sua própria estrutura e o fornecimento de serviços vitais e essenciais a vida como: tratamento de água, esgoto; fornecimento de água e energia elétrica e equipamentos coletivos e sociais. Em visita ao local,

constatou-se estes aspectos citados acima, e principalmente, a necessidade da manutenção ou restauro destas estruturas vitais a prática da pesca, como o píer.

A principal e mais urgente medida de intervenção seria a reforma do píer, através de um anteprojeto base, adequando às demandas dos pescadores com o local que este for executado. O píer atual se encontra em situação precária, e para tal reforma, seriam necessárias algumas decisões de projeto e compra de materiais como: elaboração de uma estrutura do tipo fixa, formato em L, mantendo as mesmas medidas do atual, aquisição de doações (por conta do caráter social da vila da Praia Grande – podendo ser do setor público ou privado – de materiais ou de dinheiro) e limpeza e retirada dos entulhos e resíduos encontrados na orla da Praia Grande.

Uma possibilidade seria a realização de um mutirão da comunidade e de outras sociedades e associações para limpeza de toda a orla e construção de uma nova estrutura para o píer (troca das articulações amarrações de madeira existentes) e troca e/ou colocação de novas placas e tábuas de madeira ao longo do trajeto do píer. Com essas ações coletivas, acredito que a comunidade da vila dos pescadores ganharia não só na produção da pesca, como da própria valorização da identidade, melhorando toda a logística da parte pesqueira, como criar um novo ponto de contemplação e incentivar o comércio local com a vinda de visitantes e novos consumidores.

## REFERÊNCIAS

CAOP - HABITAÇÃO E URBANISMO MP-PR. *Planejamento Urbano*. Disponível em: [http://www.urbanismo.mppr.mp.br/arquivos/File/Planejamento\\_Urbano\\_Final.pdf](http://www.urbanismo.mppr.mp.br/arquivos/File/Planejamento_Urbano_Final.pdf). Acesso em: 15 nov. 2019.

CCHLA/UFRN. *Projeto Viva Centro Regulamentação da Área de Especial Interesse Urbanístico do Caminho Niemeyer – Lei 2411/2006*. Disponível em: [https://cchla.ufrn.br/dpp/wp-content/uploads/2017/10/2012\\_marcio\\_pinon\\_Projeto-Viva-Centro-Regulamenta%C3%A7%C3%A3o-da-%C3%81rea-de-Especial-Interesse-Urban%C3%ADstico-do-Caminho-Niemeyer-%E2%80%93-Lei-24112006.pdf](https://cchla.ufrn.br/dpp/wp-content/uploads/2017/10/2012_marcio_pinon_Projeto-Viva-Centro-Regulamenta%C3%A7%C3%A3o-da-%C3%81rea-de-Especial-Interesse-Urban%C3%ADstico-do-Caminho-Niemeyer-%E2%80%93-Lei-24112006.pdf). Acesso em: 15 nov. 2019.

COELHO, M. D. L; FERNANDES, J. D. M. Intervenções urbanas, identidade e apropriação do espaço em Niterói. *XVII Congresso Brasileiro de Sociologia*, Porto Alegre - RS, v. 1, n. 1, p. 1-18, jun./2015. Disponível em: [https://bibliotecadigital.fgv.br/dspace/bitstream/handle/10438/18151/Vers%C3%A3o%20na%20%C3%ADntegra%20do%20GT02\\_008.pdf%20-%20R1690-1.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://bibliotecadigital.fgv.br/dspace/bitstream/handle/10438/18151/Vers%C3%A3o%20na%20%C3%ADntegra%20do%20GT02_008.pdf%20-%20R1690-1.pdf?sequence=1&isAllowed=y). Acesso em: 15 nov. 2019.

PROCURADORIA GERAL DO MUNICÍPIO DE NITERÓI. *LEI Nº 3385 DE 21/01/2019*. Disponível em:

[http://pgm.niteroi.rj.gov.br/legislacao\\_pmn/2019/Leis/Lei%203385%20Plano%20Diretor.pdf](http://pgm.niteroi.rj.gov.br/legislacao_pmn/2019/Leis/Lei%203385%20Plano%20Diretor.pdf). Acesso em: 9 nov. 2019.

SANTORO, Paula Freire; CYMBALISTA, Renato; CARDOSO, P. D. M. *Plano Diretor: participar é um direito!* 1. ed. São Paulo: Instituto Pólis, 2005. p. 1-38.

**1 SILVA, Raphaela Reis Conceição Castro** é Professora de Gestão Pública do Instituto Federal do Rio de Janeiro. Doutora em Administração pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), na linha de pesquisa em Organizações, Sociedade e Desenvolvimento. Mestre em Administração pela Universidade Federal de Lavras (UFLA), na linha de pesquisa em Organizações, Gestão e Sociedade. Possui MBA em Gestão de Pessoas pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e especialização em Planejamento e Gestão de Educação a Distância pela Universidade Federal Fluminense (UFF). Os temas de interesse são: gestão pública, controle social e cidadania.

**2 SOUZA, Fernando de.** E-mail: [fdosouza11@gmail.com](mailto:fdosouza11@gmail.com)

# Projeto B20 – “Piracicaba no caminho da sustentabilidade”

BORTOLETO, Gisele Gonçalves  
GRAGNANI, Juliana Gonzalez  
SILVA, Letícia Furlan da  
PINTO, Renan Mercuri

## Resumo

O Brasil é um dos destaques mundiais em termos de produção e uso de biocombustíveis, ocupando, atualmente, a 2ª posição no ranking mundial tanto para a produção de etanol como de biodiesel. O biodiesel é um biocombustível biodegradável obtido de óleos vegetais ou de gorduras animais, e vem sendo utilizado como uma alternativa de substituição parcial ao uso dos derivados de petróleo, contribuindo com a redução dos impactos ambientais e diminuição da emissão de gases causadores do efeito estufa. Em nosso país, a adição de biodiesel ao diesel é mandatória e, desde março deste ano, todo o diesel comercializado contém 12% de biodiesel em sua composição recebendo a nomenclatura B12, de acordo com a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Para 2023 está previsto um aumento no mandatório para que toda a frota nacional opere com o B15, fundamentando estudos com diferentes percentuais de adições de biodiesel ao diesel, com o objetivo de se obter informações necessárias às tomadas de decisão sobre os abastecimentos de frotas futuras. Nesse estudo foram avaliados, na cidade de Piracicaba, durante 6 meses, os consumos de 6 ônibus movidos com diesel convencional (B11) e de 6 ônibus movidos com B20, onde cada carro do estudo e seu veículo de controle, operaram em linhas previamente definidas. Também se estimou a redução na emissão de CO<sub>2</sub>, por meio do volume do B20 utilizado no projeto, comparativamente ao volume do B11 utilizado para abastecer os carros controles. Os dados obtidos apontaram que houve redução considerável da emissão de CO<sub>2</sub>, mesmo com um pequeno número de ônibus que foram abastecidos com o B20. Espera-se em estudos futuros aumentar a frota de ônibus abastecidos com B20, para que novos dados possam ser gerados, e concomitantemente, maior redução de emissão de gases de efeito estufa possa ser alcançada.

**Palavras-chave:** biocombustíveis, biodiesel, fontes de energia renováveis, Piracicaba, B20.

## Abstract

Brazil is one of the world's biggest highlights regarding biofuels production and use, currently occupying the second position in the world ranking of ethanol and biodiesel production. Biodiesel is a biodegradable biofuel obtained from vegetable oils or animal fat, and has been used as a partial replacement alternative to the use of petroleum products, contributing to the reduction of environmental impacts and greenhouse gases emissions. In Brazil, the addition of biodiesel to diesel is mandatory and, since March this year, all diesel sold contains 12% biodiesel in its composition receiving the B12 nomenclature, according to the National Agency of Petroleum, Natural Gas and Biofuels (ANP). By 2023, an increase in the mandatory is expected for the entire national fleet to operate with the B15, supporting studies with different additions percentage in order to obtain the necessary information for decision making on future fleet supplies. In this study, the consumption of 6 buses powered by conventional diesel (B11) and 6 buses powered by B20 were evaluated in the city of Piracicaba, located in the Brazilian state of Sao Paulo, for 6 months, where each B20 car together with a B11 (control) operated on previously defined lines. The reduction in CO<sub>2</sub> emissions were also estimated, through the volume of B20 used in the project, compared to the volume of B11 used in control cars. Data analysis showed there was a significant reduction in CO<sub>2</sub> emissions, even with a small number of buses involved in the project. Thus, it is

expected in future studies to increase the fleet of buses fueled with B20, so that new data can be generated and analyzed, and concomitantly, a greater reduction in the greenhouse gas emissions can be achieved.

**Key-words:** biofuels, biodiesel, renewable energy sources, Piracicaba, B20.

### Resumen

Brasil es uno de los países más destacados del mundo en términos de producción y uso de biocombustibles; actualmente ocupa el segundo lugar en la clasificación mundial tanto para la producción de etanol como la de biodiesel. El biodiesel es un biocombustible biodegradable obtenido de aceites vegetales o grasas animales. Y se ha utilizado como una alternativa de reemplazo parcial al uso de productos derivados del petróleo, contribuyendo a la reducción de los impactos ambientales y la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero. En nuestro país, la adición de biodiesel al diesel es obligatoria y desde marzo de este año todo el diesel vendido contiene 12% de biodiesel en su composición que recibe la nomenclatura B12, según la Agencia Nacional de Petróleo, Gas Natural y Biocombustibles (ANP). Para el 2023, se prevé un aumento en la obligación para que toda la flota nacional opere con el B15, apoyando estudios con diferentes porcentajes de adiciones de biodiesel al diesel, con el objetivo de obtener la información necesaria para la toma de decisiones sobre futuros suministros de la flota. En este estudio, se evaluó durante 6 meses, el consumo de 6 autobuses que funcionan con diesel convencional (B11) y 6 autobuses que funcionan con B20 en la ciudad de Piracicaba, donde cada auto de estudio y su vehículo de control operaron en líneas previamente definidas. La reducción en las emisiones de CO<sub>2</sub> también se estimó, a través del volumen de B20 utilizado en el proyecto, en comparación con el volumen de B11 utilizado para suministrar los automóviles de control. Los datos obtenidos mostraron que hubo una reducción considerable en las emisiones de CO<sub>2</sub>, incluso con una pequeña cantidad de autobuses que fueron alimentados con el B20. Se espera que en futuros estudios aumente la flota de autobuses alimentados con B20, de modo que se puedan generar nuevos datos y al mismo tiempo, se pueda lograr una mayor reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero.

**Palabras clave:** biocombustibles, biodiesel, fuentes de energía renovables, Piracicaba, B20.

## **INTRODUÇÃO**

Ano após ano, as questões ambientais ganham força em temas como a independência de produtos derivados do petróleo visando a redução da emissão dos gases de efeito estufa. Nesse contexto, os combustíveis líquidos “limpos” alcançaram espaço ímpar dentre as fontes de energia renováveis disponíveis no mundo e o Brasil merece destaque mundial quanto a produção e uso de biocombustíveis, como o etanol e o biodiesel.

O biodiesel é um biocombustível biodegradável obtido a partir da reação de transesterificação de óleos (vegetais ou residuais) ou de gorduras animais com álcoois de cadeias curtas (metanol ou etanol). A reação, além do combustível, também resulta em glicerol como coproduto, que atualmente apresenta diversas aplicações (OLIVEIRA, 2007; SUAREZ, 2007; SANTOS, 2007).

Atualmente, todo o diesel comercializado no Brasil apresenta 12% de biodiesel em sua composição, devendo chegar em 15% até 2023 de acordo com a Resolução CNPE N° 16, de 29 de outubro de 2018 e o Despacho ANP N° 621, de 06 de agosto de 2019. Em 2030 essa porcentagem pode chegar a 20%. (ANP, 2020). Este panorama se deve principalmente ao RenovaBio, atual política nacional do país, que visa organizar e incentivar a produção de biocombustíveis além de atender as metas de redução de emissão de gases de efeito estufa, propostas pelo Brasil referente ao Acordo de Paris.

O trabalho “B20 – Piracicaba no caminho da sustentabilidade” teve como objetivo avaliar comparativamente, durante seis meses de estudo, na cidade de Piracicaba, o consumo do diesel convencional à época (B11) e do biodiesel B20, através de estatísticas descritivas e testes de comparação de variâncias, possibilitando estimar a influência do uso do B20 na redução de emissão do CO<sub>2</sub> em comparação ao diesel comum. Os dados obtidos destacam a importância de estudos nessa área, considerando tanto os possíveis ganhos técnicos e socioambientais.

## **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

O presente item apresentará uma revisão bibliográfica da literatura de biodiesel, abordando temas como: as definições, produção no mundo e no Brasil, história e sobre o RenovaBio.

### Breve História do Biodiesel

Durante a Segunda Guerra Mundial, as complicações na distribuição e produção do petróleo obrigaram muitos países a começarem a produzir seu próprio combustível através da utilização de óleos de origem vegetal. No entanto, com o fim da guerra em 1945, as pesquisas envolvendo as fontes alternativas de energia foram abandonadas devido à normalização da distribuição e produção do petróleo.

Os estudos envolvendo fontes alternativas de energia só ressurgiram com força a partir da década de 1970, devido à crise do petróleo, período em que os produtores mundiais de petróleo reduziam cada vez mais a produção e aumentavam freneticamente o preço. (BIODIESEL BR, 2009). Com isso, o biodiesel despontou durante o século XX, sendo relatado sucesso na utilização de óleos vegetais para produzir o combustível, no qual o próprio inventor do motor a diesel, Rudolf Diesel, atestou o sucesso do óleo de amendoim como combustível (KNOTHE, 2006).

No entanto, os óleos vegetais acabavam por tornar a vida das máquinas mais curtas sendo necessário realizar a manutenção dos equipamentos com mais frequência devido ao depósito de carbono que os óleos deixavam no motor. Por conta disso, foram realizados estudos até surgir à observação de que a glicerina deveria ser removida do óleo vegetal para que o mesmo se tornasse um combustível melhor para o motor a diesel (ENCARNAÇÃO, 2008).

Em 1988, quando as buscas se intensificaram, a palavra *biodiesel* foi usada pela primeira vez na história em um trabalho chinês e foi citado novamente em 1991, quando se disseminou pelo mundo (KNOTHE, 2006).

### Biodiesel

De acordo com a Lei 11.097, de 13 de janeiro de 2005, biocombustível pode ser definido como um combustível derivado de biomassa para o uso em motores a combustão interna, podendo substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil (CÂMARA DOS DEPUTADOS, 2005). Segundo as normas da ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis), o biodiesel pode ser utilizado sem a necessidade de realizar modificações em motores e podendo substituir o óleo diesel (AGUIAR, 2011; CONCEIÇÃO, 2011).

É caracterizado como uma mistura de ésteres de ácidos graxos, sendo produzido a partir da reação de transesterificação de óleo vegetal, óleo residual ou gordura animal junto com álcoois

de cadeia curta (metanol ou etanol), na presença de um catalisador que aumenta a velocidade da reação e do rendimento (BLUM, 2016; FRANQUITTO, 2016). Esse combustível pode ser utilizado tanto puro quanto em misturas, tendo sua nomenclatura empregada de acordo com a Blend (B), que significa mistura, e ao percentual de biodiesel presente na mistura (n). Ou seja, uma mistura que apresente 20% de biodiesel misturado ao diesel é denominada B20 e assim sucessivamente, até chegar ao B100 que é o biodiesel puro (AGUIAR, 2011; CONCEIÇÃO, 2011).

O uso do biodiesel embora ainda apresente algumas desvantagens técnicas aos motores, oferece uma série de vantagens econômicas e ambientais em relação ao petrodiesel, uma vez que reduz a emissão de gases poluentes e enxofre, minimiza gastos com saúde pública devido à redução de poluição, diminui a dependência de importações de derivados de petróleo por ser uma fonte alternativa de energia, dentre outras (AGUIAR e CONCEIÇÃO *apud* Portal do Biodiesel, 2010).

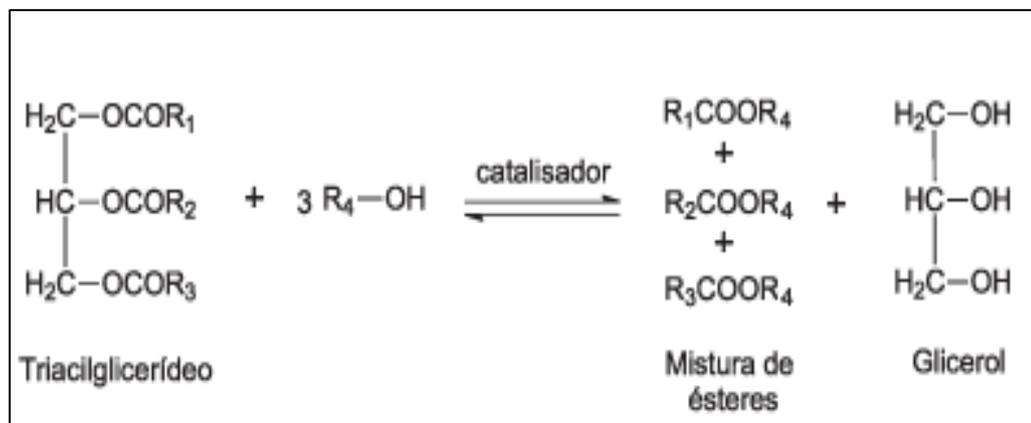
### **Processo de produção de biodiesel**

O belga George Chavanne, da Universidade de Bruxelas, foi o responsável pela descoberta do processo de transesterificação para produção de biodiesel, patenteando a descoberta em 1937 (BIODIESEL BR, 2009). Este processo consiste na reação de óleo ou gordura com um álcool de cadeia curta na presença de um catalisador, resultando em duas fases líquidas constituídas pelo biocombustível e por glicerina como coproduto.

A produção do biodiesel pode ser influenciada pelo tipo de catalisador, pela temperatura de reação, pela fração molar e tipo de álcool utilizado. Atualmente, embora seja possível empregar catalisadores ácidos, básicos ou enzimáticos nos meios reacionais, os mais empregados são os catalisadores básicos fortes, como hidróxido de sódio (NaOH), hidróxido de potássio (KOH) e metóxido de sódio (CH<sub>3</sub>ONa), já que promovem tempos de reação bem curtos quando comparado aos demais, além de serem pouco agressivos aos equipamentos e apresentarem baixos custos. Entretanto, a utilização de catálise básica possui limitações, uma vez que resulta na formação de sabão devido a neutralização dos ácidos graxos presentes no óleo, quando estes óleos apresentam elevados valores de AGL (ABREU, 2010; GUERRA, 2010; OLIVEIRA, 2010).

A reação de transesterificação básica está representada de acordo com a figura 1.

Figura 4: Equação geral de transesterificação.



Fonte: GERPEN et al. Manual do Biodiesel, 2006.

## Biodiesel no Mundo

Diferente do etanol, que é um combustível concentrado no Brasil e nos Estados Unidos, o biodiesel é produzido em diversos países do mundo apresentando sua própria legislação e estratégia comercial definida. O Brasil é o segundo maior produtor de biodiesel do mundo, porém existem outros países que o produzem em grande escala (BIODIESELBR, 2014).

Em 2019, a indústria de biodiesel alemã apresentou aumento de 7,9% nas vendas do combustível no mercado internacional e, de acordo com dados apresentados pelo Escritório Federal de Assuntos Econômicos e Controles de Exportações (BAFA, na sigla original), a Alemanha exportou e movimentou cerca de 2,66 bilhões de litros de biodiesel (BIODIESELBR, 2020).

Segundo a Administração de Informação sobre Energia (EIA), em 2019, as usinas dos Estados Unidos produziram cerca de 6,53 bilhões de litros de biodiesel, volume 7% menor que o produzido no ano de 2018 no qual a produção passou dos 7 bilhões de litros (BIODIESELBR, 2020). Na América do Sul, além do Brasil, Argentina e Colômbia também produzem o biodiesel.

A Indonésia é o maior produtor mundial de óleo de palma, representando cerca de um quinto de todo o óleo vegetal que o mundo produziu em 2019. Em termos do biodiesel, de acordo com o USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos), a Indonésia reveza o posto com o Brasil como segundo produtor mundial do combustível. Em 2018, o país produziu cerca de 5,6 bilhões de litros de biodiesel (BIODIESELBR, 2019) e no ano de 2019, a Indonésia aderiu a mistura obrigatória de biodiesel no óleo diesel de 20% para 30%, já que o país realizou

diversos testes em motores para validar o uso do B30. Segundo o Ministério de Energia e Recursos Minerais, os veículos que utilizaram o B30 apresentaram performance “relativamente similar” em relação aos que foram abastecidos com B20, que estava em utilização no país desde o começo de 2016 (RODRIGUES, 2019).

Outro país que está começando a evoluir a porcentagem de biodiesel na mistura do diesel é a Tailândia, que deve aumentar de 7% para 10% a adição de biodiesel ao óleo diesel a partir de 2020 (BIODIESELBR, 2019).

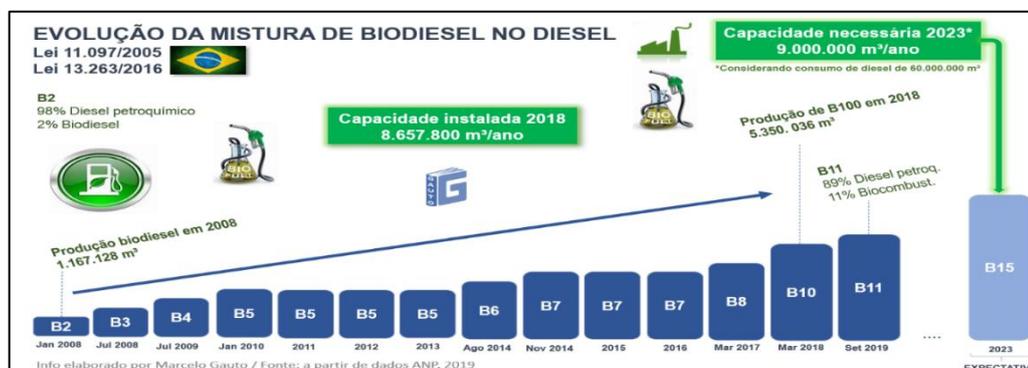
### **Evolução do Biodiesel no Brasil**

O Brasil é um país privilegiado por possuir clima tropical, muita luminosidade, temperaturas médias anuais e muitos recursos hídricos favorecendo, assim, o crescimento das mais variadas espécies vegetais que podem ser utilizadas na produção de biodiesel. O país é líder na produção de soja, que apesar de ter baixo índice de óleo em suas sementes, tem seu cultivo voltado para a ração animal, indústria alimentícia e produção de biodiesel. Na região norte, existem as opções da palma e babaçu para produzir o biocombustível, enquanto o sul apresenta as opções de soja, girassol e amendoim. Na região sudeste e no centro-oeste a mamona é a mais cultivada, pois é a melhor opção para o clima semiárido.

Em dezembro de 2004, o governo brasileiro lançou o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), com o objetivo de introduzir o biodiesel na matriz energética brasileira, de maneira sustentável, promovendo preços competitivos e qualidade. No entanto, somente no início de 2005, por meio da Lei nº 11.097/05, aprovada pelo Congresso Nacional em 13 de janeiro de 2005, começaram a introduzir o biodiesel na matriz energética brasileira com a mistura facultativa de 2% (BRASIL, 2011).

De acordo com as especificações técnicas definidas pela ANP, que aprova determinados percentuais para o uso no território brasileiro e que monitora a inserção desse “novo” combustível no mercado, em janeiro de 2008, a mistura de 2% (B2) se tornou legalmente obrigatória em todo território nacional até que, com o amadurecimento do mercado brasileiro, esse percentual foi evoluindo pelo CNPE até alcançar 10% (B10) em 2018 (SEBRA, 2007; URABIO, 2018). Hoje, a frota nacional é abastecida com B12 (ANP ou UBRABIO, 2020). A figura 2 mostra a evolução, no Brasil, do percentual de teor do biodiesel presente no diesel fóssil.

Fig. 2: Evolução da mistura do biodiesel no Brasil



Fonte: BrasilPostos. Aumento da mistura do Biodiesel no diesel passa a 12%. Brasilpostos.com.br.

Em 2018, o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) definiu um cronograma para a evolução do B10 até o B15, com foco na redução do preço do combustível e ampliação da energia renovável na matriz energética, com a adição de 1% ao ano, chegando a B15 em 2023 (ANP 2019; URABIO, 2018). No entanto, no país, já ocorrem estudos e testes envolvendo o uso do B20, como é o caso do estudo conduzido no Rio de Janeiro, em São Paulo, em Brasília, em Curitiba e, mais recentemente, em Piracicaba.

Em Brasília o projeto ocorreu em 2017, através da Secretaria de Mobilidade do Distrito Federal e da Viação Piracicabana, que disponibilizou uma frota de nove ônibus movidos a B20 para transitarem na linha que liga a Praça dos Três Poderes ao Memorial JK que, de acordo com a empresa, transportam cerca de dez mil passageiros por dia. Segundo o diretor-geral da Piracicabana, Fausto Mansur, o projeto tem foco no desenvolvimento sustentável e apresenta a vantagem de ganho de qualidade para o meio ambiente (TECHNIBUS, 2017).

Segundo o secretário de Mobilidade do Distrito Federal, Fábio Ney Damasceno, as empresas responsáveis pela formulação da mistura do B20 foram a Ipiranga e Shell, também responsáveis pela distribuição do diesel convencional B7. Os ônibus utilizados nesse projeto apresentaram a identidade visual do Sistema de Transporte Público Coletivo do Distrito Federal, porém receberam a inscrição “Movido a Biodiesel B20” (TECHNIBUS, 2017). Ainda, segundo o secretário Damasceno (2017), a utilização do B20 em Brasília colaborou com a melhoria ambiental pois equivale à plantação de, aproximadamente, 1,2 mil árvores por ano e reduz o uso

de diesel fóssil e mitiga a emissão de gases poluentes e de hidrocarbonetos não queimados, resultando em melhoria da qualidade do ar (UBRABIO, 2017).

Segundo o ex-diretor-superintendente da Ubrabio (União Brasileira do Biodiesel e Bioquerosene), Donizete Tokarski, o uso de B20 nas frotas das cidades brasileiras representaria a substituição de 300 milhões de litros diesel fóssil (BIODIESELBR, 2018).

O B20 também foi utilizado em geradores de energia elétrica de apoio da Rio+20. A ANP foi a responsável por autorizar a utilização de B20 na mistura dos geradores que funcionaram durante todo o evento, além de estimar o consumo de mais de 2 milhões de litros de B20 nos dez dias da conferência. Além disso, a ANP autorizou o uso do combustível em diversas frotas de ônibus urbanos (AGÊNCIA ESTADO, 2012).

Durante a Conferência Rio+20, a Global Bioenergy Partnership (GBEP) promoveu um seminário, em conjunto a Ubrabio, para estimular a utilização do B20 em transportes urbanos. A iniciativa recebeu o apoio da Mercedes Benz que garantiu a utilização do biocombustível para motores da marca, destacando que a Mercedes Benz já realizou mais de dois milhões de quilômetros de testes operacionais com o biodiesel (UBRABIO, 2014).

Outro programa importante para o país denominou-se “Biodiesel B20 – O Rio de Janeiro anda na frente” que teve duração entre setembro de 2009 a agosto de 2010, por meio da parceria entre a Fetranspor e o governo do Estado do Rio, a fim de garantir ao Comitê Olímpico Internacional transporte mais eficiente para receber os atletas dos Jogos Olímpicos de 2016 (AGUIAR, 2011; CONCEIÇÃO, 2011).

Esse programa teve como objetivo realizar avaliações técnica e econômica além, de analisar o desempenho dos 14 ônibus que foram abastecidos com o B20 durante 12 meses. O projeto foi realizado com os veículos de três empresas de ônibus, além de ter o apoio das empresas: Shell, Ipiranga e Petrobrás Distribuidora S/A, como distribuidoras do combustível, e da Mercedes-Benz e Volkswagen Caminhões e Ônibus (MAN), para assistência técnica dos motores.

O programa B20 se baseou no antigo projeto “O Rio de Janeiro Sai na Frente - Biodiesel 5% na Frota de Ônibus”, que foi lançado, de forma pioneira em 2007, pela Fetranspor e pela Secretaria de Estado dos Transportes (SETRANS) no qual 3.500 ônibus do Estado do Rio de Janeiro foram abastecidos com biodiesel B5, como forma de apresentar uma alternativa energética sustentável ao transporte coletivo, que já previa a utilização deste percentual na mistura a partir de 2013 (AGUIAR, 2011; CONCEIÇÃO, 2011).

Os resultados do projeto demonstraram que o rendimento do B20, em duas empresas, foi superior ao do B5 (2,58 contra 2,52 Km/L na Matias; 3,39 Km/L contra 3,37 Km/L, considerando o B20 e o B5 respectivamente). Já na última empresa, o rendimento foi igual de 2,09, tanto para o B20 quanto para os veículos movidos com o B15 (AGUIAR, 2011; CONCEIÇÃO, 2011). Com base nos resultados obtidos através do Programa “Biodiesel B20 – O Rio de Janeiro Anda na Frente”, pode-se notar que a autonomia (km/L) dos veículos movidos a B20 foi semelhante, estatisticamente, aos movidos a B5 sem que tenha sido afetado o consumo. Além disso, o uso do biocombustível apresentou redução nos níveis de opacidade emitida (AGUIAR, 2011; CONCEIÇÃO, 2011).

### **RenovaBio**

Além do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), o governo brasileiro lançou outro programa para incentivar a produção de biocombustíveis denominado RenovaBio.

O RenovaBio é a Política Nacional de Bicomcombustíveis, instituída pela Lei nº 13.576/2017, criada pelo Ministério de Minas e Energia (MME), que tem como finalidade: incentivar a produção de biocombustíveis garantindo seu papel estratégico na matriz energética brasileira, além de cumprir os compromissos firmados no Acordo de Paris, aprovado por 195 países visando reduzir as emissões de gases de efeito estufa para um desenvolvimento sustentável (OLIVEIRA, 2017).

Segundo o Ministério de Minas e Energia, o programa não tem a intenção de criar impostos ou subsídios sobre a adição de biocombustíveis a combustíveis, e promove ganhos de eficiência energética. O principal instrumento do RenovaBio é o estabelecimento de metas nacionais anuais para o setor de combustíveis, de forma a incentivar o aumento da produção e da participação de biocombustíveis na matriz energética de transportes do país. As metas nacionais de redução de emissões para a matriz de combustíveis foram definidas para o período de 2019 a 2029 pela Resolução CNPE nº 15, de 24 de junho de 2019. (ANP, S/A).

De acordo com a informação do diretor do Departamento de Biocombustíveis do Ministério de Minas e Energia (MME), Miguel Ivan Lacerda, sete instituições financeiras estão cadastradas junto ao Serviço Federal de Processamento de Dados (Serpro) para fazer a escrituração dos títulos de crédito de descarbonização (CBio). São elas: Santanter, Itaú, Citibank, Bradesco, Banco do Brasil, Vórtx e Planner (COURY; BOSSLE, 2020).

Esses títulos estão sendo escriturados, registrados e disponibilizados na plataforma da Bolsa de valores do Brasil desde o final de abril de 2020. No entanto, apesar de 744,47 mil créditos disponíveis nenhuma das produtoras de biocombustível chegaram a negociar esses títulos até 11 de junho de 2020 (COURY; BOSSLE, 2020). Segundo Lacerda, um dos possíveis causadores para a falta de negociações é a incerteza em relação às metas estabelecidas pelo programa RenovaBio, devido à grande queda no consumo de combustíveis no ano de 2020 (COURY; BOSSLE, 2020).

De acordo com a superintendente adjunta de biocombustíveis da ANP, Danielle Machado Conde, o programa RenovaBio conta com 200 unidades certificadas, sendo 176 usinas de etanol de cana de primeira geração, 20 produtoras de biodiesel, 2 usinas de etanol flex (milho e cana), 1 usina de etanol de milho e uma unidade de biometano, das quais 144 já firmaram contrato com o Serpro. A superintendente ainda afirma que as usinas certificadas no RenovaBio já comercializaram etanol suficiente para mais de 3 bilhões de CBios, demonstrando que as empresas têm a capacidade para gerar os CBios e atender as metas propostas pelo Comitê do RenovaBio (COURY; BOSSLE, 2020).

Com isso, é importante ressaltar que mesmo o país possa ser considerado um dos maiores produtores de biodiesel do mundo, ainda é necessário realizar muitos estudos na área, analisando porcentagens maiores que o B12, de modo a sempre procurar maior eficiência e sustentabilidade.

### Relação de CO<sub>2</sub> com o Plantio de Árvores

A neutralização de CO<sub>2</sub> pelo plantio de árvores ocorre através do processo de **sequestro de carbono** da atmosfera, no qual o carbono é retirado do meio ambiente e fixado na biomassa da planta já que, durante a fotossíntese, utilizam a luz solar e o CO<sub>2</sub> para o seu desenvolvimento (I. B. F., 2020). As florestas sequestram o carbono apenas na fase do crescimento das árvores, de modo que, a cada 7 árvores, pode-se sequestrar 1 tonelada de carbono nos seus primeiros 20 anos de idade (I.B.F., 2020).

Com base nessa média, é possível determinar a quantidade de árvores necessárias para neutralizar as emissões dos Gases de Efeito Estufa (GEE), podendo utilizar uma calculadora online que considera os processos biológicos de crescimento das árvores (Autor desconhecido, S/A). Estudos revelam que, a cada tonelada de emissão de CO<sub>2</sub> é necessário o plantio de 7,14 árvores para que o planeta não sofra os danos causados pelas emissões (TJPR, S/A).

Também há estudos, realizados pelo Instituto Totum e Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), em parceria com a Fundação SOS Mata Atlântica, estimando que cada árvore da Mata Atlântica absorve cerca de 163,14 kg de gás carbônico ao longo de seus primeiros 20 anos, levando em consideração as idades e espécies de árvores diferentes, bioma, clima e diversidade da Mata Atlântica (ROSA, 2013).

## **METODOLOGIA**

O Projeto B20 – “Piracicaba no caminho da sustentabilidade”, realizado na cidade de Piracicaba durante os meses de setembro de 2019 a fevereiro de 2020, foi resultado de parceria entre a Fatec Piracicaba, a Via Ágil e a Prefeitura Municipal de Piracicaba, por meio das Secretarias Municipais de Transportes e de Defesa do Meio Ambiente, contando também com o apoio das empresas Raízen, Aroma Bioenergia e Dorothy Participações e Agenciamentos Ltda.

O projeto utilizou 12 ônibus da marca Mercedes Benz, sendo 10 deles do modelo 1721 Euro V, ano 2012 e 2 deles, do tipo articulado, modelo OF 1721, ano 2008, disponibilizados pela Via Ágil. Metade dessa frota foi abastecida com o combustível B20 e a outra metade (denominada veículos “sombra” ou de “controle”) foram abastecidos com o diesel comum, à época B11. Seis linhas foram avaliadas, cada uma contando com um carro abastecido com o B20 e outro com o B11, de forma que fosse possível comparar a performance de ambos.

A Via Ágil foi responsável por encaminhar, semanalmente, os dados gerados referentes aos valores dos hodômetros e a quantidade de litros consumidos por cada veículo diariamente. Com os dados disponibilizados pela empresa foi possível organizá-los em planilhas do software Excel para a realização de estatísticas descritivas e testes de hipóteses para comparação de variâncias (teste F, considerando: estatísticas descritivas e testes de hipóteses para comparação de variâncias (teste F, considerando  $H_0: \sigma_{B20} = \sigma_{B11}$  e  $H_1: \sigma_{B20} \neq \sigma_{B11}$ ) e médias (teste T, considerando  $H_0: \mu_{B20} = \mu_{B11}$  e  $H_0: \sigma_{B20} \neq \sigma_{B11}$ ).

A partir do volume do B20 utilizado no abastecimento dos seis carros foi possível estimar a redução da emissão do gás carbônico durante o desenvolvimento do projeto. De acordo com a UBRABIO, a fórmula que pode ser utilizada para calcular a redução da emissão de CO<sub>2</sub> é: Kg de CO<sub>2</sub> eq evitados = 0,37 x (volume, em litros, de B20 utilizado).

Considerando as emissões evitadas de CO<sub>2</sub> com número de árvores plantadas, que absorveriam esse volume de gás, resultando em uma compensação futura de carbono, se emprega a relação em que 10t de CO<sub>2</sub> evitados equivale ao plantio de 79 árvores.

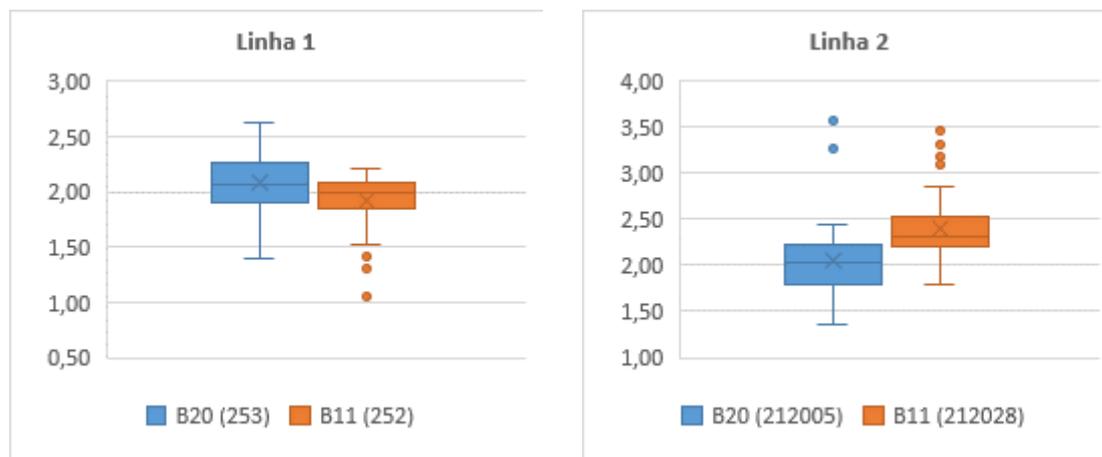
## RESULTADOS E DISCUSSÕES

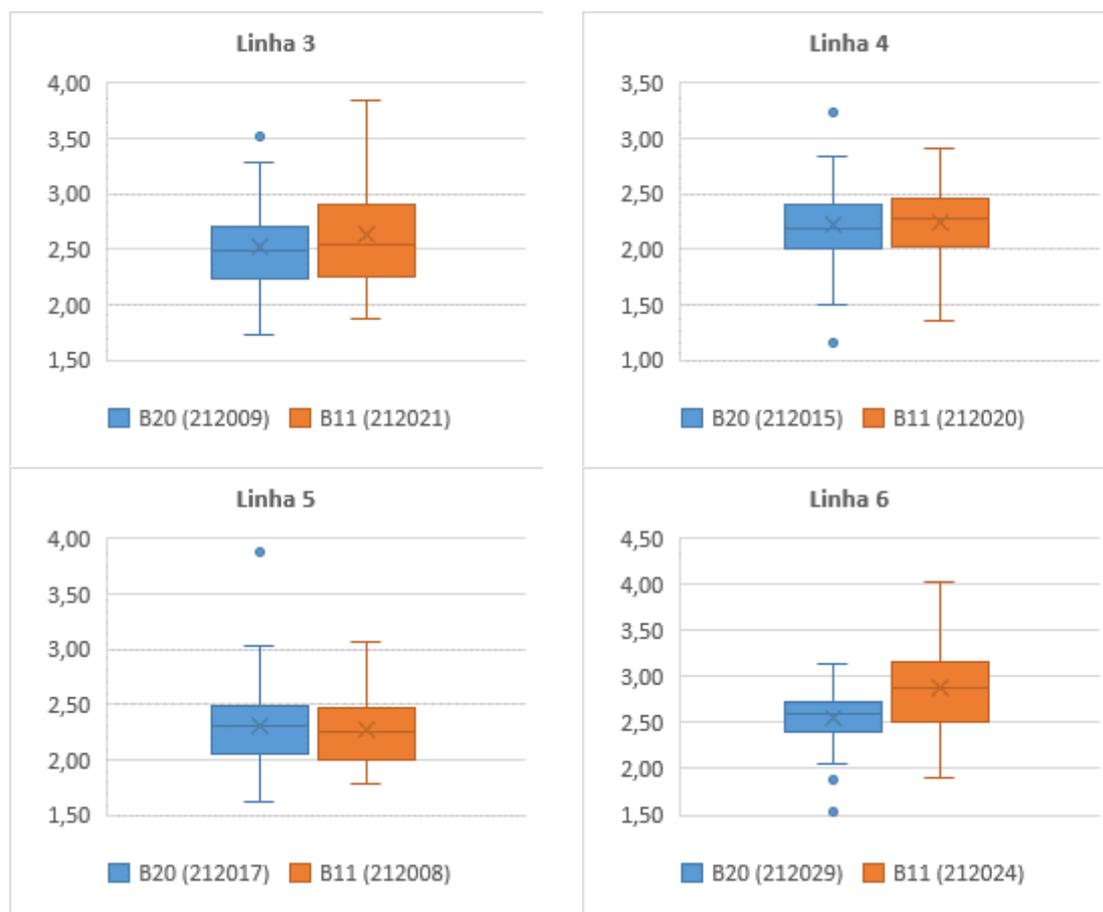
Durante o encaminhamento semanal dos dados pela Via Ágil, pode-se observar que, durante os meses de setembro e outubro, os dados apresentavam possíveis inconsistências nos valores, como consumo de combustível acima de 4 km/L, para ambos combustíveis (B11 e B20), o que é incompatível com consumos reais na rotina da empresa.

Após discutir esses valores com a empresa, esta tornou o controle de marcação dos hodômetros ainda mais rigoroso de forma que, a partir de dezembro, os dados encaminhados puderam ser utilizados para a análise. Dessa forma, foram considerados para o estudo do projeto, os dados de consumo dos ônibus que circularam entre dezembro a fevereiro, totalizando 10 semanas consecutivas, em seis linhas diferentes.

Na figura 3, a seguir, é possível comparar a dispersão dos valores referentes ao consumo dos diferentes combustíveis, em km/L, nas seis linhas estudadas.

Figura 3: Comparação dos valores correspondentes a cada combustível





Fonte: Autores.

Utilizou-se o teste de comparação de variâncias (teste F) e médias (teste T) em cada uma das linhas para verificar se houve diferença significativa em algum desses quesitos. O resultado é apresentado na tabela 1.

Tabela 1: Testes de comparação de variâncias

		Média (erro padrão)	Teste F	Teste T
Linha 1	B20 (253)	2,09 (0,04)	0,425	0,009*
	B11 (252)	1,92 (0,04)		
Linha 2	B20 (212005)	2,05 (0,06)	0,245	0,000*
	B11 (212028)	2,40 (0,05)		
Linha 3	B20 (212009)	2,51 (0,06)	0,067	0,184
	B11 (212021)	2,64 (0,07)		
Linha 4	B20 (212015)	2,22 (0,06)	0,108	0,719
	B11 (212020)	2,25 (0,04)		
Linha 5	B20 (212017)	2,31 (0,06)	0,108	0,522

	<b>B11 (212008)</b>	2,26 (0,05)		
<b>Linha 6</b>	<b>B20 (212029)</b>	2,56 (0,04)	0,000*	0,000*
	<b>B11 (212024)</b>	2,88 (0,08)		

Obs: \* indica diferença significativa entre os carros.

Fonte: Autores

De acordo com a tabela 1, o teste F de variância indica diferença significativa entre os ônibus da linha 6 (prefixo 212029 e 212024), que indica que neste percurso houve diferença entre a variabilidade dos quilômetros rodados por litro nos dois carros. Fato que pode ser melhor visualizado pelas amplitudes dos box-plots dos carros da linha 6 (figura 3), o qual atesta que 25% dos valores em km/L registrados pelos carros abastecidos com B11 foram superiores ao maior registro dos que foram abastecidos com o B20.

Considerando os resultados do teste T de média (tabela 1), destacam-se os ônibus das linhas 2 e 6 (figura 3, definidos com os prefixos 212005, 212028, 212029 e 212024) uma vez que mostraram mais eficiência com a utilização do combustível convencional B11 em relação aos ônibus que foram abastecidos com combustível B20. No entanto, identificou-se diferença de média na linha 1 (figura 3, ônibus 252 e 253), na qual o carro abastecido com o B20 se mostrou melhor em comparação ao do B11. Essa diferença pode estar relacionada ao fato destes ônibus serem de modelos diferentes dos demais empregados no projeto, além de ser a única linha que apresenta trecho de rodovia durante o trajeto.

Baseado nos resultados obtidos projeto “Biodiesel B20 – O Rio de Janeiro Anda na Frente”, pode-se notar que não houve diferenças significativas entre o consumo dos dois combustíveis B5 e B20 analisados à época (Aguiar, 2011), da mesma maneira que as linhas 3, 4 e 5 do projeto “B20 – Piracicaba no caminho da sustentabilidade” também não apresentaram diferenças entre o uso do B11 e do B20.

Neste contexto é importante salientar que nem sempre o uso do B20 gera aumento de consumo de combustível, demonstrando a importância de mais estudos e projetos que envolvam a análise de consumo, entre outras, envolvendo o uso de B20 em diferentes motores e rotas, de forma a se gerar informações relevante para tomadas de decisão.

Para as considerações sobre os benefícios ambientais alcançados durante a realização deste projeto, foi realizado o cálculo da redução de emissão de CO<sub>2</sub> relacionada ao uso do B20 pelos 6 ônibus durante os 6 meses de estudo. Utilizou-se a fórmula disponibilizada pela Ubrabio, descrita na metodologia, e o volume total do biocombustível B20 utilizado durante o projeto, que totalizou em 63.700 L.

Assim, o projeto “B20 – Piracicaba no caminho da sustentabilidade” permitiu reduzir a emissão de 23.569 kg ou 23,56t de CO<sub>2</sub> para a atmosfera. Em questão de curiosidade, essa quantidade de CO<sub>2</sub> equivaleria ao plantio de 186 árvores, aproximadamente.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A partir dos resultados obtidos pode-se notar, a partir dos box-plots, que 25% dos valores registrados pelos ônibus abastecidos com B11 foram superiores em comparação aos abastecidos com o B20. No entanto, apesar de só uma das linhas de ônibus apresentar melhores resultados com a utilização do combustível B20 em comparação ao do B11, o “Projeto B20 – Piracicaba no caminho da sustentabilidade” merece destaque, uma vez que possibilitou, com apenas seis ônibus e durante seis meses, impedir a emissão de 23,56 toneladas de CO<sub>2</sub> para a atmosfera.

Baseado nos resultados, pode-se afirmar que os objetivos do trabalho, discutidos na introdução, puderam ser alcançados. Dessa forma, espera-se, em estudos posteriores, dar sequência ao projeto aumentando a frota de ônibus, delineando melhor as linhas a serem analisadas e, principalmente, realizando análises físico-químicas dos combustíveis durante a execução do estudo.

## **AGRADECIMENTOS**

À Fatec Piracicaba, a Via Ágil e a Prefeitura Municipal de Piracicaba, por meio das Secretarias Municipais de Transportes e de Defesa do Meio Ambiente por investirem na realização do projeto.

À MsC. Fabiana Yoshinaga, Química no IQ-Unicamp, pelo apoio na busca dos parceiros.

Às empresas Raízen, Aroma Bioenergia e Dorothy Participações e Agenciamentos Ltda pela parceria e apoio.

## **REFERÊNCIAS**

ABREU, Yolanda Vieira de; GUERRA, Sinclair Mallet Guy; OLIVEIRA, Marco Aurélio Gonçalves de. *Energia, economia, rotas tecnológicas. Textos selecionados*. Espanha: Eumed.Net, Universidad de Málaga, 2010. 330p. Disponível em:  
[https://books.google.com.br/books?id=B3\\_u8UiBcqIC&pg=PA224&lpg=PA224&dq=7.2.5+Poss%C3%ADveis+Catalisadores+para+Obten%C3%A7%C3%A3o+do+Biodiesel&source=bl&ots=ecbVSB4dLd&sig=ACfU3U1k9cKi2LQUs-ohMLyN2mQAfEaZDw&hl=pt-BR&sa=X&ved=2ahUKEwjRrs6P6bLlAhWlK7kGHaf3DMgQ6AEwAXoECAkQAQ#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.br/books?id=B3_u8UiBcqIC&pg=PA224&lpg=PA224&dq=7.2.5+Poss%C3%ADveis+Catalisadores+para+Obten%C3%A7%C3%A3o+do+Biodiesel&source=bl&ots=ecbVSB4dLd&sig=ACfU3U1k9cKi2LQUs-ohMLyN2mQAfEaZDw&hl=pt-BR&sa=X&ved=2ahUKEwjRrs6P6bLlAhWlK7kGHaf3DMgQ6AEwAXoECAkQAQ#v=onepage&q&f=false). Acesso em: 23 out. 2019.

AGÊNCIA BRASIL. RenovaBio é incentivo aos biocombustíveis e à sustentabilidade, diz Petrobras. *Época Negócios*: Editora Globo, 2017. Disponível em: <https://epocanegocios.globo.com/Empresa/noticia/2017/11/renovabio-e-incentivo-aos-biocombustiveis-e-sustentabilidade-diz-petrobras.html>. Acesso em: 10 nov. 2019.

AGENCIA ESTADO. ANP autoriza uso de B20 em geradores da Rio+20. [S/L]: *Grupo Globo*, 2012. Disponível em: <http://g1.globo.com/brasil/noticia/2012/06/anp-autoriza-uso-de-b20-em-geradores-da-rio20.html>. Acesso em: 19 fev. 2020.

AGUIAR, Lídia Vaz; CONCEIÇÃO, Guilherme Wilson da. *Biodiesel B20 – O Rio de Janeiro anda na frente*. Fetranspor: Rio de Janeiro, 2011. 104 p.

ALEMANHA aumenta exportação e biodiesel em 28%. Curitiba: Biodieselbr, 2019. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/noticias/inter/alemanha/alemanha-aumenta-exportacao-de-biodiesel-em-28-170919>. Acesso em: 19 fev. 2020.

ANP. *Biodiesel*. Rio de Janeiro: ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 2016. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/biocombustiveis/biodiesel>. Acesso em: 10 nov. 2019.

ANP. *Óleo diesel brasileiro passa a conter mínimo de 12% de biodiesel*. Rio de Janeiro: ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 2020. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/noticias/5633-oleo-diesel-brasileiro-passa-conter-minimo-12-biodiesel/>. Acesso em: 02 jun. 2020.

ANP. *RenovaBio*. Rio de Janeiro: ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, [S/A]. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/producao-de-biocombustiveis/renovabio>. Acesso em: 19 fev. 2020.

B20 - Combustível do transporte sustentável. Brasília: Ubrabio, 2017. Disponível em: <https://ubrablo.com.br/2018/03/25/%e2%80%a2agroenergia-em-revista-especial-seminario-b20-metropolitano/>. Acesso em: 21 out. 2019.

B20: Testado, aprovado e garantido. Brasília: UBRABIO, 2014. Disponível em: <https://ubrablo.com.br/2014/04/14/b20-testado-aprovado-e-garantido/>. Acesso em: 19 fev. 2020.

BIODIESEL no mundo. Curitiba: Biodieselbr, 2014. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/biodiesel/mundo/biodiesel-no-mundo>. Acesso em: 19 fev. 2020.

BIODIESEL. SEBRAE. Brasília: SEBRAE, 2007. Disponível em: [https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/NT00035116\\_000gihb7tn102wx5ok05va dr1szzvy3n.pdf](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/NT00035116_000gihb7tn102wx5ok05va dr1szzvy3n.pdf). Acesso em: 10 nov. 2019.

BLUM, Suelen Alflen; FRANQUITTO, Keyla Regiane. *Produção de biodiesel e obtenção de dados de equilíbrio líquido-líquido a partir do óleo de crambe*. Ponta Grossa: Trabalho de Conclusão de Curso 2, 2016. Disponível em:

[http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/7463/1/PG\\_COENQ\\_2016\\_2\\_10.pdf](http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/7463/1/PG_COENQ_2016_2_10.pdf)  
f. Acesso em: 21 out. 2019.

BRASIL ganha cronograma para evolução do biodiesel até 2023. Brasília: UBRABIO, 2018.  
Disponível em: <https://ubrablo.com.br/2018/10/29/brasil-ganha-cronograma-para-evolucao-do-biodiesel/>. Acesso em: 19 fev. 2020.

CALCULADORA de CO<sub>2</sub>. Curitiba: TJPra - Tribunal de Justiça do Estado do Paraná, S/A.  
Disponível em: <https://www.tjpr.jus.br/web/gestao-ambiental/calculadoraco2>. Acesso em: 29 de jul. 2020.

CÂMARA DOS DEPUTADOS. *LEI Nº 11.097, DE 13 DE JANEIRO DE 2005*. [S/L]:  
Centro de Documentação e Informação, 2005. Disponível em:  
<https://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/2005/lei-11097-13-janeiro-2005-535383-norma-actualizada-pl.html>. Acesso em: 31 out. 2019.

COMPENSAÇÃO de CO<sub>2</sub> com plantio de florestas. Londrina: Instituto Brasileiro de Florestas, S/A. - IBF. Disponível em:  
<https://www.ibflorestas.org.br/conteudo/compensacao-de-co2-com-plantio-de-florestas>.  
Acesso em: 29 jul. 2020.

CONSUMO anual de biodiesel na Alemanha foi o maior desde 2012. Curitiba: Biodieselbr, 2020. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/noticias/inter/alemanha/consumo-anual-de-biodiesel-na-alemanha-foi-o-maior-desde-2012-060420>. Acesso em: 02 jun. 2020.

COURY, Rafaella; BOSSLE, Renata. *RenovaBio conta com sete escrituradores cadastrados [atualizado]*. Curitiba: Nova Cana, 2020. Disponível em:  
<https://www.novacana.com/n/industria/usinas/renovabio-sete-escrituradores-cadastrados-nenhum-cbio-vendido-100620>. Acesso em: 18 jun. 2020.

DEPARTAMENTO DE BIOCOMBUSTÍVEIS – DBIO. *RenovaBio*. Brasília: Ministério de Minas e Energia – MME, [S/A]. Disponível em:  
<http://www.mme.gov.br/web/guest/secretarias/petroleo-gas-natural-e-biocombustiveis/acoes-e-programas/programas/renovabio>. Acesso em: 19 fev. 2020.

DIESEL passa a ter 8% de biodiesel; percentual chegará a 10% em 2019. [S/L]: G1, 2017. REUTERS. Disponível em: <https://g1.globo.com/carros/noticia/diesel-passa-a-ter-8-de-biodiesel-percentual-chegara-a-10-em-2019.ghtml>. Acesso em: 31 out. 2019.

ENCARNAÇÃO, Ana Paula Gama. *Geração de biodiesel pelos processos de transesterificação e hidroesterificação – Uma avaliação econômica*. Rio de Janeiro: Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008. Disponível em:  
<http://www.tpqb.eq.ufrj.br/download/biodiesel-via-trans-e-hidroesterificacao.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2019.

GERPEN, Jon Van; KNOTHE, Gerhard; KRAHL, Jurgen. *Manual de Biodiesel*. São Paulo: BLUTCHER, 2006, 352 p.

HISTÓRIA do Biodiesel. Curitiba: Biodieselbr, [S/A]. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/biodiesel/historia/biodiesel-historia.htm>. Acesso em: 10 nov. 2019.

INDONÉSIA conclui testes e confirma B30 em 2020. Curitiba: Biodieselbr, 2019. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/noticias/inter/out/indonesia-conclui-testes-e-confirma-b30-em-2020-291119>. Acesso em: 19 fev. 2020.

LASTROP. *Calculadora de emissões de CO<sub>2</sub>*. Piracicaba: ESALQ, S/A. Disponível em: [http://esalqlastrop.com.br/capa.asp?pi=calculadora\\_emissoes](http://esalqlastrop.com.br/capa.asp?pi=calculadora_emissoes). Acesso em: 29 jul. 2020.

MAIORIA dos ônibus do DF devem rodar com B20 até 2019. Curitiba: Biodieselbr, 2018. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/noticias/meioambiente/cidade/maioria-dos-onibus-do-df-devem-rodar-com-b20-ate-2019-190318>. Acesso em: 19 fev. 2020.

OLIVEIRA, Flavia C. da C.; SANTOS, Wildson Luiz Pereira dos.; SUAREZ, Paulo A. Z. *Biodiesel: Possibilidades e Desafios*. [S/L]: Química e Sociedade, 2007. Disponível em: <http://qnint.sbq.org.br/novo/index.php?hash=tema.30>. Acesso em: 31 out. 2019.

OLIVEIRA, Nielmar de. *RenovaBio é incentivo aos biocombustíveis e a sustentabilidade, diz Petrobras*. Porto Alegre: Editora Globo S/A, 2017. Disponível em: <https://epocanegocios.globo.com/Empresa/noticia/2017/11/renovabio-e-incentivo-aos-biocombustiveis-e-sustentabilidade-diz-petrobras.html>. Acesso em: 19 fev. 2020.

ÔNIBUS movidos a B20 começam a circular em Brasília. URABIO. Curitiba: Biodieselbr, 2017. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/noticias/meioambiente/cidade/onibus-movidos-b20-comecao-circular-brasilia-120117>. Acesso em: 21 out. 2019.

PIRACICABANA opera ônibus movidos a B20 em Brasília. TECHNIBUS. São Paulo: OTM Editora, 2017. Disponível em: <https://transportemodernoonline.com.br/2017/03/16/piracicabana-opera-onibus-movidos-a-b20-em-brasilia/>. Acesso em: 19 fev. 2020.

PRODUÇÃO de biodiesel dos Estados Unidos recuou 7% em 2019. Curitiba: Biodieselbr, 2020. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/noticias/inter/eua/producao-de-biodiesel-dos-estados-unidos-recuou-7-em-2019-170320>. Acesso em: 02 jun. 2020.

PRODUÇÃO de biodiesel da Indonésia superou a do Brasil em 2018, diz USDA. Curitiba: Biodieselbr, 2019. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/noticias/inter/out/producao-de-biodiesel-da-indonesia-superou-a-do-brasil-em-2018-diz-usda-210819>. Acesso em: 19 fev. 2020.

RODRIGUES, Fábio. *Indonésia está planejando adoção do B40*. Curitiba: Biodieselbr, 2019. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/noticias/inter/out/indonesia-esta-planejando-adoacao-do-b40-181219>. Acesso em: 19 fev. 2020.

ROSA, Maya. *Cada árvore da Mata Atlântica chega a retirar 163 kg de CO<sub>2</sub> da atmosfera*. S/L: CicloVivo, 2013. Disponível em: <https://ciclovivo.com.br/planeta/meio-ambiente/cada-arvore-da-mata-atlantica-chega-a-retirar-163-kg-de-co2-da-atmosfera/>. Acesso em: 29 jul. 2020.

SECRETARIA do Verde de Mogi das Cruzes calcula emissão de carbono e realiza neutralização com plantio de árvores. [S/L]: *Grupo Globo*, 2020. Disponível em: <https://g1.globo.com/sp/mogi-das-cruzes-suzano/noticia/2020/06/24/secretaria-do-verde-de-mogi-das-cruzes-calcula-emissao-de-carbono-e-realiza-neutralizacao-com-plantio-de-arvores.ghtml>. Acesso em: 29 jul. 2020.

TAILÂNDIA elevará mistura de biodiesel para 10% a partir de janeiro. Curitiba: Biodieselbr, 2019. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/noticias/inter/out/tailandia-elevara-mistura-de-biodiesel-para-10-a-partir-de-janeiro-051219> Acesso em: 19 fev. 2020.

VIDIGAL, Lucas. *Novo biodiesel vai abastecer ‘a maioria’ da frota de ônibus do DF até 2019, diz governo*. [S/L]: Grupo Globo, 2018. Disponível em: <https://g1.globo.com/df/distrito-federal/noticia/novo-biodiesel-vai-abastecer-a-maioria-da-frota-de-onibus-do-df-diz-secretario.ghtml>. Acesso em: 19 fev. 2020.

Z. O QUE é Biodiesel?. Curitiba: Biodieselbr, 2006. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/biodiesel/definicao/o-que-e-biodiesel>. Acesso em: 21 out. 2019.

**1 BORTOLETO, Gisele Gonçalves** é Bacharel em Química pelo IQ- UNICAMP (2001), licenciada em Química pela Faculdade de Educação da UNICAMP (2003), mestre em Química Analítica pelo IQ-UNICAMP (2003) e doutora em Ciências pelo IQ-UNICAMP (2007), realizou pós doutoramento no Centro de Energia Nuclear na Agricultura CENA-USP (2007-2008). É professora dos cursos de Alimentos e de Biocombustíveis da FATEC Piracicaba - Centro Paula Souza desde 2008 e coordena o curso de Tecnologia em Biocombustíveis. Atualmente é membro do Conselho Técnico do Parque Tecnológico de Piracicaba, membro do Conselho Municipal de Educação e Representante de Curso do Conselho Regional de Química.

**2 GRAGNANI, Juliana Gonzalez** Bacharel em Gestão Ambiental pela Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP - 2009) e mestrandia em Ciências (Ecologia Aplicada) pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP - Atual). Trabalha como Analista Ambiental da Secretaria Municipal de Defesa do Meio Ambiente (Piracicaba-SP) e tem interesse nas áreas de Ecologia Isotópica, Ecologia de Ecossistemas e Silvicultura Urbana.

**3 SILVA, Letícia Furlan da** é Tecnóloga em Biocombustíveis pela Fatec Piracicaba.

**4 PINTO, Renan Mercuri** é doutor em Estatística e Experimentação Agrônômica (2018) pela Universidade de São Paulo (USP), ESALQ - Piracicaba, com período sanduíche na University of Wisconsin-Madison, WI, US. Mestre em Biometria (2014) pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), IB - Campus de Botucatu. Licenciado em Matemática (2012) pela UNESP, IGCE - Campus de Rio Claro. Contemplado com bolsa de estudos pelo Programa Santander Universidades (2010) para período de estudos na Universidade de Coimbra (UC), Portugal, na qual cursou um ano do Mestrado em Ensino de Matemática. Atualmente, é professor efetivo de Ensino Superior do Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza (Fatec-Americana e Piracicaba). Tem experiência na área de Probabilidade e Estatística, com ênfase em Análise Multivariada de Dados e Genética Quantitativa, atuando principalmente nos seguintes temas: modelos de equações estruturais e redes Bayesianas. (contato: 19 981142099; e-mail: renanmp@usp.br)

# Produção de dihidroxiacetona a partir da glicerina residual da produção de biodiesel: uma visão teórica

SABINO, Vitória Carolina Campos  
BELLATO, Pedro Henrique Campos  
NASCIMENTO, Daniela Defavari do  
BORTOLETO, Gisele Gonçalves

## Resumo

A glicerina, ou glicerol, se apresenta como uma das substâncias químicas mais versáteis comercializada atualmente. Pode ser empregada nas indústrias farmacêuticas, alimentícias, de cosméticos, têxteis, celulósicas, indústria de tabaco, de tintas, lubrificantes, explosivos, entre outras. Em atendimento a essa grande demanda industrial, parte da glicerina hoje é produzida a partir de matérias primas fósseis, mas mais recentemente, pode-se considerar que grande parte da glicerina advém de processos industriais, como o de produção do biodiesel. Esses processos normalmente geram o produto, mas com grande quantidade de impureza e por isso, com baixo valor agregado. Assim, o desenvolvimento de processos para converter esse glicerol de baixo valor em produtos de mais valorizados é uma excelente oportunidade para melhorar a viabilidade econômica para comercialização tanto da glicerina como do próprio biodiesel. Nesse contexto, destaca-se a molécula de 1,3-di-hidroxiacetona (DHA), potencial precursor na síntese de diferentes compostos químicos de grande interesse para as indústrias farmacêutica e de química fina, em particular, como agente bronzeador em produtos para bronzeamento artificial. A DHA pode ser sintetizada quimicamente e/ou bioquimicamente a partir do glicerol, de forma que o intuito do presente trabalho é apresentar aplicações relevantes da glicerina, no que se refere à produção de compostos de alto valor agregado, mais especificamente, para a produção industrial de DHA. Os estudos teóricos que envolvem a produção de DHA utilizando glicerina como substrato, por meio de rotas fermentativas, apontam soluções para se agregar valor ao produto. Vale salientar que os processos biotecnológicos envolvidos nessas conversões não requerem grandes investimentos industriais em energia para fornecimento de altas temperaturas ou pressão aos sistemas reacionais, o que de fato se mostra como uma oportunidade industrial para aproveitamento de glicerina para produção de DHA.

**Palavras-chave:** glicerina, bactérias, dihidroxiacetona, fermentação

## Abstract

Glycerin, or glycerol, presents itself as one of the most versatile chemicals currently commercialized. It can be used in the pharmaceutical, food, cosmetic, textile, cellulosic, tobacco, paint, lubricant, explosive industries, among others. In response to this great industrial demand, part of the glycerin today is produced from fossil raw materials, but more recently, it can be considered that much of the glycerin comes from industrial processes, such as the production of biodiesel. These processes usually generate the product, but with a large amount of impurity and, therefore, with low added value. Thus, the development of processes to convert this low-value glycerol into higher-value products is an excellent opportunity to improve the economic viability for marketing both glycerin and biodiesel itself. In this context, the 1,3-dihydroxyacetone (DHA) molecule stands out, as a known potential precursor in the synthesis of different chemical compounds of great interest for the pharmaceutical and fine chemical industries, in particular, as a tanning agent in tanning products. DHA can be synthesized chemically and / or biochemically from glycerol, so that the purpose of the present work is to present relevant applications of glycerin, with regard to the production of compounds with high benefit, more specifically, for industrial production of DHA. Theoretical studies involving the production of DHA using glycerin as a substrate, through fermentative routes, point out solutions to add value to the product. It is worth noting that the biotechnological processes

involved in these conversions do not require major industrial investments in energy to supply high temperatures or pressure to the reaction systems, which in fact shows itself as an industrial opportunity to use glycerin for the production of DHA

**Key words:** glycerin, bacteria, dihydroxyacetone, fermentation

### **Resumen**

La glicerina, o glicerol, se presenta como uno de los productos químicos más versátiles que se comercializan actualmente. Puede ser utilizado en la industria farmacéutica, alimentaria, cosmética, textil, celulósica, tabaco, pinturas, lubricantes y explosivos, entre otras. En respuesta a esta gran demanda industrial, parte de la glicerina en la actualidad se produce a partir de materias primas fósiles, pero más recientemente se puede considerar que gran parte de la glicerina proviene de procesos industriales, como la producción de biodiesel. Estos procesos suelen generar el producto, pero con una gran cantidad de impurezas y, por tanto, de bajo valor añadido. Así, el desarrollo de procesos para convertir este glicerol de bajo valor en productos de mayor valor es una excelente oportunidad para mejorar la viabilidad económica para comercializar tanto la glicerina como el propio biodiésel. En este contexto, destaca la molécula de 1,3-dihidroxiacetona (DHA), con un conocido potencial de intermediario en la síntesis de diferentes compuestos químicos de gran interés para la industria farmacéutica y química fina, en particular, como curtiente en productos de bronceado. El DHA se puede sintetizar química y / o bioquímicamente a partir de glicerol, por lo que el presente trabajo tiene como finalidad presentar aplicaciones relevantes de la glicerina, en lo que respecta a la producción de compuestos con alto valor agregado, más específicamente, para la producción industrial de DHA. Estudios teóricos que involucran la producción de DHA utilizando glicerina como sustrato, a través de rutas fermentativas, señalan soluciones para agregar valor al producto. Cabe señalar que los procesos biotecnológicos involucrados en estas conversiones no requieren grandes inversiones industriales en energía para suministrar altas temperaturas o presión a los sistemas de reacción, lo que de hecho se muestra como una oportunidad industrial para utilizar glicerina para la producción de DHA.

**Palabras clave:** glicerina, bacterias, dihidroxiacetona, fermentación.

## INTRODUÇÃO

A glicerina, ou glicerol, é um composto orgânico que pertence ao grupo dos álcoois, mais especificamente um triálcool, com 3 carbonos, cujo nome sistemático (IUPAC) é 1,2,3-propanotriol. Apresenta-se como um líquido incolor, inodoro, higroscópico, oleoso, polar, com gosto adocicado e alta viscosidade, que pode derivar de fontes naturais ou petroquímicas. Seu nome é derivado da palavra grega *glykys*, que significa doce.

O glicerol é uma das substâncias químicas mais versáteis comercializada atualmente. Sua descoberta se deu em 1799, pelo químico sueco Carl Wilhelm Scheele, durante uma reação de saponificação do azeite de oliva (MOTA et al. 2017). Foi primordialmente preparada após o aquecimento do óleo de oliva com litargírio (PbO), usado no esmalte para cerâmicas. “Na lavagem com água, obtém-se uma solução adocicada, que dá, com a evaporação da água, um líquido pesado e viscoso” (BEATRIZ, A; ARAÚJO, Y. J. K; DE LIMA, D. P; 2011), que foi denominado pelo seu descobridor “o princípio doce das gorduras”. No ano de 1846, Ascanio Sobrero, um químico italiano, produziu pela primeira vez a nitroglicerina, que posteriormente, em 1867, foi absorvida em diatomita, por Alfred Nobel, o que tornou seguro seu manuseio como dinamite (LICHTMAN,2017). Essa série de descobertas e estudos aumentaram a demanda da glicerina, que começou a ser empregada nas indústrias farmacêuticas, alimentícias, de cosméticos, têxteis, celulósicas, indústria de tabaco, de tintas, lubrificantes e explosivos, como fora citado antes.

A partir de 1948, passou-se a produzir glicerina sinteticamente a partir de matérias primas fósseis, como por exemplo o propileno. Todavia, atualmente, as plantas de produção de glicerol não estão sendo mais necessárias, considerando que hoje, grande parte da glicerina é advinda de outras fontes, como o biodiesel.

A crescente demanda por combustíveis fósseis aumenta a preocupação com o aquecimento global, o que colocou em pauta no mercado energético mundial a procura por novas fontes de energia. Diante disso surgiram os chamados biocombustíveis, ou combustíveis verdes, que são combustíveis derivados de biomassa renovável que podem substituir, parcial ou totalmente, combustíveis derivados de petróleo e gás natural em motores a combustão ou em outro tipo de geração de energia (ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis).

Nesse viés, buscando adaptações que se encaixem, o Brasil tem investido cada vez mais em tecnologias para se adequar ao mercado futuro, como a produção de Etanol, que já está consolidada no país como uma fonte de energia alternativa a gasolina, obstante, para outras fontes energéticas,

como o Diesel ainda é necessário um maior desenvolvimento, de forma que investimentos consideráveis vêm sendo aplicados nos últimos anos, na produção de Biodieseis.

O biodiesel é produzido a partir da transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais, usando álcoois simples (metanol ou etanol) e catalisadores alcalinos ou ácidos. O processo gera glicerol como subproduto. Especificamente, a quantidade de glicerol gerado é de cerca de 10% do biodiesel produzido (Yazdani e Gonzalez, 2008). Assim, para cada 9.9776 Kg/L de biodiesel produzido, 0.9978 Kg/L de glicerol, também denominado de glicerina, são gerados como subproduto.

A glicerina bruta da produção de biodiesel apresenta grandes desafios econômicos e ambientais. É caro ser purificada e seu descarte inadequado pode contaminar o ambiente litosférico. Ainda, seu excedente reduz o preço do glicerol, que afeta as indústrias produtoras e refinadoras desse composto químico. Consequentemente, a viabilidade econômica da indústria de biodiesel permanece na balança, a menos que o valor de mercado do subproduto de glicerol seja aprimorado. Portanto, o desenvolvimento de processos para converter essa glicerina de baixo valor em produtos de maior valor agregado, é uma excelente oportunidade para melhorar a viabilidade econômica da produção de biodiesel.

Nesse cenário, destaca-se a 1,3-di-hidroxiacetona (DHA), uma molécula simples, de três carbonos, com conhecido potencial para intermediário na síntese de diferentes compostos químicos de grande interesse para as indústrias farmacêutica e de química fina (Zelikin e col., 2006, Feng e col., 2012). Em particular, a DHA é comumente utilizada como agente bronzeador em produtos para bronzeamento artificial, sem necessidade de exposição ao sol (Wittgenstein e Berry, 1960; Wei e col., 2007, Ma e col., 2010).

A DHA pode ser sintetizada quimicamente a partir de formaldeído ou glicerol, cataliticamente e/ou eletrocataliticamente, empregando catalisadores metálicos como a platina, por exemplo. Entretanto, também pode ser sintetizada por via microbiana, a partir do glicerol. Tradicionalmente este processo ocorre via fermentação por células da bactéria *Gluconobacter oxydans*, que graças as suas peculiaridades metabólicas mostram-se adequadas e eficientes ao processo de oxidação incompleta do glicerol à DHA (Hekmat e col., 2003; Hu e col., 2010; Mishra e col., 2008). Porém, apesar de ser industrial, esse processo tem como principal limitação a inibição de sua produção tanto pelo substrato – glicerol – quanto pelo produto – DHA (da Silva e col., 2009; Gätgens e col., 2007; Bauer e col., 2005; Hekmat e col., 2003).

## **1 GLICERINA E SUAS APLICAÇÕES**

Em virtude da sua estabilidade química e baixo poder calorífico, a utilização direta do glicerol como combustível é limitada. Porém, devido a sua versatilidade, não toxicidade, ausência de cor e odor, o glicerol é insumo e matéria prima para a indústria química, possuindo uma ampla aplicação nas indústrias farmacêuticas, cosméticas, de tabaco e alimentícias, as quais utilizam seus derivados na forma de ésteres, poli glicerina e resinas, enquanto sua utilização como produto final é limitada a quantidades menores. O glicerol é o principal coproduto gerado na produção de biodiesel, sendo que aproximadamente 10% do volume total de biodiesel produzido corresponde ao glicerol (DASARI et al., 2005). Este coproduto, também chamado de glicerina, na forma pura possui inúmeras aplicações industriais, como por exemplo em aditivos para a indústria de cosméticos, de medicamentos, de alimentos e indústria química em geral (VASCONCELOS, 2012). No entanto, esta quantidade não é totalmente absorvida e o excedente de glicerina vem saturando o mercado, sendo sua oferta maior que a procura, levando assim a queda do preço desse coproduto e a estocagem do mesmo sem um destino certo (SANTOS, 2011). Uma alternativa viável para o excedente de glicerina é a exportação, pois em 2014 o Brasil exportou um total de 211 mil toneladas, tendo a China como o maior destino, com cerca de 80% do total (EPE, 2015).

Com o intuito de evitar futuros problemas derivados da acumulação de glicerol e para tornar a produção de biodiesel mais competitiva, torna-se necessária a busca de alternativas para o uso do glicerol bruto gerado nesta produção. Enfatiza-se neste artigo os avanços tecnológicos no que concerne à importância do reaproveitamento do glicerol residual, para a geração de produtos com valor agregado que promovam a comercialização deste nos diversos ramos da indústria. O 1,2 propanodiol, também conhecido como propileno glicol (PG) é um produto com aplicações em indústrias de alimentos, bebidas, cosméticos, farmacêuticas, entre outras. Ele é produzido tradicionalmente na indústria petroquímica pelo processo de hidratação de óxido de propileno (CHIU, 2006). PG é um líquido incolor, solúvel em água, de viscosidade média e não tóxico.

Em se tratando de usos da glicerina na indústria alimentícia, a glicerina é utilizada como espessante de sobremesas e molhos, como umectantes na fabricação de refrigerantes, doces e balas e como um meio facilitador de transferência de calor, permitindo que o alimento possa ser resfriado rapidamente e não perdendo algumas de suas características desejáveis. Devido ao seu caráter umectante, é empregada também na indústria de cosméticos, em produtos de hidratação, como xampus e condicionadores de cabelo, tônicos capilares, loções, protetores solares, cremes pós-se,

géis, loções de barbear, desodorante e maquiagem (bases, batons etc.) (PAGLIARO et al., 2007; SINGHABHANDHU, 2010).

Na indústria farmacêutica é empregada na formulação de elixires, pomadas, cremes, xaropes para tosse, expectorantes, antibióticos e antissépticos, plastificantes para cápsula de medicamentos e seus derivados são utilizados como tranquilizantes, agentes para controle de pressão e anestésicos.

A glicerina também é empregada nas indústrias têxteis, amaciando e flexibilizando os tecidos, e na lubrificação do processamento de fibras (MOTA et al., 2009; SINGHABHANDHU, 2010).

Durante o processamento de produtos das indústrias de tabaco, também são consumidas grandes quantidades de glicerina, pois ela ajuda a manter a umidade, prevenindo o ressecamento do produto (MOTA et al., 2009; SINGHABHANDHU, 2010).

É também empregada na indústria celulósica, sendo usada como plastificante para elevar a resistência e a maleabilidade do papel (BATISTA, 2008).

Ainda, apresenta empregabilidade até na fabricação de explosivos, a partir da nitração da glicerina, gerando a nitroglicerina (BATISTA, 2008)

No Brasil, ainda não há uma legislação específica no tocante ao descarte da glicerina, apenas para efluentes industrial em geral. As possíveis formas de descarte são o despejo nos rios e a queima, porém, essas duas formas de descarte acarretam graves problemas ambientais. Algumas indústrias usam a glicerina para produzir energia, por outro lado, algumas empresas estocam o material, sem dar um destino específico ao mesmo (BATISTA, 2008).

## **2 BIORREFINARIAS**

Atualmente, se tornou recorrente o uso de resíduos industriais como matérias-primas para outros produtos. Esta prática está inserida no escopo de biorrefinaria, onde tudo é reaproveitado, sendo capaz de gerar outros produtos de valor agregado e de mitigar resíduos potencialmente poluidores. Uma biorrefinaria por exemplo, é capaz de produzir biocombustíveis, energia e produtos químicos de base renovável. Segundo o National Renewable Energy Laboratory (NREL) dos Estados Unidos, uma biorrefinaria é uma unidade que integra os processos de conversão da biomassa e equipamento para produzir múltiplos combustíveis, químicos e energia. Nos dias de hoje, há ao menos quatro tipos de biorrefinarias classificadas de acordo com o tipo de biomassa em que ela processa. As biorrefinarias verdes são baseadas em biomassa verde (gramíneas, cereais

imaturos etc.). As biorrefinarias de planta inteira são baseadas em grãos comestíveis que são fontes de amido. Há também as biorrefinarias lignocelulósicas e as aquáticas, a qual se baseia na biomassa das algas.

As biorrefinarias são muitas vezes comparadas com as refinarias de petróleo apesar de utilizarem matéria biológica como matéria prima, substituindo o petróleo e se inserir no escopo da engenharia, química e biotecnologia. O conceito Biotecnologia refere-se ao uso de células ou sistemas bioquímicos em processos de produção de bens ou de prestação de serviços. “É toda tecnologia de processo ou produto que lance mão, em pelo menos uma de suas etapas, da ação de microrganismos, células animais ou vegetais, ou de substâncias produzidas por estes agentes biológicos, sendo caracterizada por sua multidisciplinaridade” (Rehn & Reed (1993)).

Além de serem úteis no setor da agroindústria de alimentos, os microrganismos e enzimas possuem aplicação nas indústrias químicas, de energia e de materiais. Os microrganismos são essenciais para atender de forma eficaz as demandas na transição de uma economia baseada em matérias-primas de origem fósseis para a biotecnologia. Segundo Bruno Brasil (Collares, 2016), pesquisador da Embrapa Agroenergia, "Microrganismos são vistos em uma biorrefinaria como um agente transformador de matéria-prima. A diversidade de microrganismos existentes no Brasil traz uma enorme versatilidade metabólica para gerar novos produtos".

De acordo com o pesquisador da Embrapa Joao Ricardo Moreira de Almeida, a seleção e a avaliação de novas linhagens de bactérias e leveduras para aplicação em processos fermentativos permitirão avanços biotecnológicos na área de biodiesel e biorrefinarias no país (Almeida, 2011). Nesse contexto, a glicerina bruta (coproduto do biodiesel gerado em larga escala), por exemplo, terá um melhor aproveitamento resultando melhoria da economia do processo, contribuindo também para o estabelecimento de novas rotas bioquímicas de produção de químicos com alto valor agregado.

### **3 PRODUTOS QUÍMICOS DERIVADOS DO GLICEROL**

O glicerol apresenta uma molécula de natureza reduzida, por isso, os microrganismos são capazes de convertê-la em metabólitos, tendo seus rendimentos semelhantes aos alcançados com o metabolismo de açúcares. Observa-se que diversos produtos químicos potencialmente capazes de serem produzidos pela fermentação de glicerina bruta são produzidos a partir do petróleo ou pela fermentação microbiana. (Tabela 1)

**Tabela 1 - Mercado de produtos químicos e processos de produção atuais**

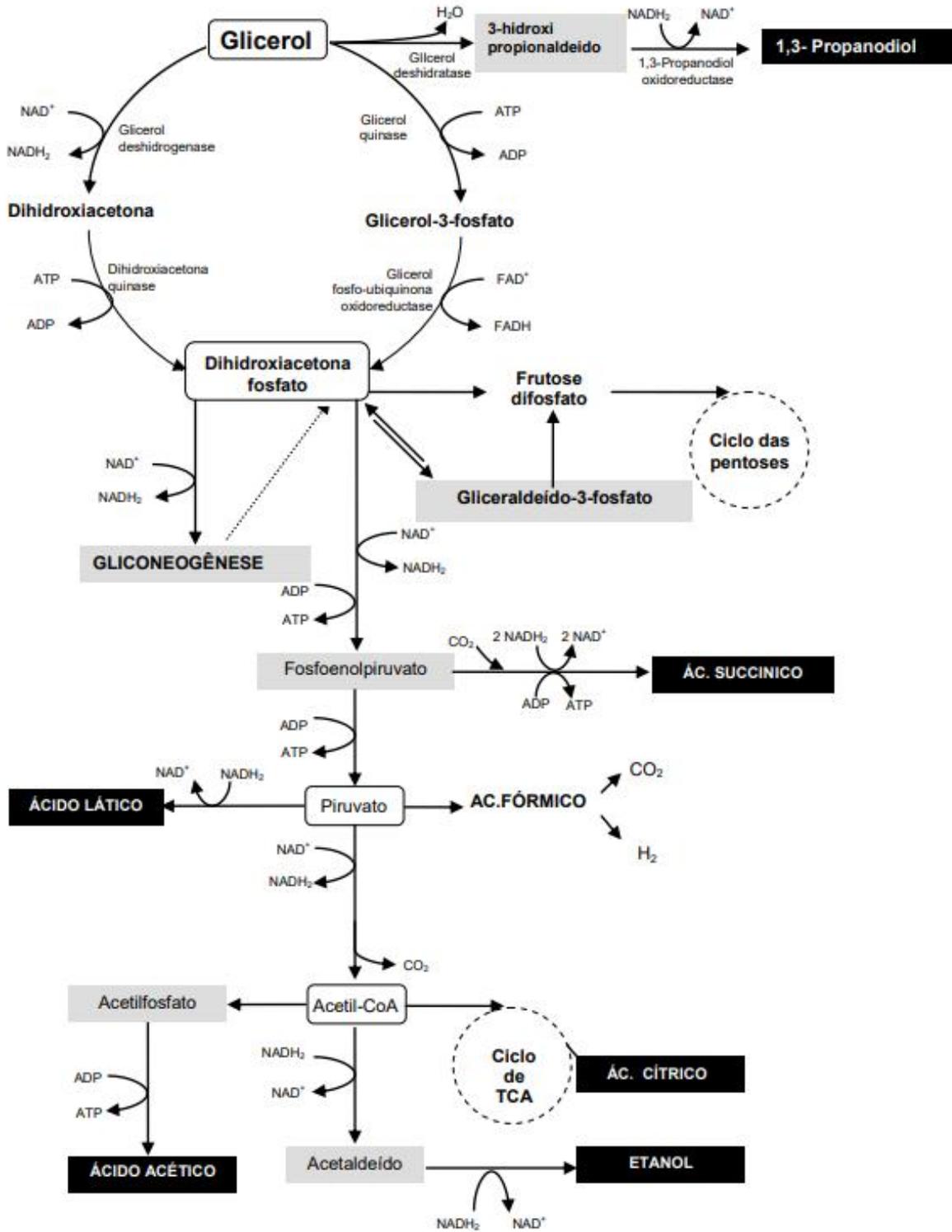
Produto	Produção Anual (ton)	Processo de produção	Referência
<b>1,3-Propanodiol</b>	130.000	Petroquímica	(NNDCC, 2008)
<b>Etanol</b>	61.000.000	Fermentação Microbiana	(NNFCC, 2010)
<b>n-Butanol</b>	2.800.000	Petroquímica	(NNDCC, 2008)
<b>2,3-Butanodiol</b>	1.250.000	Petroquímica	(ICIS, 2011)
<b>Ácido láctico</b>	350.000	Fermentação Microbiana	(NNDCC, 2011)
<b>Ácido succínico</b>	16 - 30.000	Petroquímica	(NNFCC, 2010)
<b>Ácido cítrico</b>	1.600.000*	Fermentação Microbiana	(SAUER et al., 2008)

**Fonte:** Microrganismos para produção de químicos a partir da glicerina bruta gerada na produção de biodiesel, Embrapa. Adaptado de (Almeida, 2011).

A conversão microbiana de glicerol através de rotas biotecnológicas em produtos de maior valor agregado, é uma alternativa para uma maior valorização da produção de biodiesel. (PAPANIKOLAU et al., 2002; ITO et al., 2005; ZHAO; CHEN; YAO, 2006). Além disso, reutilizar o glicerol contribui para minimizar impactos ambientais negativos gerados pelo seu descarte e acúmulo (YAZDANI; GONZALEZ, 2007). Portanto faz se necessário o desenvolvimento e investimento em novas tecnologias para valorização do glicerol, o que resultará na continuação e ampliação da cadeia produtiva de biodiesel.

Nesse contexto, tem sido proposto vários meios para a produção de diversos produtos. Através do glicerol é possível produzir desde ração para alimentação animal, propeno para produção de polímeros biodegradáveis, produção de etanol e hidrogênio por processos biotecnológicos e outros ácidos através da oxidação do glicerol. A Figura 2 ilustra a rota bioquímica da fermentação do glicerol.

Figura 2 - Vias metabólicas de assimilação de glicerol por microrganismos e seus possíveis produtos (Adaptado de: GANCEDO; GANCEDO, 1968; HAUGE; KING; CHELDELIN, 1955; XIU et al., 2007)



Fonte: Aproveitamento biotecnológico do glicerol derivado da produção de biodiesel para a obtenção de biomassa e ribonucleotídeos.

Segundo Costa (2010) após a entrada do glicerol na célula, por difusão, este pode ser metabolizado por pelo menos dois modos paralelos compreendendo quatro enzimas codificadas pelo regulon *dha*. O primeiro modo é a oxidação do glicerol pela glicerol-dehidrogenase (GDH) a dihidroxiacetona (DHA) com a geração de equivalentes redutores (NADH<sub>2</sub>), o qual é então fosforilado pela dihidroxiacetona kinase (DHAK) e direcionado para o metabolismo central. Depois o piruvato é então convertido a acetilcoenzima A (acetil-CoA), dióxido de carbono e hidrogênio pelo complexo piruvato desidrogenase. O piruvato também pode ser convertido a acetil-Coa e formato, que pode ser prontamente convertido a hidrogênio e a dióxido de carbono por bactérias tais como *Escherichia coli*. Acetil-Coa é finalmente convertido a acetato, butirato e etanol dependendo do microrganismo e das condições do ambiente. NADH<sub>2</sub> é utilizado na formação de butirato e etanol e o NADH<sub>2</sub> residual pode ser oxidado produzindo hidrogênio e NAD. O ATP é gerado na formação do butirato e acetato do acetil CoA. Um segundo modo, numa via presente em alguns organismos, é a desidratação do glicerol a 3-hidroxi propionaldeído (3-HPA) pela gliceroldehidratase (GDHt), o qual é convertido a 1,3 propanodiol pela enzima 1,3 propanodiol oxidoreductase (PDOR com a oxidação de NADH<sub>2</sub>).

Muitas empresas estão buscando alternativas para o uso da glicerina. Algumas empresas acabam estocando o produto, com intuito de encontrar uma finalidade viável, posto que o produto não pode ser descartado livremente no meio ambiente, por se tratar de um composto ser altamente poluidor. O glicerol pode ser transformado em éteres, acetais e ésteres com grandes aplicações industriais, sobretudo para o setor de combustíveis (MOTA et al., 2009).

Apesar da produção de éteres de glicerol pela reação de álcoois primários, como etanol, ser pouco estudada, estes éteres possuem grande potencial para misturas em combustíveis. Além disso os acetais e cetais da glicerina também podem ser misturados a combustíveis, principalmente ao diesel e biodiesel visando a melhoria de propriedades de fluidez e diminuição de particulados (MOTA et al., 2009).

Devido às características como não toxicidade e ausência de cor e odor, o glicerol tem uma ampla aplicação nas indústrias farmacêuticas, cosméticas, de tabaco e alimentícias, as quais utilizam derivados do glicerol na forma de ésteres, poli glicerina e resinas. (Peiter, Alves, Sequinel, & Bautitz, 2016). O seu direcionamento é feito de acordo com o seu grau de pureza (APPLEBY, 2006). A Figura 3 relata uma distribuição percentual das aplicações mais usuais da glicerina (MOTA, 2009).

Figura 3. Tendência dos mercados consumidores de glicerol



Fonte: Adaptado de Mota et al., 2009.

A glicerina pura é amplamente utilizada em formulações farmacêuticas. Devido a suas propriedades e por apresentar características umectantes é encontrada em muitos produtos cosméticos onde a hidratação é desejada, como em condicionadores de cabelo, xampus tônicos capilares, desodorantes, cremes de barbear entre outros produtos. É usado em xaropes para tosse, elixires, expectorantes, pomadas, plastificantes para cápsulas de medicamentos, medicamentos para infecções de ouvido, anestésicos, pastilhas, antibióticos e antissépticos (SINGHABHANDHU, 2010).

Na indústria alimentícia a glicerina pode ser utilizada como umectante e para conservar bebidas e alimentos tais como refrigerantes, balas, bolos, pastas de queijo e de carne, ração animal seca (SANTOS, 2009).

O glicerol pode ser usado para preservar a umidade do tabaco durante seu processamento, e tem sido utilizado na produção de resina alquídica, que é um elemento importante para revestimentos de superfície e tintas de impressão. Na indústria têxtil, é usado para lubrificar, dimensionar e amaciar fios e tecidos (SINGHABHANDHU, 2010).

Não há, no Brasil, legislação específica sobre a forma de descarte dessa glicerina, apenas para efluentes industriais em geral. As duas formas de descarte convencionais possíveis são o

despejo nos rios ou queima, no entanto geram problemas ambientais graves, uma vez que no rio provoca um consumo alto de oxigênio afetando a população aquática, e na queima é liberado na atmosfera a cloreína, substância cancerígena (BATISTA, 2008)

#### **4 GLICERINA PARA A PRODUÇÃO DE DIHIDROXIACETONA**

Obtida comercialmente a partir de glicerol por fermentação microbiana, sobre as bactérias do ácido acético, a 1,3-di-hidroxiacetona (DHA; 1,3-di-hidroxi-2-propanona) é a forma mais simples de cetona dos açúcares (cetoses) e um intermediário importante no metabolismo de carboidratos, plantas e animais superiores formados durante a glicólise. No estado sólido, o DHA existe como um dímero com uma estrutura de dioxano que, após dissolução, se dissocia rapidamente em uma mistura de carbonômeros livres e monômeros hidratados (CIRIMINNA et al., 2018).

Em uma reação típica de Maillard (a reação de açúcares com aminoácidos, onipresente no cozimento e, portanto, na vida cotidiana), o DHA reage com a proteína queratina na superfície da pele, produzindo pigmentos chamados melanoidinas, compostos poliméricos que são ligados pela lisina, cadeias às proteínas do estrato córneo. Seus efeitos de escurecimento, explorados também para mascarar os efeitos do vitiligo (tratamento com creme de 6% de DHA, levando a 90% de satisfação dos pacientes com vitiligo), foram descobertos por acidente na década de 1930: tentativas de tratar pacientes com diabetes com doses orais de DHA resultou em uma coloração amarela profunda das gengivas. Diz-se que a primeira loção autobronzeadora foi comercializada em 1945 na Califórnia, embora a maioria dos relatórios concorde que os produtos bronzeadores sem sol estrearam no mercado de cosméticos dos EUA em 1959 (CIRIMINNA et al., 2018).

A conversão microbiana de glicerol em dihidroxiacetona foi observada pela primeira vez por Bertrand em 1898. Um ano depois, o microrganismo isolado por Bertrand mostrou-se idêntico com a bactéria de ácido acético, *B. xylinum*. Em seguida, Vissert Hooft observou que após 6 dias de fermentação a aeração do mosto de fermentação aumentou a extensão da produção de dihidroxiacetona (DHA); 90% com aeração vs 57% sem aeração. Isso foi confirmado por Virtanen e Barliind, acrescentando uma observação de que o pH ideal para essa conversão era de cerca de 5,0. Outros pesquisadores relataram que o pH ideal para a produção de dihidroxiacetona estava entre 4,0 - 4,8.

Em relação com a concentração de glicerol no mosto mais favorável à produção de dihidroxiacetona, foram publicados relatórios que indicavam que, ao aumentar a concentração de glicerina na formulação, uma diminuição na conversão a dihidroxiacetona foi observada.

Esses dados podem ser observados na Tabela 2, que apresentam resultados de rendimento obtidos com concentrações crescentes de glicerina no meio de fermentação.

**Tabela 2 - O efeito da concentração de glicerina no mosto de fermentação sobre rendimento de dihidroxiacetona**

Concentração de Glicerina (%)	Dias de fermentação	Produção de DHA (%)
6	12	80,5
6	16	99,3
6	20	96,6
8	12	60,8
8	16	82,7
8	20	88,7
10	12	32,5
10	16	48,0
10	20	57,9
10	30	60,2
12	12	18,7
12	16	41,2
12	20	40,8
12	30	42,7

**Fonte:** Data from Bernhner, K. and K. Schon, Hoppe-Seyl. Z., 177,107 (1928). Adaptado de GREEN et al., (1961).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a problemática do aquecimento global, o mundo está cada vez mais preocupado em adotar fontes alternativas de energia, como os biocombustíveis.

Dentro dessa perspectiva vemos o Brasil cada vez mais imerso nesse cenário e expandindo seu mercado em bioenergia. Uma das principais fontes adotadas foi o Biodiesel, que a cada ano aumenta mais sua produção e utilização. No entanto, em decorrência dessa expansão, observamos também um aumento na produção do glicerol, subproduto da transesterificação.

O glicerol proveniente da produção de biodiesel pode ter vários destinos e ser utilizados em vários setores econômicos. Podendo ser transformado em éteres, acetais e ésteres com grandes aplicações industriais, e, também há a possibilidade de convertê-lo em dihidroxiacetona, um produto de alto valor agregado, sendo uma excelente oportunidade para melhorar a viabilidade econômica da produção de biodiesel.

## REFERÊNCIAS

- ABIQUIM - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA QUÍMICA. Relatório do SDI – Sistema Dinâmico de Informações Estatísticas. São Paulo, 2008. 36 p.
- ALMEIDA, J. M. (2011). Microrganismos para produção de químicos a partir da glicerina bruta gerada na produção de biodiesel. *Circular Técnica*, 4. Acesso em 02 de junho de 2020.
- APPLEBY, D. B. Glicerol. In: KNOTHE et al. *Manual do biodiesel*. Tradução de Luiz Pereira Ramos. São Paulo: Edgard Blücher, 2006. p.295-309.
- AGEITEC. Glicerol. Disponível em:  
<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fj1mqgo602wyiv802hvm3j818huet.html#:~:text=Ag%C3%A7%C3%A3o%20de%20Informa%C3%A7%C3%A3o%20Tecnol%C3%B3gica,sab%C3%A3o%20do%20azeite%20de%20oliva>. Acesso em: 10 mai. 2020.
- ALMEIDA, J. R. M. D. Microrganismos para produção de químicos a partir da glicerina bruta gerada na produção de biodiesel. *Circular Técnica, Brasília*, v. 7, n. 1, p. 1-6, 2011. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/917438/1/CITE07.pdf>. Acesso em: 10 mai. 2020.
- ANP. Biocombustíveis no Brasil. Disponível em:  
<http://www.anp.gov.br/publicacoes/folderes/2415-biocombustiveis> Acesso em: 22 mai. 2020.
- APOLINÁRIO, F. D. B; PEREIRA, G. D. F; FERREIRA, Jonathan Pedro. Biodiesel e Alternativas para utilização da glicerina resultante do processo de produção de biodiesel. Revista de divulgação do Projeto Universidade Petrobras e IF Fluminense, *APAGAR*, v. 2, n. 1, p. 141-146, 2012. Disponível em:  
<https://pdfs.semanticscholar.org/6957/e04441e50318fdaac0b4f5879e4a4abacc.pdf>. Acesso em: 7 mai. 2020.
- BATISTA, F. *Brasil não tem destino certo para glicerina gerada por biodiesel*. Disponível em:  
<https://www.biodieselbr.com/noticias/biodiesel/brasil-destino-certo-glicerina-gerada-biodiesel-05-06-07>. Acesso em: 12 jul. 2020.
- BIODIESELBR. Glicerina de biodiesel inunda mercado no país e derruba preços. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/noticias/biodiesel/glicerina-biodiesel-inunda-mercado-pais-derruba-precos-02-05-07#:~:text=A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20de%20biodiesel%20%C3%A9,biodiesel%20%20100%20toneladas%20de%20glicerina>. Acesso em: 14 mai. 2020.

BIODIESELBR. Glicerina - Subproduto do biodiesel. Disponível em:

<https://www.biodieselbr.com/biodiesel/glicerina/biodiesel-glicerina>. Acesso em: 7 mai. 2020.

BIODIESELBR. O Que é Biodiesel? Disponível em:

<https://www.biodieselbr.com/biodiesel/definicao/o-que-e-biodiesel>. Acesso em: 8 mai. 2020.

COLLARES, D. (1 de setembro de 2016). *Embrapii investe em gestão de projetos de pesquisa*.

Disponível em Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/15970120/embrapii-investe-em-gestao-de-projetos-de-esquisa#:~:text=%22Microrganismos%20s%C3%A3o%20vistos%20em%20uma,agente%20transformador%20de%20mat%C3%A9ria%20prima.&text=O%20pesquisador%20ainda%20conta%20que,ser%20de%20minutos%20ou%20horas>. Acesso em 04 de jun. de 2020.

COSTA, J. B. (2010). *Produção Biotecnológica de hidrogênio, etanol e outros produtos a partir do glicerol da reação de formação do biodiesel*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre.

CHUN, H. Z.; BELTRAMINI, J. N.; FAN, Y. X.; LU, G. Q. Chemo selective catalytic conversion of glycerol as a bio renewable source to valuable commodity chemicals. *Chemical Society Reviews*, Austrália, v. 37, n. 1, p. 527-549, Nov. 2007.

DASARI, M. A.; KIATSIMKUL, P. P.; SUTTERLIN, W. R.; SUPPES, G. J. Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. *Applied Catalysis A: General*, v. 281, n. 1, p. 225-231, 2005.

DOMIGUES, L. R. *Catalisadores para a valorização do glicerol: uma revisão bibliográfica*. Disponível em: [https://www.unifal-mg.edu.br/engenhariaquimica/system/files/imce/TCC\\_2014\\_1/Lucas%20Ribeiro.pdf](https://www.unifal-mg.edu.br/engenhariaquimica/system/files/imce/TCC_2014_1/Lucas%20Ribeiro.pdf). Acesso: 05 mai. 2020.

DR. Rosaria Ciriminna, Dr Alexandra Fidalgo, Laura M. Ilharco, Dr Mario Pagliaro. *Dihidroxiacetona: uma visão atualizada de um importante bioproduto*. 2018. Acesso julho, 2020.

GARCIA, C. M. *Transesterificação de óleos vegetais*. Disponível em:

[http://taurus.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/249523/1/Garcia\\_CamilaMartins\\_M.pdf](http://taurus.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/249523/1/Garcia_CamilaMartins_M.pdf).

Acesso em: 05 mai. 2020.

GAUTO, M; ROSA, G. *Processos Industriais*. Disponível em:

<https://www.passeidireto.com/arquivo/76869368/cap-9-saboes-detergentes>. Acesso em: 10 mai. 2020.

GREEN, S. R.; WHALEN, E. A. & MOLOKIE, E. (1961). Dihydroxyacetone: Production and uses. *Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering*, 3(4), 351–355. doi:10.1002/jbmte.390030404.

HEKMAT, D.; BAUER, R.; FRICKE, J. Optimization of the microbial synthesis of dihydroxyacetone from glycerol with *Gluconobacter oxydans*. *Bioprocess Biosyst Eng* 26: 109–116, 2003.

HU, Z. C.; ZHENG, Y. G. e SHEN, Y.C.. Dissolved-oxygen-stat Fed-batch Fermentation of 1,3-Dihydroxyacetone from Glycerol by *Gluconobacter oxydans* ZJB09112, *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 15: 651-656, 2010.

INVESTE SP. Pesquisas com microrganismos e enzimas podem ser vantajosas para setor industrial. Disponível em: <https://www.investe.sp.gov.br/noticia/pesquisas-com-microrganismos-e-enzimas-podem-ser-vantajosas-para-setor-industrial/>. Acesso em: 9 mai. 2020.

JUEZ J. e GIMIER, L. (1995) *Ciencia cosmética*: bases fisiológicas y critérios prácticos. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos.

JÚNIOR, C. J. C. *Síntese de um processo de conversão de glicerol em propileno glicol utilizando o software HYSYS*. Disponível em: [http://www.eq.ufc.br/TFC/TFC\\_2010\\_CavalcanteJr.pdf](http://www.eq.ufc.br/TFC/TFC_2010_CavalcanteJr.pdf). Acesso: 10 mai. 2020.

JUNIOR, N. P; BON, E. P. D. S; FERRARA, Maria Antonieta. Tecnologia de Bioprocessos. *Séries em biotecnologia*, Rio de Janeiro, v. 1, n. 5, p. 1-63, 2008. Disponível em: <http://www.eq.ufrj.br/vestibular/nukleo/pdfs/series-em-biotecnologia-vol-i-tecnologia-de-bioprocessos.pdf>. Acesso em: 6 mai. 2020.

LICHTMAN, Marshall A. Alfred Nobel and His Prizes: From Dynamite to DNA. *Rambam Maimonides Medical Journal*, v. 8, n. 3, e. 0035, 2017.

MA, L.; WENYU, L.; XIA, Z. & WEN, J.; Enhancement of dihydroxyacetone production. *Biochemical Engineering Journal* 49, 61–67, 2010.

MISHRA, R., JAIN, S. R., KUMAR, A. Microbial production of dihydroxyacetone *Biotechnology Advances* 26: 293–303, 2008.

MOTA, Claudio K. A, SILVA, Carolina X. A. da e GONÇALVES, Valter L. C.. *Gliceroquímica*: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. 2009. Acesso julho, 2020.

MOTA, C. J. D. A; PINTO, Bianca Peres; LIMA, A. L. D. Glycerol: A Versatile Renewable Feedstock for the Chemical Industry. 1. ed. [S.l.]: *Springer International*, 2017. p. 1-110.

MOTA, Claudio J. A.; SILVA, Carolina X. A. da; GONCALVES, Valter L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. *Química Nova*, v.32, n.3, p.639-648, 2009. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422009000300008&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000300008&lng=pt&nrm=iso). Acesso em 10 mai. 2020.

PEITER, G. C. *et al.* Alternativas para o uso do glicerol produzido a partir do biodiesel. *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, v. 5, n. 4, p. 519-537, 2016.

SCIELO. *Glicerol*: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422011000200025#back](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422011000200025#back). Acesso em: 12 mai. 2020.

SANTOS, Alexsandro Fernandes dos. *Novas Perspectivas da Glicerina Síntese de Novos Nitratos com Propriedades Farmacológicas e Melhoradores de Cetano*. 2009. 116 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

SINGHABHANDHU, A., & TEZUKA, T. (2010). A perspective on incorporation of glycerin purification process in biodiesel plants using waste cooking oil as feedstock. *Energy*, 35(6), 2493–2504. doi:10.1016/j.energy.2010.02.047.

VASCONCELOS, YURI. Resíduos bem-vindos. *Revista Pesquisa FAPESP*, ed. 196, junho de 2012. Disponível em: <http://revistapesquisa.fapesp.br/2012/06/14/residuosbem-vindos/>. Acesso em: 15 jun. 2015.

WEI, S.H.; SONG, Q.X.; WEI, D.Z. Repeated use of immobilized *Gluconobacter oxydans* cells for conversion of glycerol to dihydroxyacetone. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 37: 67–76, 2007.

WITTGENSTEIN, E.; BERRY, H.K.; Staining of skin with dihydroxyacetone. *Science*, 132:894–895, 1960.

YAZDANI, Syed Shams; GONZALEA, Ramon. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. *Curr Opin Biotechnol*, v. 18, n. 3, p. 213-219, 2007.

YAZDANI, Syed Shams; GONZALEA, Ramon. Engineering *Escherichia coli* for the efficient conversion of glycerol to ethanol and co-products. *Metabolic Engineering*, v. 10, n. 6, p. 340-351, 2008.

ZELIKIN, A. N.; PUTNAM, D.; ZAWANEH, P. N. A Functionalizable Biomaterial Based on Dihydroxyacetone, an Intermediate of Glucose Metabolism; *Biomacromolecules* 7, 3239-3244, 2006.

**1 SABINO, Vitória Carolina Campos** é discente do Curso Superior em Tecnologia em Biocombustíveis – FATEC – Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Dep. “Roque Trevisan”.  
vitoriacarolinasabino@gmail.com

**2 BELLATO, Pedro Henrique Campos** é discente do Curso Superior em Tecnologia em Biocombustíveis – FATEC – Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Dep. “Roque Trevisan”.  
Pedro\_bellato@outlook.com

**3 NASCIMENTO, Daniela Defavari do** é Docente em Tecnologia em Alimentos e Biocombustíveis – Faculdade de Tecnologia Piracicaba “Deputado Roque Trevisan” - FATEC Piracicaba.

**4 BORTOLETO, Gisele Gonçalves** é Docente em Tecnologia em Biocombustíveis – Faculdade de Tecnologia Piracicaba “Deputado Roque Trevisan” - FATEC Piracicaba.

# Relação da Aglomeração com a Hidrofobicidade Celular de Leveduras Selvagens e Seleccionadas para Produção de Etanol

SELVENCA, Leonardo Pereira  
SILVA, Romário Conceição  
SENA, Hildo Costa de  
PONTES, Wesley

## Resumo

Apesar da ocorrência de fenômenos de floculação, flotação, formação de espuma ou sedimentação em fermentações alcoólicas são poucos os métodos capazes de prever essas características nas leveduras. O trabalho teve o objetivo de buscar identificar a relação desses fenômenos com a hidrofobicidade celular e capacidade de auto agregação de leveduras. O experimento foi baseado em um método bifásico composto pelas fases solvente orgânico e aquosa, respectivamente, para obtenção do parâmetro de hidrofobicidade celular e método de sedimentação padronizado em espectrofotômetro utilizando tubos e ensaios visando obtenção do parâmetro de auto agregação. A avaliação do potencial hidrofóbico da levedura isolada foi feita na usina CLEALCO AÇÚCAR E ÁLCOOL S/A no mês de maio de 2019 e comparado com os resultados de seis leveduras seleccionadas que possuem alta performance fermentativa, baixa tendência a floculação e flotação ou produção de espuma assim como sua taxa de auto agregação que indica a tendência da rápida sedimentação. Como forma rápida de identificação da persistência e dominância das leveduras foi empregado um meio de cultura cromogênio sólido capaz de fornecer diferentes perfis morfológicos das colônias de acordo com o gênero e espécie da levedura. Os resultados dos ensaios indicaram que a levedura dominante do processo fermentativo da usina CLEALCO foi uma estirpe com forte produção de espuma e rápida sedimentação, conseqüentemente apresentou uma alta hidrofobicidade e alta taxa de agregação. O método proposto foi capaz de fornecer informações sobre a capacidade floculante, flotante, de produção de espuma ou rápida sedimentação das cepas dominantes durante o processo fermentativo.

**Palavras-Chave:** Floculação; Hidrofobicidade; Sedimentação; Leveduras; Fermentação.

## Abstract

Despite the occurrence of flocculation, flotation, foaming or sedimentation phenomena in alcoholic fermentations there are few methods capable of predicting these characteristics in yeasts. The work aimed to identify the relationship of these phenomena with cellular hydrophobicity and self-aggregation capacity of yeasts. The experiment was based on a two-phase method composed of the organic solvent and aqueous phases, respectively, to obtain the cellular hydrophobicity parameter and standardized sedimentation method in a spectrophotometer using tubes and tests to obtain the self-aggregation parameter. The evaluation of the hydrophobic potential of the isolated yeast was made at the CLEALCO AÇÚCAR E ÁLCOOL S/A plant in May 2019 and compared with the results of six selected yeasts that have high fermentation performance, low tendency to flocculation and flotation or foam production as well as its self-aggregation rate that indicates the tendency of fast sedimentation. A solid chromogen culture medium capable of providing different morphological profiles of the colonies according to the genus and species of the yeast was used as a quick way of identifying the persistence and dominance of the yeasts. The results of the tests indicated that the dominant yeast in the fermentation process of the CLEALCO plant was a strain with strong foam production and fast sedimentation, consequently it presented a high hydrophobicity and high aggregation rate. The proposed method was able to provide information on the flocculating, flotting, foaming or rapid sedimentation capacity of the dominant strains during the fermentation process.

**Keywords:** Flocculation; Hydrophobicity; Sedimentation; Yeasts; Fermentation.

### **Resumen**

A pesar de la aparición de fenómenos de floculación, flotación, espumación o sedimentación en las fermentaciones alcohólicas, existen pocos métodos capaces de predecir estas características en las levaduras. El trabajo tenía por objeto identificar la relación de estos fenómenos con la hidrofobia celular y la capacidad de autoagregación de las levaduras. El experimento se basó en un método de dos fases compuesto por las fases de disolvente orgánico y acuoso, respectivamente, para obtener el parámetro de hidrofobia celular y un método de sedimentación normalizado en un espectrofotómetro utilizando tubos y pruebas para obtener el parámetro de autoagregación. La evaluación del potencial hidrofóbico de la levadura aislada se realizó en la planta de CLEALCO AÇÚCAR E ÁLCOOL S/A en mayo de 2019 y se comparó con los resultados de seis levaduras seleccionadas que tienen un alto rendimiento de fermentación, una baja tendencia a la floculación y a la flotación o a la producción de espuma, así como su tasa de autoagregación que indica la tendencia a la sedimentación rápida. Se utilizó un medio de cultivo de cromógeno sólido capaz de proporcionar diferentes perfiles morfológicos de las colonias según el género y la especie de la levadura, como una forma rápida de identificar la persistencia y la dominancia de la levadura. Los resultados de los ensayos indicaron que la levadura dominante en el proceso de fermentación de la planta CLEALCO era una cepa con una fuerte producción de espuma y una rápida sedimentación, y por consiguiente presentaba una alta hidrofobicidad y una elevada tasa de agregación. El método propuesto pudo proporcionar información sobre la capacidad de floculación, flotación, espumación o sedimentación rápida de las cepas dominantes durante el proceso de fermentación.

**Palabras clave:** Floculación; Hidrofobia; Sedimentación; Levaduras; Fermentación.

## **INTRODUÇÃO**

A fermentação alcoólica ocorre sempre com leveduras inicialmente escolhidas de acordo com a característica do processo produtivo. Entretanto, devido às condições do meio de cultura não serem estéreis, essas leveduras são rapidamente substituídas por leveduras naturais ou selvagens, caracterizadas como contaminantes num processo industrial. As leveduras selvagens ou contaminantes podem ser definidas como organismos que produzem mudanças indesejáveis em alimentos ou processos fermentativos (ANDRIETTA et al., 1997). Estas são provenientes de ambiente com muitos fatores desfavoráveis para o crescimento e se adaptando por meio de seleção natural a viverem nesses ambientes.

Todavia, para obtenção de robustez e resistência muitas leveduras possuem alta tendência à floculação, flotação, rápida sedimentação ou formação de espuma. Com consequência, estas leveduras são responsáveis pela variação do rendimento em vinícolas e cervejarias devido as suas propriedades bioquímicas que causam problemas no sabor, cor ou turbidez do produto (PHAFF et al., 1966).

Atualmente, as cepas seleccionadas respondem pela produção de aproximadamente 70 a 75% de todo etanol produzido no país e o seu uso tem a função de barrar ao máximo a entrada de cepas de leveduras selvagens, reduzindo o consumo de antiespumantes quando se compara a fermentação com predominância de levedura seleccionada com a de predominância de leveduras selvagens (LNF Latino Americana, 2019).

Em se tratando de morfologia, as leveduras seleccionadas apresentam características morfológicas celulares distintas como células dispersas e com perfil fenótipo em meio sólido de colônias de bordas lisas, brilhantes e livres de textura crespas ou rugosas. Entretanto, ao contrário das leveduras seleccionadas, o fenótipo das ditas selvagens é rapidamente identificado devido seu perfil celular com mais de cinco células unidas formando cachos e em meio sólido apresentar colônias opacas, com bordas irregulares e textura crespas ou rugosas (RODRIGUES et al., 2018).

Diversas técnicas têm sido aplicadas visando obtenção da morfologia celular de leveduras. Habitualmente é utilizada lâmina úmida com a levedura do processo em comparação visual com lâmina úmida de leveduras de partida em microscópio com auxílio de corantes capazes de evidenciar células vivas e mortas (ANTONINI, 2010). Nessas análises observam-se que as

leveduras seleccionadas não apresentam característica de floculação, flotação ou produção de espuma e seus valores de hidrofobicidade e aglomeração celular são utilizadas como referência para analisar valores obtidos de outras cepas. As interações hidrofóbicas desempenham um papel crucial em fenômenos de agregação microbiana. Estudos indicam que um aumento na floculação está fortemente correlacionado com um aumento da hidrofobicidade da superfície celular quando se utiliza, por exemplo, as estirpes de *Saccharomyces* (TEIXEIRA et al., 1995; STRATFORD, 1989).

O alto fator de auto agregação celular é obtido em cepas que possuem rápida sedimentação, tanto formação de flocos ou não, divergindo de uma relação com a hidrofobicidade celular. A falta de relação entre hidrofobicidade e comportamento de agregação também foi relatado para cepa de um *S. cerevisiae* usada para produção contínua de etanol (MOZES et al., 1994) e para *S. cerevisiae* leveduras de vinho (SUZZI et al., 1994).

No decorrer do processo fermentativo ocorre uma competição de leveduras de partida (*starter*) e leveduras selvagens de processo denominada de dinâmica populacional. Essa competição é capaz de selecionar a levedura que dominará o processo fermentativo de acordo com sua capacidade adaptativa. A capacidade de formação de espuma, assim como a floculação, vem sendo relacionada com a hidrofobicidade da superfície celular das leveduras, pois ao comparar a hidrofobicidade superficial destas células formadoras de espumas com células não formadoras de espuma é possível identificar que a hidrofobicidade é maior nas superfícies celulares das leveduras espumantes (SHIMOI et al., 2002; MIYASHITA et al., 2004).

Acredita-se que a hidrofobicidade das superfícies celulares das leveduras permite uma maior afinidade destas com a interface ar-líquido das bolhas, levando assim, ao acúmulo de uma grande quantidade de células na espuma formada (DE-SOUSA et al., 2006).

Dessa forma, neste trabalho após obtenção de levedura isolada do processo de fermentação industrial, busca-se relacionar a rápida sedimentação ou flotação da levedura em biorreatores com a hidrofobicidade celular.

## **1 Objetivos**

Este trabalho teve o objetivo de analisar o poder de auto agregação de leveduras e hidrofobicidade celular de sete estirpes de leveduras fermentativas, sendo seis destas seleccionadas (CAT-1; PE-2; BG-1; SA-1; FERMELE e FT-858) e uma isolada da unidade Clealco Açúcar e Álcool S/A (FQ-11).

## 2 Metodologia

O processo fermentativo da usina CLEALCO AÇÚCAR E ÁLCOOL S/A, localizada na fazenda Pouso Alegre, Queiroz-SP, iniciou-se com cepas de leveduras com características fermentativas conhecidas sendo um *starter* misto composto por seis estirpes de leveduras com perfil morfológico liso, ausência de espuma, flotação ou floculação sendo elas: CAT-1 isolada na USINA CATANDUVA; PE-2 isolada na USINA DA PEDRA; BG-1 isolada na USINA BARRA GRANDE; SA-1 isolada na USINA SANTA ADÉLIA; FERMEL e FT-858 isoladas pela FERMENTEC.

### a. Propagação de levedura

As células de leveduras estavam armazenadas em tubos de ensaio com meio de cultura YPD (*Yeast Peptona Dextrose*) sólido inclinado com adição de óleo mineral estéril para proteção das colônias em temperatura de  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ . Foram coletadas duas alçadas de massa celular com auxílio de uma alça de platina estéril que foi suspensa novamente em 100 mL de meio YPD líquido e incubados em estufa bacteriológica por 24 horas em temperatura de  $33 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

### b. Análise de auto agregação ou adesão celular das leveduras

Após propagação, as leveduras foram separadas por centrifugação a 3000 rpm por 5 minutos, lavadas duas vezes e suspensas novamente em tampão PBS com pH 7,2. Os ensaios de auto agregação foram realizados a  $33 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Em todos os experimentos a concentração inicial de microrganismos foi padronizada para  $\text{DO}_{600\text{ nm}} = 1$  aproximadamente. A padronização ocorreu da seguinte forma: 5 mL de tampão PBS pH 7,2 foi adicionado em triplicada em tubos de ensaios com rosca (20x150mm) e adicionado 0,1 mL de amostra lavada em tampão PBS pH 7,2 até densidade óptica desejada de  $\pm 1$  em 600 nm para cada tempo correspondente. A densidade ótica de cada suspensão foi medida a 600 nm em um espectrofotômetro marca HACH, modelo DR-2800, utilizando os próprios tubos em intervalos de 2 e 4 horas sem agitação da suspensão.

A porcentagem de auto agregação (%AA) foi calculada como:  $\%AA_t = [(OD_i - OD_t) \div OD_i] \times 100$  onde  $OD_i$  é a densidade ótica inicial da suspensão e  $OD_t$  é a densidade ótica no tempo  $t$  (GOLOWCZYC et al., 2009).

### c. Análise de hidrofobicidade da superfície celular das leveduras

Foi empregada metodologia proposta por ROSENBERG et al. (1980) com modificação do solvente uma vez que, em revisão bibliográfica, autores como FIDALGO (2006) citam que o solvente tolueno ou hexano seria o mais ideal para determinação desse parâmetro. As leveduras foram cultivadas durante 24 h a  $33 \pm 1^\circ\text{C}$  em caldo YPD. Em seguida lavadas com uma solução PBS estéril (pH 7,2), retirados e suspensos novamente no mesmo tampão.

A suspensão foi em seguida ajustada para  $\text{DO}_{600\text{ nm}} = 1$  aproximadamente (A1). Três mililitros das suspensões de leveduras foram colocados em contato com 1 mL do hexano em tubo tipo Falcon. A densidade óptica da fase aquosa (A2) é resultado da mistura da suspensão de levedura com hexano em agitador de tubos (Vórtex) marca Phoenix, modelo AP56, durante 60 s, depois de 2 h a  $33 \pm 1^\circ\text{C}$ . A fase aquosa foi cuidadosamente removida com auxílio de micropipeta e a absorbância a 600 nm foi avaliada em cubeta de 10 mm (MEIRA et al., 2012). O índice de hidrofobicidade (IHPC) foi calculado como:  $\%IHPC = [(A1 - A2) \div A1] \times 100$ .

#### **d. Identificação de dominância e persistência**

A identificação das leveduras foi realizada com base na morfologia da colônia crescida em meio cromogênico sólido composto por corantes exógenos capazes de atribuir diferentes colorações a leveduras diferentes de gênero e espécie (LIEVITO BIOTECNOLOGIA, 2018).

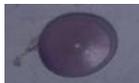
### **3 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

A persistência e dominância das estirpes selecionadas observada por meio da técnica de biologia molecular foi de apenas dois meses após observação morfológica das colônias isoladas em meio de cultura cromogênico desenvolvido pela empresa LIEVITO BIOTECNOLOGIA. Nos dois meses em que as leveduras selecionadas dominavam o processo foi observado menor consumo de antiespumante e ausência de floculação, flotação, produção de espuma ou rápida sedimentação.

Nos meses subsequentes foi possível notar variabilidade fenotípica nos biorreatores comprovando a ocorrência da dinâmica populacional. No mês de maio do corrente ano, na usina CLEALCO AÇÚCAR E ÁLCOOL S/A foi constatada a persistência e dominância de um fenótipo selvagem (FQ-11), sendo ele rugoso, de rápida sedimentação celular e com alta produção de espuma. Após o domínio do fenótipo selvagem notou-se aumento de espuma, sedimentação variável entre 10 e 20% bem como uma flotação das leveduras no biorreator. A cepa não

apresentou capacidade de flocular e formar flocos bem definidos, porém teve alta capacidade de sedimentação. Os dados de porcentagem de agregação celular e hidrofobicidade celular foram obtidos por meio da leitura da densidade em percurso óptico a 600 nm e a caracterização fenotípica foi realizada de acordo com cor, formato, textura, elevação e formato da borda crescidas em meio de cultura sólido. Estes resultados são observados na Tabela 1.

**Tabela 2 -Resultado dos testes de auto agregação e hidrofobicidade celular realizados com leveduras selecionadas e uma levedura isolada do processo fermentativo da usina Clealco Açúcar e Álcool S/A, FQ-11.**

Perfil fenotípico	Auto agregação (%)		Hidrofobicidade Celular (%)	
	Cepas	2h		4h
CAT-1		40,16	87,97	49,93
PE-2		70,25	93,50	51,02
BG-1		36,85	44,95	48,10
SA-1		36,85	75,85	66,62
FERMEL		68,30	95,65	25,55
FT-858		64,50	90,30	61,37
FQ-11		94,25	95,15	85,54

Fonte: Autores.

Os resultados obtidos condizem com o proposto por alguns autores. Stratdford (1992), citado por Pacheco (2010), verificou que as células de leveduras se agregam devido às forças de Van der Waals na ausência de outro tipo de força atrativa.

Estas forças atrativas são importantes para que as leveduras superem as forças de repulsão eletrostática entre as células. As leveduras rugosas ou também chamadas de leveduras floculantes possuem a habilidade de se agregarem espontaneamente e formar flocos. Stewart e Russel (1975) descreveram a floculação como sendo uma agregação de células inicialmente livres, que após se unirem, sedimentam no meio ou flutam. Esse fenômeno ocorre devido a fatores intrínsecos como o controle genético, ou seja, genes que expressam proteínas conhecidas como floculinas que permitem que essas leveduras cresçam de forma floculada e a fatores extrínsecos como as condições do meio em que se encontram e sua interação com a estrutura da parede celular.

O mix composto pelas seis cepas seleccionadas tiveram uma média de porcentagem de 52,81% para o ensaio de auto agregação com duas horas de análise e a levedura isolada do processo fermentativo da Clealco FQ-11 94,25% de capacidade de auto agregação. Isso indica que a levedura isolada da usina Clealco tem rápida sedimentação. A porcentagem de hidrofobicidade celular da cepa isolada apresentou valor superior ao da média das leveduras seleccionadas cerca de 1,70 vezes o que justifica a formação de espuma e flotação.

Em unidade industrial é possível notar efeito da hidrofobicidade celular uma vez que o consumo de antiespumante aumentou de 0,30 kg/m<sup>3</sup> para 0,52 kg/m<sup>3</sup>. Entretanto, a taxa de conversão e o rendimento fermentativo possuem altos índices com média de concentração de etanol de 12% (v/v) no vinho de levedurado. No creme de levedo obtido da centrifugação do biorreator final notou-se alta flotação após observação visual devido à falta de residual de agentes tensoativos, fato esse constatado com a aplicação de antiespumante e ausência visual da flotação pois o antiespumante é capaz de fazer a dispersão das células em meio aquoso.

O método empregado para determinação da hidrofobicidade celular e da porcentagem de auto agregação se mostrou rápido e confiável, podendo ser utilizados para avaliações das capacidades de flotação, floculação, aglomeração ou sedimentação e produção de espuma de leveduras isoladas de unidades industriais em comparação com as leveduras seleccionadas que já possuem características conhecidas.

## **CONCLUSÕES**

Dentro das condições em que os testes foram realizados pode-se observar que a porcentagem de aglomeração celular tem relação direta com a capacidade de sedimentação da levedura o tempo sugerido para a avaliação desse parâmetro é de 2 horas visto que leveduras com alto índice chegaram a 94,25% nesse período e o índice de hidrofobicidade tem concordância

direta em expressar que com seu acréscimo acontece um aumento na produção de espuma, flotação ou floculação em comparação com os resultados das cepas que não apresentam essas características.

## REFERÊNCIAS

- ANDRIETTA, S. R.; ANDRIETTA, M. G. S.; RODRIGUES, M. I. Métodos de caracterização de leveduras de processo utilizando parâmetros cinéticos e produção específica. *STAB Açúcar, Alcool e Subprodutos*, v. 15, n.6, p.32-35, 1997.
- ANTONINI, Sandra Regina Ceccato. Características gerais das bactérias e leveduras: Leveduras. In: *MICROBIOLOGIA da fermentação alcoólica: A importância do monitoramento microbiológico em destilarias*. São Carlos: EdUFSCar, 2010. cap. Morfologia, estrutura celular, metabolismo, nutrição e multiplicação de bactérias e leveduras, p. 93. ISBN 978-85-7600-2222.
- DE-SOUSA, S. R.; OLIVEIRA, K. F.; SOUZA, C. S.; KILIKIAN, B. V. & LALUCE, C. Yeas floation as the result of interplay of supernatant composition and cell-wall hydrophobicity, *Colloids and Surfaces*, v. 29, p. 309-319, 2003.
- FIDALGO, M.; BARRALES, R. R.; IBEAS, J. I. & JIMENEZ, J. Adaptive evolution by mutations in the FLO11 gene, *Proceedings of the Natural Academy of Science of USA*, v. 103, n. 30, p. 11228-11233, 2006.
- GOLOWCZYC, M. A.; MOBILI, P.; GARROTE, G. L.; DE LOS ANGELES SERRADELL, M.; ABRAHAM, A. G.; DE ANTONI, G. L. Interaction between Lactobacillus kefir and Saccharomyces lipolytica isolated from kefir grains: Evidence for lectin-like activity of bacterial surface proteins. *The J Dairy Res.*, v. 76, p. 111-116, 2009.
- LIEVITO Biotecnologia: Monitoramento de Leveduras em Processos Fermentativo. 1. ed. Araraquara: [s. n.], 2018.
- LNF: Leveduras Seleccionadas. Bento Gonçalves: [s. n.], 2019.
- MEIRA, Q. G. S.; BARBOSA, I. M.; ATHAYDE, A. J. A. A.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; SOUZA, E. L. Influence of temperature and surface kind on biofilm formation by Staphylococcus aureus from food-contact surfaces and sensitivity to sanitizers. *Food Control*, v. 25, p. 469-475, 2012.
- MIYASHITA, K.; SAKAMOTO, K.; KITAGAKI, H.; IWASHITA, K.; ITO, K. & SHIMOI, H. Cloning and analysis of the AWA1 gene of a nonforming mutant of a sake yeast. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 97, n. 1, p. 14-18, 2004.
- PACHECO, Thályta Fraga. *Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente*. 2010. 107 f. Dissertação (Mestrado em Engenharias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

PHAFF, H. J.; MILLER, M. W.; MRAK, E. M. *The life of yeasts*. Harvard University Press, Cambridge, 1966, 186 p.

RODRIGUES -Prause, Aline et al. A Case Study of Genomic Instability in an Industrial Strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *G3 (Bethesda, Md.)* vol. 8,11 3703-3713. 6 Nov. 2018, doi:10.1534/g3.118.200446.

ROSENBERG, M.; GUTNICK, D.; ROSENBERG, E. Adherence of bacteria to hydrocarbons, a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. *Fems Microbiol Lett.*, v. 9, p. 29-33, 1980.

SHIMOI, H.; SAKAMOTO, K.; OKUDA, M.; ATTHI, R.; IWASHITA, K. & ITO, K. The AWA1 gene is required for the foam-formation phenotype and cell surface hydrophobicity of sake yeast. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 4, p.2018-2025, 2002.

STEWART, G. G.; RUSSEL, I. Centenary review: one hundred years reseaech and development in the brewing industry. *Journal Institute of Brewing*, London, v. 81, p. 248-257, 1975.

STRATFORD, M. Lectin-mediated aggregation of yeasts: yeasts flocculation. *Biotechnology & Genetic Engineering Reviews*, v. 10, p. 283-341, 1992.

**1 SELVENCA, Leonardo Pereira** é graduando em Tecnologia em Biocombustíveis pela Faculdade de Tecnologia de Araçatuba-SP “Prof. Fernando Amaral de Almeida Prado”. Técnico em Açúcar e Alcool pela instituição ETEC- Amim Jundi de Osvaldo Cruz. Possui conhecimento em microbiologia industrial e de fermentação. Atualmente é microbiologista em uma usina de açúcar e álcool. leonardoselvenca@gmail.com

**2 SILVA, Romário Conceição** é graduando em Tecnologia em Biocombustíveis pela Faculdade de Tecnologia de Araçatuba-SP.

**3 SENA, Hildo Costa de.** Mestre em Engenharia Química pela UNICAMP (2011) e Engenheiro Químico pela Universidade Federal de Sergipe - UFS (2008). Tem experiência em pesquisa na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos com ênfase em Fisiologia Pós-Colheita e na área de Ciência e Tecnologia de Polímeros com ênfase em Fenômenos de Interface. Atualmente é professor de ensino superior no Curso Superior de Tecnologia em Biocombustíveis da Fatec Araçatuba. Leciona as disciplinas de Análise Instrumental, Operações unitárias e Produção de Bioetanol no referido curso. Além disso, desenvolve pesquisas na área de bebidas fermento-carbonatadas e coordena projetos de extensão voltados a estudantes do Ensino Médio. hildosena@gmail.com, Avenida Prestes Maia, 1764, Bairro Ipanema, Araçatuba, SP, CEP 16052-045.

**4 PONTES, Wesley** é docente da Faculdade de Tecnologia de Araçatuba-SP.