

## PROCESSO DE CLARIFICAÇÃO DO FERMENTADO DE ARROZ UTILIZANDO ARGILA DE BENTONITA, GELATINA E A ASSOCIAÇÃO ENTRE AMBAS

I Simpósio Brasileiro de Bebidas Fermentadas e Destiladas., 1ª edição, de 13/04/2021 a 16/04/2021  
ISBN dos Anais: 978-65-86861-97-6

**TAGLIASSACHI; Carolina Bellini<sup>1</sup>, SANTOS; Wilma Tainá Pereira dos<sup>2</sup>, PLENS; Ana Carolina de Oliveira<sup>3</sup>**

### RESUMO

O arroz (*Oryza sativa*) é considerado um dos cereais com maior produtividade e importância do mundo, visto que está incluso na dieta básica de mais da metade da população mundial. Além do uso como alimento, o arroz também é utilizado na fabricação de saquê, uma tradicional bebida japonesa obtida por meio do processo de fermentação alcoólica, que associa a sacarificação do grão, o uso de um fungo filamentosos da espécie *Aspergillus oryzae* e a reação de transformações do açúcar em álcool por meio de estirpes da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, resultando em um delicado e característico sabor.

Qualquer fruto ou vegetal que contenha umidade, açúcares e nutrientes disponíveis para o crescimento de leveduras, podem ser utilizados como matéria-prima para a produção de bebidas alcoólicas. Durante o processo fermentativo, compostos que podem atuar como inibidores potenciais são originados, tais como os metabólitos secundários contaminantes totais e até mesmo o próprio etanol.

A clarificação é uma operação que tem por objetivo eliminar todas as substâncias em suspensão e dissolução existentes em um líquido, para torná-lo límpido e cristalino. Após esse processo ocorre a formação de flocos insolúveis.

Um dos métodos utilizados para esse fim é o emprego de bentonita, que age através de cargas eletrostáticas, onde a superfície plana de suas plaquetas é carregada negativamente realizando a adsorção de cargas positivas. Essa técnica é utilizada para a remoção de proteínas que não participaram da reação de floculação e ainda se encontram presentes em sucos e vinhos, além de ser aplicada também na produção de nanocompósitos, na produção de minério de ferro para siderurgias, em reações de catálise, entre outros. A bentonita também atrai outras cargas positivas, tais como antocianinas, compostos fenólicos e nitrogenados. Esse agente clarificante pode ainda adsorver, indiretamente, alguns componentes fenólicos, através da ligação com proteínas que foram complexadas com os mesmos.

A gelatina caracteriza-se por ser uma proteína e tem sido utilizada para a clarificação de bebidas há décadas sendo muito empregada pela indústria, uma vez que apresenta vida útil elevada, manipulação simples, baixo custo, propicia a melhora da cor, sabor e odor do líquido, além de tornar a clarificação mais brilhante e ser efetiva para a precipitação de agentes como o tanino. Pode apresentar cargas positivas ou negativas dependendo do pH do meio. Em vinhos e bebidas que contenham pH em torno de 3,6, espera-se que a maioria dos aminoácidos esteja carregada positivamente e a maioria dos grupos ácidos esteja

<sup>1</sup> Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia pela UNISO, carolbellini@gmail.com

<sup>2</sup> Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia pela UNISO, taina.wilma@gmail.com

<sup>3</sup> Engenheira Química pela UNIMEP - Mestre em Engenharia de Produção pela UNIMEP - Doutora em Engenharia de Produção pela UNIMEP,

descarregada. O uso da gelatina nas indústrias de alimentos inclui a melhora da elasticidade, consistência e estabilidade, além de poder reduzir o teor de energia de alimentos sem efeitos negativos sobre o sabor. É um componente importante na elaboração de diversos filmes biodegradáveis, por sua capacidade de formar filmes flexíveis.

Nesse sentido, o presente trabalho tem como objetivo obter um fermentado alcoólico proveniente do mosto de arroz e testar o uso de diferentes agentes clarificantes: argila de bentonita, gelatina e a associação entre ambas.

Para análise do °BRIX, este foi verificado em densímetro digital de leitura e correção de temperatura automática, nos diferentes tempos de fermentação, indicando o teor aproximado de açúcares no mosto fermentativo.

Com o auxílio de uma pipeta volumétrica de 25mL, a amostra do fermentado de arroz foi transferida para a câmara de destilação, com posterior passagem de água destilada para lavagem do local onde a amostra teve contato. A destilação foi conduzida até que o volume de 25mL fosse coletado em um balão volumétrico acoplado na válvula de saída do condensador do destilador.

Posteriormente, foram transferidas alíquotas de amostra no tubo receptor de um densímetro digital, de modo que não houvesse formação de bolhas de ar no visor de leitura, o botão "start" foi pressionado e pode-se verificar o valor da densidade na tela. Para o cálculo do valor em °GL foi feita a conversão da densidade lida, para concentração alcoólica da solução em %v/v.

A determinação da acidez total foi feita por titulação volumétrica com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1mol.L-1, utilizando-se solução alcoólica de fenolftaleína a 1% como indicador ácido-base. Foram utilizados, em cada titulação, 10mL de amostra diluída em 90mL de água destilada e 3 gotas do dado indicador. O pH foi determinado utilizando-se pHmetro com determinação direta das amostras de fermentado de arroz e estabilizadas a 20°C.

Foram separados 10 litros do fermentado de arroz e colocados em garrafas de 1 litro. Antes da introdução da bentonita, esta foi intumescida em água morna, durante 24 horas, na proporção de 8mL de água para cada grama de produto. Cada garrafa foi submetida a um tipo de tratamento e identificadas da seguinte maneira: A= 0,1mL.L-1 de gelatina + 0,1mL de gelatina; B= 1g.L-1 de bentonita + 0,1mL de gelatina; C= 2g.L-1 de bentonita + 0,1mL de gelatina; D= 3g.L-1 de bentonita + 0,1mL de gelatina; E= 4g.L-1 de bentonita + 0,1mL de gelatina; A'= 1g.L-1 de bentonita; B'= 2g.L-1 de bentonita; C'= 3g.L-1 de bentonita; D'= 4g.L-1 de bentonita.

Uma garrafa denominada "0" foi mantida sem nenhum tratamento, em repouso condicionada à decantação natural, no período de 10 dias, sendo definida como Controle. Os demais tratamentos foram agitados durante 10 minutos a cada 2 horas, em agitador magnético com aquecimento, em um período de 12 horas. Após esse evento, as amostras ficaram em repouso durante 10 dias. Todo o processo foi realizado em triplicata para maior precisão de resultados. Uma massa de 30 mg.L-1 de terra diatomácea foi utilizada para a filtração de cada litro do fermentado de arroz, após o processo de clarificação.

Após 10 dias, a partir da data de aplicação de cada tratamento e filtração, utilizou-se o espectrofotômetro para medição da absorbância de cada tratamento. Fez-se uso do álcool extra neutro 96,0% v/v para a definição do valor padrão. Os resultados foram obtidos em ABS com o uso do espectrofotômetro em comprimento de onda de 540nm. Os valores obtidos para a medição da turbidez, através de um turbidímetro de bancada, foram expressos em Unidades Nefelométricas de Turbidez (NTU).

Observou-se que, inicialmente, o valor do °BRIX do processo fermentativo era de 17,97. Nas 48 horas seguintes, notou-se um declínio,

<sup>1</sup> Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia pela UNISO, carolbellini@gmail.com

<sup>2</sup> Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia pela UNISO, taina.wilma@gmail.com

<sup>3</sup> Engenheira Química pela UNIMEP - Mestre em Engenharia de Produção pela UNIMEP - Doutora em Engenharia de Produção pela UNIMEP,

tornando-se contínuo até o final do processo. Nesse sentido, considerou-se que para a secagem do fermentado é necessária um período de 192 horas, uma vez que o °BRIX chegou à zero, indicando a conversão desejada de açúcar em álcool.

Bebidas produzidas a partir de mostos com menores concentrações de açúcar apresentam fermentação completa resultando em °BRIX até 20,0. Sendo assim, foi possível afirmar que o presente processo fermentativo atendeu aos parâmetros desejados, já que o °BRIX inicial era de 17,97.

Durante o processo fermentativo, não houve acompanhamento do teor alcoólico do fermentado de arroz, já que este parâmetro não influencia nos demais testes realizados. A título de registro, ao final da fermentação, foi realizada a destilação da amostra do fermentado, sendo posteriormente injetada no densímetro digital, resultando em um teor alcoólico de 10,50% v/v.

Inicialmente, notou-se um declínio na acidez nas primeiras 48h de fermentação, evidenciando reação de ácidos orgânicos com álcoois superiores e consequente produção de ésteres. Em seguida, notou-se ascensões nos valores de acidez nos períodos de 48 a 168h, em virtude da produção de ácidos orgânicos, tais como o ácido láctico, o acético e o succínico. O declínio observado nas últimas 24h de fermentação (entre 168 e 192h) é em decorrência da esperada variação desse parâmetro ao final da fermentação, ocasionada pela diminuição da atividade do fermento.

A fermentação alcoólica, usualmente, é iniciada com valores baixos de pH, finalizando com valores entre 3,5 e 4,0. A constância notada durante os dois primeiros dias de fermentação, ocorreu devido ao mosto fermentativo ser um meio de considerável capacidade tamponante, mantendo seu pH relativamente estável durante todo o processo, já que um aumento acarretaria no retardo do consumo de glicose, que ocorre mais vigorosamente nos primeiros dias, e, por consequência, na diminuição da produção de etanol, abaixando durante o processo em pequena proporção por ação das leveduras que convertem o açúcar presente no mosto em álcool e ácidos orgânicos.

Seguido de uma variação que perdurou até 120h do início do processo fermentativo, o pH atingiu um valor de 3,55 e manteve-se assim das 144 às 192h. Deste modo, notou-se que o estudo obteve alto rendimento de etanol, visto que fermentações conduzidas em meios ácidos resultam em maiores rendimentos, pelo fato de restringirem o crescimento do fermento, com a consequente redução da produção de glicerol, garantindo maior estabilidade microbiológica e contribuindo para a atividade da levedura e nos aspectos organolépticos.

O principal efeito da bentonita é a precipitação do material proteico por adsorção e neutralização de cargas sendo que, neste aspecto, ela atua desnaturando enzimas oxidativas. A bentonita também possui ação física, já que, a medida que sedimenta, carrega consigo partículas suspensas encontradas no meio. O presente estudo propiciou a visualização desse fenômeno em virtude das alterações visuais presentes entre os diferentes tipos de tratamento aplicados ao fermentado de arroz. Ao longo da garrafa, nota-se que as alterações são poucas, sendo apenas notável a variação do volume de borra no fundo formando-se gradativamente da amostra 0 a E e da amostra 0 a D'.

Após a realização das análises de espectrofotometria e turbidez, foi possível perceber grande variação nos valores de cada tratamento. O controle, conforme esperado, apresentou os maiores valores em ambos os testes, significando uma taxa de sedimentação menor. O tratamento feito somente com gelatina, não apresentou o resultado almejado, ficando com valores altos e próximos aos do controle.

Quanto às amostras submetidas a tratamentos de bentonita associada à gelatina, a concentração de 3g.L-1 de bentonita +

<sup>1</sup> Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia pela UNISO, carolbellinit@gmail.com

<sup>2</sup> Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia pela UNISO, taina.wilma@gmail.com

<sup>3</sup> Engenheira Química pela UNIMEP - Mestre em Engenharia de Produção pela UNIMEP - Doutora em Engenharia de Produção pela UNIMEP,

0,1mL.L-1 de gelatina, foi a que mostrou os melhores resultados. Porém, se comparado ao tratamento realizado apenas com bentonita, os dados coletados foram insatisfatórios, já que a bentonita, na concentração de 3g.L-1, conseguiu sedimentar maior quantidade de partículas suspensas, apresentando uma clarificação mais eficiente. O desempenho dos agentes clarificantes está diretamente relacionado às suas estruturas moleculares, portanto, a bentonita apresentou resultados superiores por ser formada por moléculas carregadas negativamente, atraindo partículas com cargas positivas, diferentemente da gelatina, que é carregada positivamente e atrai materiais turvantes com cargas negativas. Através das análises físico-químicas realizadas, pode-se observar que a bentonita foi capaz de precipitar o fermentado, sedimentando as partículas suspensas, e, portanto, clarificando o material de estudo. A bentonita associada à gelatina, apesar de ter potencial para agir sobre as partículas do fermentado, não apresentou os melhores resultados se comparada ao tratamento aplicado somente com bentonita, além de propiciar uma maior quantidade de borra, já que a gelatina também fará parte do precipitado ao final do processo, aumentando o volume. Quanto à concentração, nota-se que 3g.L-1 de bentonita são suficientes para a clarificação ideal do produto, já que valores abaixo deste, não são capazes de sedimentá-lo totalmente, restando ainda partículas suspensas; com a concentração de 4g.L-1 de bentonita, apesar de o líquido ficar isento de partículas, um volume de borra maior é gerado, dificultando a etapa posterior de filtração, além de influenciar diretamente no custo-benefício do processo, já que necessita de maior quantidade de bentonita, não sendo vantajosa sua utilização.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fermentação, Arroz, Clarificação, Bentonita, Argila

<sup>1</sup> Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia pela UNISO, carolbellinit@gmail.com

<sup>2</sup> Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia pela UNISO, taina.wilma@gmail.com

<sup>3</sup> Engenheira Química pela UNIMEP - Mestre em Engenharia de Produção pela UNIMEP - Doutora em Engenharia de Produção pela UNIMEP,