

**Estudo da Viabilidade de Obtenção de Etanol por  
*Saccharomyces cerevisiae* em Mosto de Frutos de Caqui  
(*Diospyros kaki* L.)**

**A Study of Ethanol Obtention Practicability from  
*Saccharomyces cerevisiae* in Persimon Fruit Must (*Diospyros  
kaki* L.)**

**André Wilson de Moraes Azevedo**

Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO  
Departamento de Engenharia de Alimentos  
*ordallasanta@yahoo.com.br*

**Herta Stutz Dalla Santa**

Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO  
Departamento de Engenharia de Alimentos

**David Chacón Alvarez**

Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO  
Departamento de Engenharia de Alimentos

**Mauricio Rigo**

Universidade Estadual do Centrso-Oeste, UNICENTRO  
Departamento de Engenharia de Alimentos

**Reinaldo Bastos**

Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO  
Departamento de Engenharia de Alimentos

**Osmar Roberto Dalla Santa**

Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO  
Departamento de Engenharia de Alimentos

**Resumo:** O caqui é uma fruta proveniente da Ásia que se adaptou muito bem em solo tropical e que hoje é consumido no mundo inteiro graças a sua composição

nutritiva. O caqui tem larga produção, porém, grande parte da fruta é descartada devido a machucaduras ou mesmo maturação elevada. O objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade de produção de etanol a partir do mosto de caqui. A pesquisa foi realizada com a variedade de caqui Fuyu e foi estudada a influência dos valores iniciais de sólidos solúveis, pH e concentração do inóculo. A fermentação foi conduzida em frascos Erlenmeyers com 150 mL do mosto de caqui, a 28°C por 48 horas. Os resultados demonstraram a viabilidade de obtenção de álcool etílico a partir de mosto de frutos de caqui, no entanto os fatores de concentração inicial do inóculo, de sólidos solúveis e de pH inicial não influenciaram na fermentação e obtenção do produto final (5% de significância). Este trabalho apresentou uma alternativa viável para agregar valor ao caqui, diminuir perdas e com possibilidade de ser realizado pelos produtores em um processo simplificado.

**Palavras-chave:** caqui; fermentação alcoólica; *Saccharomyces cerevisiae*.

**Abstract:** Persimmon is an Asian fruit which grows well in tropical soil. Nowadays, this fruit has been consumed all over the world due to its balanced nutritional composition. The production of Persimmon is relatively great, however, fruit losses with superficial damage and advanced maturation are significant. The objective of our research has been to establish the viability of ethanol production from Fuyu Persimmon fruit must. We analyzed the influence of the initial values of soluble solids, pH and inoculum concentration. Experiments were set up in Erlenmeyer flasks filled with 150mL of Persimmon fruit broth at 28°C for 48 hours of fermentation. Results indicated that it is possible to produce ethanol from persimmon fruit must, although the initial values of soluble solids, pH and inoculum concentration had no significant influence upon fermentation and on the final product obtention ( $p < 0.05$ ). Our research has offered a feasible alternative that can be performed by rural producers with simple procedures, reducing losses and increasing the added-value of Persimmon fruit.

**Key words:** persimmon fruit; alcoholic fermentation; *Saccharomyces cerevisiae*.

## 1 Introdução

Além da uva, bebidas alcoólicas fermentadas de frutos como maçã (*Pyrus malus*), pera (*Pyrus communis*), cereja (*Prunus cerasus*), morango (*Fragaria xananassa*), framboesa (*Rubus idaeus*), laranja (*Citrus sinensis*) e groselha (*Ribes rubrum*) são também produzidas e consumidas em vários países (VOGT e JAKOB, 1986; KOLB, 2002). No Brasil, foram realizados estudos com diferentes espécies de frutos tropicais como cajá (*Spondias mombin*), cacau (*Theobroma cacao*), siriguela (*Spondias purpurea*) e graviola (*Annona muricata*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), acerola (*Malpighia puniceifolia*) e kiwi (*Actinidia deliciosa*); alcançando resultados promissores (SANTOS et al., 2005; BORTOLINI et al., 2001; DIAS et al., 2000; MAEDA e ANDRADE, 2003), demonstrando, dessa forma, mais uma opção para o aproveitamento destes frutos tropicais.

O caqui (*Diospyros kak* L.) pertence à família Ebenaceae, sendo originário da Ásia onde é cultivado há séculos, principalmente na China e no Japão. Atualmente está presente em quase todas as regiões de clima temperado e subtropical do mundo (MOWAT et al., 1995).

A fruta do caqui é composta quase que totalmente de polpa com aparência gelatinosa, onde se concentram boas quantidades de caroteno e são encontradas vitaminas hidrossolúveis, principalmente B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e ácido ascórbico. O caqui apresenta uma quantidade de açúcar que pode variar de 14 a 24%, superando assim a maioria das frutas de consumo popular (GORINSTEIN et al., 1999).

A produção mundial de caqui, em 2004, foi de 2,5 milhões de toneladas (FAO; 2005), sendo que o Brasil foi o quarto maior produtor com 158,1 mil toneladas (ROCHA e BENATO, 2006). A produção nacional de caqui teve início no estado de São Paulo, por volta de 1890, mas a expansão da cultura só se deu a partir de 1920, com a chegada de fruticultores japoneses. Atualmente, o caqui é cultivado principalmente nas regiões Sudeste e Sul (SARRIA, 1998; SIDRA-IBGE, 2003). O período de maturação dos frutos ocorre de fevereiro a maio, com grande oferta no mercado, o que obriga o produtor a vender o produto a preços baixos, pois 90% da produção são comercializados imediatamente após a colheita (BRACKMANN et al., 1997; FERRI et al., 2002). Após colheita e seleção, parte dos frutos não é

comercializada por apresentar características impróprias para a venda e consumo *in natura*, como machucaduras e escoriações, sendo classificados como tipo descarte. A magnitude das perdas “pós-colheita” de frutos *in natura* é estimada em 20 a 50% nos países em desenvolvimento (MELONI, 2003, SARRIA, 1998).

As pesquisas mais recentes, com finalidade de redução das perdas do caqui incluem estudos com uso de baixas temperaturas, atmosfera modificada, embalagens de PVC, reguladores de biossíntese de etileno, desidratação do fruto, aplicação de ácido giberélico, entre outros (GONÇALVES et al., 2006; GONZALEZ et al., 2005; GONZALEZ et al., 2004; GIRARD et al., 2003; MELLONI, 2003; DANIELLI et al., 2002). Entretanto, não há citações, na literatura, a respeito do aproveitamento de frutos do tipo descarte. Esse tipo de fruto pode ser utilizado em outros processos como os baseados na biotransformação com obtenção de moléculas de interesse, tais como álcool etílico. A fermentação alcoólica possibilita a obtenção de bebidas alcoólicas e etanol, sendo que este último pode ser usado para fins carburantes, farmacêutico, medicinal, químico e etanol (VENTURINI FILHO e MENDES; 2003).

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo estudar a viabilidade da utilização de mosto de caqui através de verificação dos efeitos dos valores iniciais do teor de sólidos solúveis, pH e inóculo na obtenção de etanol.

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Microrganismo

A cepa de *Saccharomyces cerevisiae* utilizada foi obtida do Laboratório de Processos Fermentativos do Departamento de Engenharia de Alimentos (DEA/UNICAMP) (MONTE ALEGRE et al., 2003). A cepa foi mantida em tubos de ensaio contendo meio inclinado formulado com extrato de levedura ( $3\text{g.L}^{-1}$ ), extrato de malte ( $3\text{g.L}^{-1}$ ), peptona ( $5\text{g.L}^{-1}$ ), glicose ( $10\text{ g.L}^{-1}$ ) e ágar ( $20\text{ g.L}^{-1}$ ). A cepa de *S. cerevisiae* foi mantida por repiques a cada 20 dias e incubadas a  $30^{\circ}\text{C}$  por 36 h, sendo então mantida a  $4^{\circ}\text{C}$  no cepário do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UNICENTRO.

## **2.2 Matéria-Prima**

As frutas do caqui utilizadas como matéria-prima foram coletadas em pequenas propriedades da região de Guarapuava, PR. Os frutos escolhidos foram aqueles considerados descarte e inadequados para comercialização, ou seja, frutos maduros, pequenos ou com partes danificadas. Os frutos foram acondicionados no ambiente até atingirem o ponto de maturação adequado para a produção do mosto. Em seguida estes frutos foram lavados em água clorada, sendo retirados os talos e as partes danificadas visando assim reduzir o número de contaminantes no mosto.

## **2.3 Preparo e Caracterização do Mosto**

Na produção do mosto, ou seja, o extrato do suco do caqui, foi utilizado um liquidificador industrial com capacidade de 2L. Durante essa etapa foi adicionada água destilada estéril para facilitar o processo de extração. Após a maceração, o mosto foi filtrado em tecido de algodão.

O mosto inicial foi caracterizado quanto ao teor de sólidos solúveis em refratômetro de bancada (Carl Zeiss), pH por potenciometria e resíduo mineral fixo segundo as Normas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

## **2.4 Delineamento Experimental**

Para o estudo, foi feito um delineamento experimental (BARROS NETO et al., 1995), onde foram avaliados os seguintes fatores: sólidos solúveis (°Brix), pH e porcentagem do inóculo (% v/v). Estes fatores foram distribuídos em dois níveis com um ponto central. Os experimentos foram realizados em duplicata com quatro repetições no ponto central, resultando em um total de 12 ensaios. Os parâmetros avaliados e respectivos valores estão descritos na tabela 1. A correção do grau Brix para atingir a concentração inicial pré-determinada de sólidos solúveis totais foi feita com adição de sacarose (comercial). Os ensaios foram realizados duas vezes ao longo do tempo e os resultados representam a média dos experimentos.

*Tabela 1. Planejamento experimental para obtenção de etanol a partir de caqui*

Parâmetros	Valores		
Sólidos solúveis (°Brix)	12	15	18
pH	4,5	5,0	5,5
Inóculo (% v/v)	8	10	12

*Fonte: Autores*

## **2.5 Preparo do Pré-Inóculo, Inóculo e Fermentação**

O pré-inóculo e inóculo foram preparados em mosto diluído até teor de sólidos solúveis entre 3 e 5°Brix, com pH de 5,0 ( $\pm 0,1$ ), sendo, após, esterilizado a 121°C por 15 minutos. O pré-inóculo, feito em duas etapas, foi inicialmente preparado pela adição de 10 mL do mosto em tubos de ensaio contendo a cepa de *S. cerevisiae*, e incubados por 24 horas a 28°C. Em seguida, esses tubos foram utilizados para inocular 100 mL de mosto esterilizado (6 a 8 °Brix), o qual também foi incubado nas mesmas condições anteriores, 28°C por 24 horas. O fermentado obtido foi utilizado como inóculo para os ensaios posteriores e os Erlenmeyers, contendo o mosto inoculado (150 mL por frasco), foram incubados a 28°C por 48 horas.

## **2.6 Análises no Fermentado**

O mosto fermentado obtido foi caracterizado quanto ao teor de sólidos solúveis por refratometria, acidez titulável, e pH (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985). O mosto foi destilado, e o etanol recuperado foi analisado pelo método do dicromato de potássio ácido descrito por Salik e Povh (1993); a concentração de álcool na amostra obtida por leitura a 600nm.

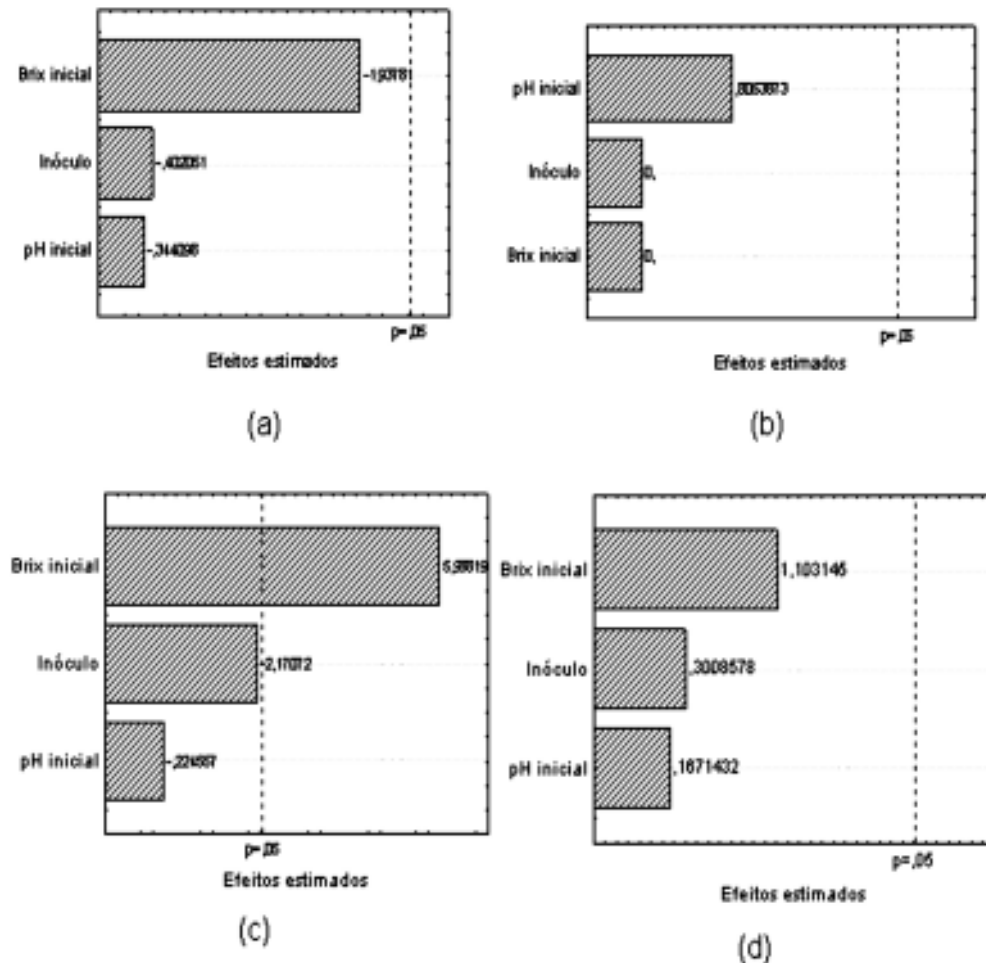
## **2.7 Análise Estatística**

Os resultados obtidos foram analisados pelo teste de análise de variância ANOVA, ao nível de significância de 5%, e apresentados sob forma de gráficos do Pareto.

### 3 Resultados e Discussão

A figura 1 apresenta os resultados de concentração final de álcool, acidez final, °Brix final e pH final obtidos na fermentação do mosto de caqui para os fatores sólidos solúveis iniciais, pH inicial e concentração de inóculo.

Figura 1. Gráfico de pareto para os efeitos dos fatores inóculo, pH inicial e °Brix inicial sobre as respostas concentração final de álcool (a), acidez final (b), °Brix final (c) e pH final (d)



Fonte: Autores

Pelos resultados pode-se verificar que nenhuma variável estudada foi significativa ao nível de 5% na concentração de etanol ao final das 48 horas de experimento. A condição que mais se aproximou da significância estatística foi o teor

inicial de sólidos solúveis, que apresentou um efeito negativo na produção alcoólica. Estes dados podem ser mais bem evidenciados quando se analisa a tabela 2. A maior concentração de etanol após 48 horas de fermentação foi obtida quando se utilizou mosto com 12°Brix. Nesse sentido, os resultados sugerem que a concentração de sólidos solúveis não reflete a quantidade de açúcares fermentescíveis no mosto de caqui. Assim, como os açúcares do mosto são de fundamental importância para a produtividade na fermentação alcoólica, conforme evidenciado por diversas vezes na literatura (SALMON e MAURICIO, 1994), há necessidade de um monitoramento deste parâmetro visando o estudo da viabilidade desse processo em escala maior. Por outro lado, de acordo com os resultados, os produtores rurais poderiam utilizar os frutos de caqui que seriam descartados para obtenção de álcool sem maiores cuidados com o ajuste de pH, inóculo e sólidos solúveis no mosto, na faixa de valores estudados neste trabalho. Isso facilitaria na implantação de uma tecnologia inovadora de produção de etanol. Além disso, como o álcool de frutas tem um valor de mercado superior ao álcool de cana, a destilação deste fermentado torna-se uma fonte de renda para o pequeno produtor (PAGANINI et al., 2005).

*Tabela 2. Concentração final de etanol para mosto com diferentes quantidades de sólidos solúveis iniciais*

<b>°Brix inicial</b>	<b>pH</b>	<b>Concentração de etanol (g.L<sup>-1</sup>)</b>
12	5,5	6,57
12	4,5	5,38
18	5,5	4,97
18	4,5	4,36

*Fonte: Autores*

Segundo Venturini Filho e Mendes (2003) alguns cuidados devem ser tomados quanto à concentração de sólidos solúveis, açúcares totais, acidez total e pH no mosto para que a fermentação ocorra de forma satisfatória e, às vezes, torna-se necessária uma suplementação com nutrientes. Neste estudo observou-se que o mosto do caqui propiciou uma fermentação que resultou em produto fermentado com 6,57 g.L<sup>-1</sup> sem a adição de nutrientes, resultante da presença de vitaminas e açúcares. Outros ensaios deverão ser conduzidos para verificar a influência da adição de minerais na fermentação.



Para as demais respostas obtidas da análise estatística, temos que a única variável que apresentou diferença significativa ao nível de 5% foi a quantidade de sólidos solúveis inicial na resposta sólidos solúveis final, o que era esperado. Nem a acidez e o pH finais (Figura 1 b e d) foram influenciados pelas condições iniciais de inóculo, sólidos solúveis e pH inicial.

Os resultados demonstram certa estabilidade do processo, indicando a viabilidade de obtenção de álcool etílico a partir do mosto de frutos de caqui. O estudo representa um avanço na busca de alternativas para a obtenção de etanol a partir de resíduos ou frutos descartados pela demanda comercial. Nesse sentido, novos ensaios devem ser conduzidos visando ao monitoramento de outros parâmetros, assim com a questão econômica, para aprimoramento e aplicação do processo, quer seja em propriedades rurais ou em escala industrial.

#### **4 Conclusões**

Os resultados demonstraram a viabilidade de obtenção de álcool etílico a partir de mosto de frutos de caqui, sendo que o inóculo, sólidos solúveis e pH inicial não foram estatisticamente significativos ao nível de 5% de significância na produção de álcool.

#### **5 Referências**

BARROS NETO, B.; BRUNS, R. E.; SCARMINIO, I. S. (1995), *Planejamento e otimização de experimentos*. Campinas: UNICAMP, Brasil.

BORTOLINI, F.; SANT'ANNA, E. S.; TORRES, R. C. Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi (*Actinidia deliciosa*); composição dos mostos e métodos de fermentação acética. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 21 236-243, 2001.

BRACKMANN, A.; MAZARO, S. M.; SAQUET, A. A. Frigoconservação de caquis (*Diospyrus kaki*, L.) das cultivares Fuyu e Rama Forte. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.27. n. 4, p. 561-566, 1997.

DANIELLI, R.; GIRARDI, C. L.; PARUSSOLO, A.; FERRI, V. C.; CESAR V. ROMBALDI, C. V. Efeito da aplicação de ácido giberélico e cloreto de cálcio no retardamento da colheita e na conservabilidade de caqui, fuyu. *Rev. Bras. Frutic.*, v. 24, p. 44-48, 2002.

DIAS, E.R.; SCHWAN, R. F.; CARVALHO, E. P.; LIMA, L. C. O. 2000. Elaboração de bebida alcoólica fermentada a partir de frutas tropicais. *Livro de Resumos do XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, Ceará, v. 3, p. 11.68.

FERRI, V. C.; RINALDI, M. M.; DANIELI, R.; LUCHETTA, L.; ROMBALDI, C.V. Controle da maturação de caquis “Fuyu” com uso de aminoethoxivinilglicina e ácido giberélico. *Rev. Bras. Frutic.*, v.24, p. 344-347, 2002.

FOOD AGRICULTURAL ORGANIZATION – FAO (2005). *Statistical – database*. Disponível em: <<http://www.apps.fao.org>>. Acesso em: 14 mar. 2005.

GIRARD, C. L.; PARUSSOLO, A.; DANIELI, R.; CORRENT, A. R.; ROMBALDI, C. V. Conservação de caqui (*Diospyros kaki*, L.), cv. Fuyu, pela aplicação de 1- metilciclopropeno. *Rev. Bras. Frutic.*, v. 25, p. 54-56, 2003.

GONÇALVES, E. D.; TREVISAN, R.; SCILESWSKI, T.; ZANATA, J. F.; PIANA, C. F. B.; SILVA, J. A.; ROMBALDI, C. V. Armazenamento refrigerado de caqui “Fuyu” (*Diospyrus kaki*, L.) em atmosfera modificada com filme de polietileno. *R. Bras. Agrociência*, v. 12, p.187-190, 2006.

GONZALEZ, A.; AYUB, R. A.; WERLANG. Controle da maturação de caqui (*Diospyrus kaki*, L.) CV. Fuyu tratados com aminoethoxivinilglicina e armazenados a temperatura ambiente. *R. Bras. Agrociência*, v. 11, p.231-233, 2005.

\_\_\_\_\_. Efeito de ethephon e embalagem de PVC na qualidade pós-colheita de caqui (*Diospyrus kaki*, L.) cv. Fuyu armazenados a 25°C. *Publ. UEPG Exact Soil., Agr. Sci. Eng.*, v. 1, p.21-26, 2004.

GORINSTEIN, S.; ZEMSER, M.; HARUENKIT, R.; et al. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in some tropical fruits and persimmon. *J. Nutrit. Biochem.*, n.10, p. 376-371, 1999.

- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo, SP). *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3. ed. São Paulo, 1985. v. 1, p.533.
- KOLB, E. 2002. *Vinos de frutas*. Zaragoza: Acribia Espanha: 280 p.
- MAEDA, R. N.; ANDRADE, J. S. Aproveitamento do camu-camu (*myrciaria dubia*) para produção de bebida alcoólica fermentada, *Acta amazônica*, v. 33, p. 489-498, 2003.
- MELONI, P.L. S. Desidratação de frutas e hortaliças. Instituto de desenvolvimento da fruticultura e agroindústria – FRUTAL, *Instituto Frutal*, 2003, 87 p.
- MONTE ALEGRE, R.; RIGO, M.; JOEKES, I. Ethanol fermentation of a diluted molasses medium by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on chrysotile. *Braz. Arch. biol. Technol.*, v.46, p. 751-757, 2003.
- MOWAT, A.D.; GEORGE, A.P, COLLINS, R.J. Cultivation of persimmon (*Diospyros kaki* L.) *Acta Horticulturae*, n.409, p.141-149, 1995.
- PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N. C.; WOSIACKI, G. Aproveitamento de bagaço de maçã para a produção de álcool e obtenção de fibras alimentares. *Ciênc. Agrotec.*, v. 29, p. 1231-1238, 2005.
- ROCHA, P; BENATO, E. A. Sistema produtivo e pós-colheita do caqui Rama Forte e Fuyu. *Informações Econômicas*, v.36, p. 58-64, 2006.
- SALIK, F. L. M.; POVH, N. P. Método espectrofotométrico para determinação de teores alcoólicos em misturas hidroalcoólicas. *CONGRESSO NACIONAL DA STAB*, 5., Águas de São Pedro. *Anais...* [s.l., s.n.], p. 262-266, 1993.
- SALMON, J. M.; MAURICIO, J. C. Relationship between sugar uptake kinetics and total sugar consumption in different industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains during alcoholic fermentation. *Biotechnol. Letters*, v. 16, p. 89-94, 1994.
- SANTOS, S. C.; ALMEIDA, S. S.; TOLEDO, A. L.; SANTANA, J. C. C.; SOUZA, R. R. Elaboração e Análise Sensorial do Fermentado de Acerola (*Malpighia Punicifolia* L.). *Braz. J. Food Technol.*, 5º SIPAL, p. 47-50, 2005.
- SARRIA, S. D. *Comportamento pós-colheita de caqui (Diospyros kaki): Avaliação física e química*. Campinas, 1998, 72 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Estadual de Campinas.

SIDRA-IBGE. Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA. Disponível em: <[www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp](http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp)>. Acesso em: 03 abr. 2003.

VENTURINI FILHO, W. G.; MENDES, B. P. Fermentação alcoólica de raízes tropicais. p. 530-575. *In: Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas*, Fundação Cargill, v. 3; 7111 p.; 2003.

VOGT, E.; JAKOB, L. *El vino: obtención, elaboración y análisis*. Ed. Acribia, Zaragoza, 292 p. 1986.