

# ANÁLISE DO CUSTO OPERACIONAL DA PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁCTICO E DE *LACTOBACILLUS PLANTARUM* CCT 0580 UTILIZANDO MELAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

OPERATING COST ANALYSIS OF LACTIC ACID AND  
*LACTOBACILLUS PLANTARUM* CCT 0580 PRODUCTION USING SUGARCANE MOLASSES

**André Luiz**

**Vasconcellos Vargas**

Mestre em Tecnologia Ambiental pela Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda (EEIMVR) da Universidade Federal Fluminense (UFF).

**Letícia Hotz Lepsch**

Graduanda em Química Tecnológica pelo Instituto de Ciências Exatas (ICEEx) da UFF.

**Afonso Aurélio**

**de Carvalho Peres**

Professor do Programa de Pós-graduação em Tecnologia Ambiental da EEIMVR-UFF.

**Ricardo de Freitas Branco**

Professor do Programa de Pós-graduação em Tecnologia Ambiental da EEIMVR-UFF.

**Endereço para correspondência:**

André Luiz Vasconcellos Vargas – Avenida dos Trabalhadores, 420, Sala D44, 4º andar – Vila Santa Cecília – 27255-125 – Volta Redonda (RJ), Brasil – E-mail: andrevascovargas@gmail.com

**Recebido:** 30/06/2016

**Aceito:** 13/09/2017

## RESUMO

Neste trabalho, estudaram-se as produções de ácido láctico e de biomassa de *Lactobacillus plantarum* CCT 0580 utilizando diferentes fontes de carbono: glicose (GLIC), melaço de cana-de-açúcar (MEL) e meio Man, Rogosa e Sharpe (MRS), como controle. Com base nos resultados dos processos fermentativos, foram realizadas análises de custos de produção, utilizando a técnica de orçamentação parcial (OP), para comparar os custos operacionais efetivos encontrados na produção, em escala laboratorial. Os resultados mostraram a máxima concentração de ácido láctico em 72 h: MRS  $12,60 \pm 0,42$  g.L<sup>-1</sup>, MEL  $6,50 \pm 0,21$  g.L<sup>-1</sup> e GLIC  $0,90 \pm 0,00$  g.L<sup>-1</sup>. Para as concentrações de biomassa úmida de *L. plantarum* CCT 0580, os resultados máximos foram: MRS  $16,90 \pm 3,54$  g.L<sup>-1</sup> (48 h), MEL  $7,59 \pm 0,66$  g.L<sup>-1</sup> (72 h) e GLIC  $3,00 \pm 0,85$  g.L<sup>-1</sup> (24 h). Os resultados econômicos encontrados na orçamentação parcial mostraram ser vantajosas as substituições de glicose e MRS por melaço para a produção de ácido láctico e de biomassa, independentemente do tempo de fermentação.

**Palavras-chave:** custos de produção; fermentação; orçamentação parcial; resíduos agroindustriais; sustentabilidade.

## ABSTRACT

This paper presents lactic acid and *Lactobacillus plantarum* CCT 0580 biomass production using different carbon sources: glucose (GLIC), sugarcane molasses (MEL) and Man, Rogosa and Sharpe medium (MRS), as control. Based on the results of fermentative processes, cost analyses were performed using the partial budgeting technique to compare the effective operating costs found in production in laboratory scale. The results showed the maximum concentration of lactic acid in 72 h: MRS  $12.60 \pm 0.42$  g.L<sup>-1</sup>, MEL  $6.50 \pm 0.21$  g.L<sup>-1</sup> and GLIC  $0.90 \pm 0.00$  g.L<sup>-1</sup>. For wet biomass concentrations of *L. plantarum* CCT 0580, the maximum results were: MRS  $16.90 \pm 3.54$  g.L<sup>-1</sup> (48 h), MEL  $7.59 \pm 0.66$  g.L<sup>-1</sup> (72 h) and GLIC  $3.00 \pm 0.85$  g.L<sup>-1</sup> (24 h). The economic results of the partial calculations showed advantages for the substitutions of glucose and MRS by molasses for the production of lactic acid and of biomass, independently of the time of fermentation.

**Keywords:** production costs; fermentation; partial budgeting; agroindustrial waste; sustainability.

## INTRODUÇÃO

O desenvolvimento sustentável consiste em atender demandas sociais, políticas e econômicas sem impactar negativamente as necessidades das futuras gerações (UNITED NATIONS, 1972). Nesse sentido, uma das novas abordagens que visam à sustentabilidade surgiu na indústria química, com o conceito da química verde, que promove metodologias mais econômicas e ambientalmente corretas — dentre elas, as focadas em produção de insumos mais eficazes e baratos (TORRESI *et al.*, 2010). A química verde vem contribuindo para reduzir os impactos ambientais da cadeia produtiva por meio da ecologia industrial, que consiste na integração dos princípios da ciência, da engenharia e da ecologia em sistemas industriais para que a geração de produtos e os serviços prestados minimizem os impactos ambientais e otimizem a utilização de recursos, energia e capital (MANAHAN, 2006).

Assim, o melão de cana-de-açúcar, um subproduto obtido em indústrias açucareiras e sucroalcooleiras, a partir da produção de caldo de cana-de-açúcar, é utilizado, principalmente, na produção de etanol nas indústrias sucroalcooleiras e alcooleiras. Mas também pode ser utilizado em outros segmentos como: nutrição animal (AYALA; TUN, 1991); produção de alimentos, indústria de papel e celulose, na produção de cerâmicas e tijolos, em fundições (MELAÇOS BRASILEIROS, 2014), dentre outras formas de aplicação. Estima-se que o melão seja produzido em uma proporção de 40 a 60 kg por tonelada de cana processada (PIACENTE, 2005). Desta forma, o melão constitui um elo entre as indústrias, assim como o bagaço produzido com o beneficiamento da cana-de-açúcar. O melão por ser um insumo de menor custo para a produção de etanol e o bagaço como uma fonte de energia sustentável (EPE, 2015).

Com fórmula molecular  $C_3H_6O_3$ , o ácido láctico, também denominado ácido 2-hidroxi-propiónico ou ácido  $\alpha$ -hidroxi-propiónico, é amplamente distribuído na natureza e, em solução, apresenta-se como o ânion lactato. Pode ser encontrado como isômeros ópticos D(-) ou L(+) (PANESAR *et al.*, 2010; MARTINEZ *et al.*, 2013; EITEMAN; RAMALINGAM, 2015). É um ácido orgânico, obtido a partir de processos químicos ou biotecnológicos a partir de derivados de petróleo e de açúcares, respectivamente, tendo utilidades diversas nas

indústrias de vários segmentos: alimentos, farmácia e cosméticos, biopolímeros e química (EVANGELISTA; NIKOLOV, 1996; JOHN *et al.*, 2007; MARTINEZ *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2015). A síntese química se dá a partir de insumos petroquímicos (lactonitrilo) e produz um racemo formado pelos isômeros D(-) e L(+)-ácido láctico. Em contrapartida, a partir da fermentação de compostos orgânicos, pode-se gerar D(-)-ácido láctico ou L(+)-ácido láctico a depender do micro-organismo fermentador. Há, também, a possibilidade de se obter um racemo na fermentação (HOFVENDAHL; HAHN-HÄGERDAL, 2000; VISHNU *et al.*, 2002; ABDEL-RAHMAN *et al.*, 2011), como no caso em que se utiliza *Lactobacillus plantarum* (VIJAYAKUMAR *et al.*, 2008; CHRAMOS-TOVÁ *et al.*, 2014).

*Lactobacillus* é um gênero de bactérias classificadas como bactérias de ácido láctico (*Lactic Acid Bacteria* — LAB), sendo gram-positivas, não formadoras de esporos, catalase-negativas, desprovidas de citocromos, estritamente fermentativas, com ácido láctico sendo o principal produto das fermentações (VRIES *et al.*, 2006). Como uma LAB típica, a *L. plantarum* é de hábito anaeróbico, porém tolerante a meio aeróbico e adaptada a meios ácidos (VRIES *et al.*, 2006; PANESAR *et al.*, 2007). Também é heterofermentativa facultativa, isto é, produz majoritariamente ácido láctico ao final do catabolismo de carboidratos; mas, em determinadas condições de cultivo, pode produzir ácido acético ou etanol (PANESAR *et al.*, 2007; MAZZEO *et al.*, 2012). Encontrada em diversos tipos de vegetais, carne e produtos lácteos fermentados, tem desenvolvido mecanismos de resposta molecular complexos, que permitem sua sobrevivência em condições de estresses ambientais: oxidação, aquecimento e refrigeração, ácido/básico, alta osmolaridade/desidratação, carência nutricional, entre outros (MAZZEO *et al.*, 2012). A *L. plantarum* pode ser utilizada para fins relativos a:

- Saúde humana e animal, como probiótico e na produção de antibióticos (plantaricinas) (VRIES *et al.*, 2006; SOLIMAN *et al.*, 2011);
- Indústria alimentícia, na produção de vegetais e carnes fermentados (ABEE *et al.*, 1995; VRIES *et al.*, 2006; QUATRAVAUX *et al.*, 2006; WOUTERS *et al.*, 2013);

- Redução de impactos ambientais (HAO *et al.*, 1999; TONDEE; SIRIANUNTAPIBOON, 2008).

Diante desse cenário, torna-se relevante estudar novas possibilidades de produção de ácido láctico e de biomassa de *L. plantarum* CCT 0580 utilizando o melão de cana-de-açúcar, uma vez que não há na literatura científica trabalhos descrevendo o metabolismo dessa bactéria, especificamente. Além da importância em caracterizar os parâmetros fermentativos, uma comparação entre os custos operacionais efetivos obtidos na produção de ácido láctico de biomassa em escala

laboratorial é relevante pela suposta substituição de uma fonte de carbono já utilizada (glicose) por melão, o que pode ser verificado pela técnica de orçamentação parcial (OP). De acordo com Noronha (1981), a OP serve para analisar as decisões a serem tomadas em uma empresa desde que essas envolvam apenas modificações parciais de organização. Assim, a mudança proposta não deve alterar significativamente o sistema administrativo nem o estoque de capital da empresa. Nesse tipo de orçamento, comparam-se os benefícios com os custos das decisões que envolvem as modificações marginais.

## OBJETIVOS

Comparar a produção de ácido láctico e de biomassa bacteriana de *L. plantarum* CCT 0580 em meios de cultura contendo melão, glicose e meio

Man, Rogosa e Sharpe (MRS); e analisar os custos de produção da substituição da glicose e MRS por melão.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foi utilizado melão comercial, adquirido em loja de produtos naturais. Com base nas análises realizadas, o melão apresentou uma concentração de açúcares totais (AT) igual a 79%, sendo 42% sacarose, 27% frutose e 10% glicose.

As cepas liofilizadas de *L. plantarum* CCT 0580 foram adquiridas da Coleção de Culturas Tropicais (CCT) da Fundação André Tosello (FAT), situada em Campinas,

### Meios de cultura

Foram comparadas as produções de biomassa e de ácido láctico, bem como os consumos de açúcares redutores e sacarose por *L. plantarum* CCT 0580 em três diferentes meios de cultura: glicose (GLIC), melão (MEL) e MRS (controle). Sendo suas respectivas constituições:

- GLIC: 30 g.L<sup>-1</sup> de glicose, 3 g.L<sup>-1</sup> de peptona, 3 g.L<sup>-1</sup> de extrato de levedura e 3 g.L<sup>-1</sup> de ureia;
- MEL: melão a 8% (m/v) equivalente à concentração de 30 g.L<sup>-1</sup> de açúcares redutores, 3 g.L<sup>-1</sup> de peptona, 3 g.L<sup>-1</sup> de extrato de levedura e 3 g.L<sup>-1</sup> de ureia; e
- MRS: 10 g.L<sup>-1</sup> de peptona, 10 g.L<sup>-1</sup> de extrato de carne, 5 g.L<sup>-1</sup> de extrato de levedura, 20 g.L<sup>-1</sup> de glicose, 1 g.L<sup>-1</sup> de polissorbato 80, 2 g.L<sup>-1</sup> de citrato de amô-

São Paulo. O metabolismo das bactérias liofilizadas foi ativado em meio MRS. Após o crescimento microbiano, as bactérias foram repicadas em meio MRS e ágar, preparados de acordo com as instruções do fabricante, em tubos de ensaio esterilizados a 120°C e 1 atm., durante 15 min, em autoclave Primatec® CS. Os tubos contendo as bactérias foram incubados a 35°C por 24 h, seguindo para armazenamento em refrigerador mantido entre 2 e 8°C para utilização posterior.

nio, 5 g.L<sup>-1</sup> de acetato de sódio, 0,10 g.L<sup>-1</sup> de sulfato de magnésio, 0,05 g.L<sup>-1</sup> de sulfato de manganês e 2 g.L<sup>-1</sup> de fosfato dipotássico.

Cada meio teve o pH ajustado para 6,0 ± 0,05 com hidróxido de sódio 10 M, utilizando potenciômetro de bancada Tecnal® TEC 5. Foram esterilizados a 120°C e pressão de 1 atm por 15 min em autoclave vertical Primatec® CS (75 L). Após a esterilização, cada meio foi inoculado, sendo distribuídos 50 mL em cada 1 de 3 frascos erlenmeyers com capacidade para 250 mL, resultando em uma concentração inicial de biomassa úmida de 0,1 g.L<sup>-1</sup>. O processo fermentativo foi acompanhado a cada 24 h durante 72 h, em incubação em estufa a 35°C sem agitação.

## Produção de biomassa e de ácido láctico

A concentração de biomassa foi analisada pela massa úmida obtida a cada tempo. Foram coletados 5 mL de amostra de cada frasco em tubos cônicos plásticos com capacidade para 10 mL. Centrifugou-se a 450 g em centrífuga Centribio® 80-2B por 20 min. As massas foram aferidas em balança analítica Shimadzu® AW 220. Os sobrenadantes foram armazenados para análises posteriores de pH, ácido láctico e açúcares.

Para a estimativa da concentração de ácido láctico gerada pelos micro-organismos, utilizou-se a técnica

## Concentrações de açúcares

As concentrações de açúcares redutores (AR) foram obtidas pela reação com ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959), diluindo-se a 1:10 as amostras dos sobrenadantes de cada meio de cultura em água destilada. Foram utilizados 1 mL das amostras diluídas e 1 mL do reativo DNS. Após aquecimento a 100°C por 5 min, completou-se o volume com 13 mL de água destilada. A absorbância de cada solução foi mensurada utilizando o analisador bioquímico semiautomático Quick-Lab® em comprimento de onda de 546 nm, comparando-se com a curva padrão de concentrações de glicose variando entre 0,0 e 3,125 g.L<sup>-1</sup>.

As concentrações de glicose foram medidas a partir de uma adaptação de Daudt e Simon (2001), utilizando o método enzimático BioTécnica®. As amostras dos sobrenadantes de cada meio foram diluídas a 1:5 em água destilada. De acordo com as instruções de trabalho do kit para análise clínica de glicose BioTécnica®, foram utilizados 10 µL de cada amostra diluída em 1 mL da solução contendo as enzimas glicose oxidase e peroxidase. As concentrações de glicose foram obtidas a partir do analisador bioquímico semiautomático Quick-Lab® no modo absorbância em comprimento de onda de 505 nm, comparando-se com o padrão de glicose fornecido no próprio kit BioTécnica®.

As concentrações de frutose foram estimadas pela diferença entre as concentrações dos compostos determinados pela reação com DNS e as concentrações de glicose obtidas com o kit BioTécnica® de acordo com a Equação 1:

ca de acidez titulável em graus Dornic. Os sobrenadantes das amostras coletadas de cada meio de cultura em seu respectivo tempo de incubação foram diluídos 3 vezes (2 mL de amostra e 4 mL de água destilada) em Erlenmeyer de 100 mL com boca larga. Acrescentou-se 2 gotas de fenolftaleína alcoólica a 1% e titulou-se com hidróxido de sódio 0,111 M, fatorada com solução de biftalato de potássio, até se obter uma coloração rósea. De acordo com essa metodologia, considera-se o volume de NaOH 0,111 M utilizado na titulação como o volume de ácido láctico contido na solução.

$$[\text{frutose}] = [\text{AR}] - [\text{glicose}] \quad (1)$$

Na qual:

frutose = concentração de frutose em g.L<sup>-1</sup>;

AR = concentração de açúcares redutores em g.L<sup>-1</sup>, obtida pela reação com DNS;

glicose = concentração de glicose em g.L<sup>-1</sup>, obtida pelo método enzimático BioTécnica®.

As concentrações de sacarose foram obtidas com reações das amostras com reativo Seliwanoff, constituído por 0,01% de resorcinol diluído em ácido clorídrico a 50% (18,23 mol.L<sup>-1</sup>), que estima a concentração de cetoses, incluindo frutose. As amostras dos sobrenadantes de cada meio de cultura foram diluídas a 1:10 em água destilada. Foram utilizados 0,250 mL de cada amostra diluída e 1 mL do reativo Seliwanoff aquecidos a 100°C por 20 min em banho-maria. As absorbâncias foram medidas em analisador bioquímico semiautomático Quick-Lab® em comprimento de onda de 546 nm, após resfriamento das amostras em banho-maria em temperatura ambiente. Os resultados das absorbâncias foram comparados com curva padrão com concentrações de sacarose entre 0,0 e 1,0 g.L<sup>-1</sup>. Como a sacarose é um dissacarídeo formado por aldose (glicose) e cetose (frutose), o reativo Seliwanoff reage tanto com a sacarose quanto com a frutose. A partir das diferenças encontradas entre as concentrações de cetoses pelo Seliwanoff e as concentrações de frutose estima-

das, pode-se calcular as concentrações de sacarose, de acordo com a Equação 2.

$$[\text{sacarose}] = [\text{cetoses}] - [\text{frutose}] \quad (2)$$

Na qual:

sacarose = concentração de sacarose em g.L<sup>-1</sup>;

cetoses = concentração de cetoses em g.L<sup>-1</sup>, determinada pela reação com Seliwanoff; e

### Parâmetros fermentativos

As análises de produtividade de biomassa de *L. plantarum* CCT 0580 e de ácido láctico foram calculadas de acordo com as Equações 3 e 4, respectivamente:

$$Q_p = \frac{\Delta P}{\Delta t} \quad (3)$$

$$Q_x = \frac{\Delta X}{\Delta t} \quad (4)$$

Nas quais:

Q<sub>p</sub> = produtividade de ácido láctico em g.L<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>;

Q<sub>x</sub> = produtividade de biomassa de *L. plantarum* CCT 0580 em g.L<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>;

ΔP = diferença entre as concentrações inicial e final de ácido láctico em g.L<sup>-1</sup>;

ΔX = diferença entre as concentrações inicial e final de biomassa de *L. plantarum* CCT 0580 em g.L<sup>-1</sup>;

Δt = diferença entre o tempo final e o inicial em horas.

### Custos operacionais efetivos e orçamentação parcial

Para a análise de custos operacionais efetivos e utilização da OP, foram orçados os preços de todos os materiais necessários para a pesquisa entre agosto de 2015 e janeiro de 2016. Os valores obtidos em cada período foram deflacionados com base no Índice Geral de Preços — Disponibilidade Interna (IGP-DI), publicado pela Fundação Getulio Vargas (FGV, 2016), adotando-se o mês de janeiro de 2016 como base para a correção, isso é, como base 100. Após a correção dos valores mensais, foram determinados os preços médios.

frutose = concentração de frutose em g.L<sup>-1</sup>, obtida pela Equação 1.

As concentrações de AT foram calculadas a partir da soma das concentrações de açúcares redutores (obtidas com DNS) com as concentrações de sacarose. As análises de produtividade de biomassa de *L. plantarum* e de ácido láctico foram calculadas pela diferença entre as concentrações obtidas num tempo final e inicial da fermentação, dividida pelo tempo do intervalo considerado.

Os rendimentos da conversão de AR em ácido láctico e biomassa de *L. plantarum* CCT 0580 para cada meio testado foram obtidos a partir das Equações 5 e 6, respectivamente:

$$Y_{p/s} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad (5)$$

$$Y_{x/s} = \frac{\Delta X}{\Delta S} \quad (6)$$

Nas quais:

Y<sub>p/s</sub> = conversão de substrato (AR) em ácido láctico;

Y<sub>x/s</sub> = conversão de substrato (AR) em biomassa de *L. plantarum* CCT 0580;

ΔP = diferença entre as concentrações inicial e final de ácido láctico em g.L<sup>-1</sup>;

ΔX = diferença entre as concentrações inicial e final de biomassa de *L. plantarum* CCT 0580 em g.L<sup>-1</sup>; e

ΔS = diferença entre as concentrações final e inicial de açúcares redutores em g.L<sup>-1</sup>.

Os custos operacionais efetivos (COE) para as produções de biomassa de *L. plantarum* e ácido láctico foram obtidos a partir dos custos variáveis, incluindo, para a produção de biomassa: melaço, glicose (dextrose), MRS, ureia, peptona e extrato de levedura. No caso da produção de ácido láctico, incluem-se, além dos itens constituintes dos meios de cultura, citados anteriormente, os custos com os reagentes analíticos: NaOH, biftalato de potássio, fenolftaleína e álcool absoluto.

Para a realização da orçamentação parcial, seguiu-se a metodologia proposta por Noronha (1981). As receitas incluíram a arrecadação de valores obtidos com a comercialização dos produtos principais (*L. plantarum* e ácido láctico), considerando os valores médios deflacionados encontrados no mercado, e do resíduo dos meios de cultura. Nessa etapa do trabalho, considerou-se

## Análises estatísticas

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com três tratamentos (meios de cultura) e duas repetições. Os dados das amostras dos diferentes tratamentos foram submetidos à análise de variância

como modelo a produção de biomassa de *L. plantarum* CCT 0580 e ácido láctico em meio GLIC, já que a glicose é uma das fontes utilizadas na produção de ácido láctico por fermentação (WANG *et al.*, 2015). Foi realizada, em complemento às análises, uma possível substituição da utilização de glicose e melão por MRS.

(ANOVA) utilizando teste de Tukey ao nível de significância de 5% de probabilidade ( $p = 0,05$ ), a partir do *software* Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2011), utilizando planilhas de dados do BrOffice Calc 3.2.1.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao consumo de AR em cada meio testado, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nas concentrações de AR em GLIC e MEL apenas nas primeiras 24 h. Em MRS, houve diferença até 48 h de incubação. Evidenciando a continuidade do processo fermentativo em MRS por um tempo mais prolongado do que nos meios GLIC e MEL. A Figura 1 apresenta os perfis de consumo de AR, pH, produção de biomassa e de ácido láctico em cada meio testado.

Analisando as concentrações de sacarose no meio MEL, verificou-se não haver diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as médias das concentrações de sacarose ao longo da fermentação, indicando que as fontes de carbono consumidas se referiam aos AR.

Apesar da maioria dos autores relatarem a preferência pelo consumo de glicose em relação ao consumo de frutose (SILVA *et al.*, 2010; PAUCEAN *et al.*, 2013; MOUSAVI *et al.*, 2013), houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as concentrações de frutose nas primeiras 24 h, mas não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) nas concentrações de glicose ao longo do tempo de fermentação, revelando o favorecimento do consumo de frutose. Com base nos resultados, pode haver uma preferência do *L. plantarum* CCT 0580 por AR ao invés da sacarose. Vrancken *et al.* (2011) estudaram a produção de biomassa e de ácido láctico por *L. plantarum* IMDO130201 isolado de trigo em diferentes pH. Todos os resultados em pH variando entre 3,5 e 5,5 apresentaram um consumo de sacarose, porém, somente após um decréscimo significativo de frutose e glicose.

A Tabela 1 apresenta todos os resultados para o consumo de AR e produção de biomassa e de ácido láctico.

As concentrações de ácido láctico no meio GLIC apresentaram diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) até 48 h de incubação. No meio MEL, as concentrações de ácido láctico variaram significativamente ( $p < 0,05$ ) até 72 h de incubação, excetuando-se o intervalo entre 24 e 48 h, que não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) (Figura 1 e Tabela 1). Em MRS, as concentrações de ácido láctico variaram significativamente ( $p < 0,05$ ) até 72 h de incubação. As maiores concentrações de ácido láctico nos meios GLIC, MEL e MRS foram 0,9 ; 6,5 e 12,6 g.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Todos em 72 h de incubação.

Demirci *et al.* (1998) testaram a produção de ácido láctico em biorreator com *L. plantarum* e *Lactobacillus casei*, utilizando como fonte de nitrogênio produtos de origem animal e marinha, suplementados ou não com 1 g.L<sup>-1</sup> de melão, e encontraram concentrações significativamente maiores de ácido láctico nos meios contendo melão de cana-de-açúcar, seja utilizando *L. plantarum* ou *L. casei*.

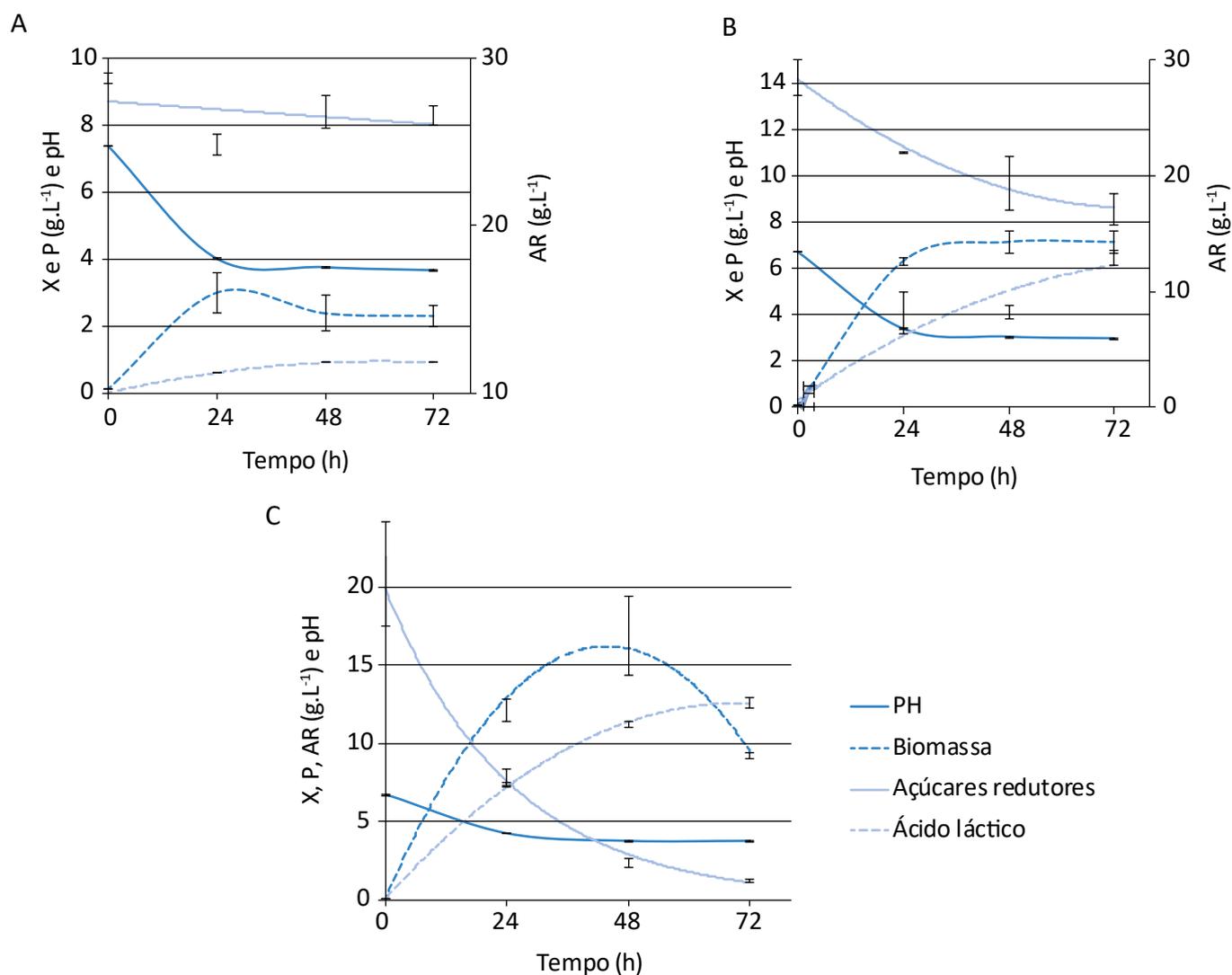
Coelho *et al.* (2011) estudaram a produção de ácido láctico por *L. plantarum* LMISM-6 utilizando melão, porém hidrolisado com ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 20%, resultando em 100% de AR. Eles utilizaram melão a 19,35% em biorreator com capacidade de 4 L com agitação de 150 rpm e a 35°C e chegaram a uma concentração de 94,8 g.L<sup>-1</sup> de ácido láctico. Com base nesse resultado, a hidrólise ácida do melão, convertendo sacarose em frutose e glicose, aumenta a produtividade de ácido láctico.

Vargas et al. (2015) também observaram uma maior produção de ácido láctico por *L. plantarum* CCT 0580 em MRS suplementado com melão a 5, 10 e 15%, comparado com MRS sem suplementação em 24 e 48 h de incubação a 35°C com agitação de 150 rpm. Essa diferença chegou a 27% entre as concentrações obtidas com MRS suplementado com melão 15% em 48 h de incubação.

Foi observado um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) de biomassa de *L. plantarum* até as 48 h de cultivo no meio MRS com concentração de 16,9 g.L<sup>-1</sup> (Tabela 1). Com o aumento da concentração de ácido láctico, reduzindo o pH, e o con-

sumo — quase total — dos AR, o crescimento das bactérias foi limitado, decrescendo com a morte de boa parcela da biomassa em 72 h, que, lisadas, chegaram aos níveis de concentração encontrados em 24 h ( $p > 0,05$ ) (Figura 1).

Nos meios GLIC e MEL, as concentrações de biomassa variaram significativamente ( $p < 0,05$ ) apenas entre o tempo inicial e as primeiras 24 h, chegando ao máximo de concentração de biomassa úmida igual a 3,00 g.L<sup>-1</sup> em 24 h e 7,59 g.L<sup>-1</sup> em 72 h, respectivamente. Assim, para os meios GLIC, MEL e MRS, os tempos de incubação necessários para a máxima produção de biomassa foram, respectivamente, 24, 72 e 48 h (Tabela 1).



AR: açúcares redutores; GLIC: glicose; MEL: melão de cana-de-açúcar; MRS: controle.

**Figura 1 – Correlação entre o consumo de açúcares redutores e as produções de biomassa de *Lactobacillus plantarum* CCT 0580 (X) e de ácido láctico (P) nos diferentes meios testados: GLIC (A), MEL (B) e MRS (C). Em incubação de 35°C sem agitação.**

Feltrin *et al.* (2000) estudaram a produção de biomassa de *L. plantarum* ATCC 8014 comparando dois meios contendo melão com o meio MRS. Eles também observaram que a produção de biomassa seca foi maior em MRS (2,22 g.L<sup>-1</sup>) do que nos meios contendo melão (1,37 e 2,01 g.L<sup>-1</sup>) incubados a 35°C por 24 h com agitação de 150 rpm em fermentador de 3,5 L.

Quanto aos rendimentos, os maiores encontrados para a produção de ácido láctico foram em MRS, seguido por MEL e GLIC. Esses resultados estão de acordo com o esperado, pois o MRS é produzido especificamente para crescimento de *Lactobacillus* sp, contendo nutrientes em concentrações ideais; e o melão contém, naturalmente, outros nutrientes inorgânicos tornando-os mais nutritivos que o meio GLIC.

Entre os rendimentos de biomassa em 72 h, o meio a utilizar mais eficientemente os açúcares redutores foi o GLIC, seguido por MEL e MRS, com diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). O maior rendimento até 72 h do meio GLIC pode estar relacionado à sua menor produção de biomassa e ácido láctico (Figura 1). Dessa forma, o baixo consumo de açúcares redutores (2,2 g.L<sup>-1</sup> em 72 h) foi praticamente convertido em biomassa. MRS,

mesmo sendo o tratamento testemunha, apresentou o menor rendimento da conversão de açúcares redutores em biomassa por ter havido um decréscimo nas concentrações de biomassa entre 48 e 72 h (Figura 1).

A Tabela 2 apresenta os resultados dos parâmetros fermentativos quanto aos rendimentos e produtividades.

Houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nas produtividades de ácido láctico e de biomassa entre todos os meios testados em 72 h de fermentação, ou seja, os meios mais produtivos de ácido láctico e biomassa foram, respectivamente, MRS, MEL e GLIC (Tabela 2).

Oliveira *et al.* (2009) estudaram a formação de ácido láctico por *L. casei* utilizando melão de cana-de-açúcar a 10% e hidrolisado por invertase incubados a 37°C sob agitação de 100 rpm durante 48 h. A concentração de AR inicial foi de 21 g.L<sup>-1</sup> e, após a hidrólise, resultou em 93,25 g.L<sup>-1</sup>. Eles encontraram maior rendimento (0,76 g.g<sup>-1</sup>) e produtividade (1,22 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) no meio contendo melão suplementado com 2% de extrato de levedura e 2% de peptona. Comparando com Oliveira *et al.* (2009), para 48 h de fermentação, foram encontrados rendimento de 0,54 g.g<sup>-1</sup> e produtividade de 0,10 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> de ácido láctico no meio MEL. Mesmo uti-

**Tabela 1 – Valores médios das concentrações de açúcares redutores, ácido láctico e biomassa de *Lactobacillus plantarum* CCT 0580, em g.L<sup>-1</sup>, de acordo com os tempos de fermentação a 35°C, sem agitação.**

Meios de cultura	Tempo de fermentação			
	0 h	24 h	48 h	72 h
<b>Açúcares redutores</b>				
GLIC	28,8 ± 0,40 aA	24,8 ± 0,87 bA	26,8 ± 1,37 abA	26,6 ± 0,81 abA
MEL	28,5 ± 2,3 aA	22,0 ± 0,67 bB	19,3 ± 0,46 bB	17,1 ± 0,18 bB
MRS	20,8 ± 2,43 aB	7,8 ± 0,67 bC	2,4 ± 0,46 cC	1,3 ± 0,18 cC
<b>Ácido láctico</b>				
GLIC	0,0 aA	0,6 ± 0,0 bA	0,9 ± 0,0 cA	0,9 ± 0,0 cA
MEL	0,0 aA	4,1 ± 0,64 bB	5,0 ± 0,21 bB	6,5 ± 0,21 cB
MRS	0,0 aA	7,4 ± 0,21 bC	11,3 ± 0,21 cC	12,6 ± 0,42 dC
<b><i>L. plantarum</i></b>				
GLIC	0,1 ± 0,0 aA	3,0 ± 0,85 bA	2,4 ± 0,76 abA	2,3 ± 0,40 abA
MEL	0,1 ± 0,0 aA	7,13 ± 0,21 bB	6,53 ± 0,66 bA	7,59 ± 0,66 bB
MRS	0,1 ± 0,0 aA	12,1 ± 0,99 bC	16,9 ± 3,54 cB	9,2 ± 0,28 bB

Valores referentes a cada grupo analisado (açúcares redutores, ácido láctico e *L. plantarum*) seguidos por letras minúsculas diferentes na mesma linha e por letras maiúsculas na mesma coluna representam diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ). GLIC: glicose; MEL: melão de cana-de-açúcar; MRS: controle.

lizando LAB diferentes, Oliveira *et al.* (2009) encontraram maior produtividade e rendimento utilizando o melaço hidrolisado por invertase.

Silva *et al.* (2010) compararam a produção de ácido láctico por *L. casei* utilizando melaço de cana-de-açúcar, farinha de varredura, fécula de mandioca e frutose. O melaço, a farinha de varredura e a fécula de mandioca foram hidrolisadas enzimaticamente e suplementados igualmente com 2% de peptona e 2% de extrato de levedura. Todos foram mantidos em temperatura de 37°C e agitação de 100 rpm. Eles concluíram que a partir do melaço houve maior produção de ácido láctico diante da carga de nutrientes que esse, naturalmente, apresenta em relação às demais fontes de carbono testadas por eles.

Feltrin *et al.* (2000) encontraram produtividades de biomassa de *L. plantarum* ATCC 8014 significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ), sendo a produtividade em MRS (0,086 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) superior aos meios contendo melaço (0,077 e 0,050 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>), todos em 24 h de incubação a 35°C com agitação de 150 rpm em fermentador de 3,5 L.

Neste trabalho, foi encontrada maior produtividade de biomassa úmida de *L. plantarum* em 24 h de incubação, também em MRS (0,500 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>), seguido por MEL (0,293 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) e GLIC (0,121 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>). Assim como no trabalho de Feltrin *et al.* (2000), foram encontradas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nas taxas de produção de biomassa entre todos os meios testados em incubação de 24 h (Tabela 2).

Para a análise dos COE para a produção de ácido láctico, os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Analisando os custos de produção, na condição de laboratório, verificou-se que os maiores COE para a

produção de ácido láctico foram encontrados no meio GLIC para todos os tempos de incubação (Tabela 3). Isso porque, nesse meio, o rendimento de AR em ácido láctico foi o menor (Tabela 2). Logo, para a produção padronizada de 1 g, seriam necessárias maiores despesas com os insumos para a preparação do meio de cultura em maior volume, comparado com os meios MEL e MRS. Os menores COE foram encontrados no meio MEL, que teve um rendimento de conversão de AR em ácido láctico maior que o meio GLIC e menor que o meio MRS (Tabela 3). No entanto, o meio MEL apresentou menor custo com a fonte de carbono que o meio MRS. Assim, os menores COE para a produção de ácido láctico em GLIC (R\$ 16,37), MEL (R\$ 0,88) e MRS (R\$ 4,47) foram, respectivamente, em 48, 72 e 72 h. Os custos com a fonte de carbono tiveram a maior parcela do COE para a produção de 1 g de ácido láctico. O MRS não é apenas uma fonte de carbono, é um meio de cultivo elaborado especificamente para atender demandas metabólicas de *Lactobacillus sp.*, contendo suplementos. Por isso, nesse meio, não houve custo com materiais dessa categoria. No meio MEL, a parcela mais impactante nos custos refere-se às despesas com suplementos, uma vez que o custo com a fonte de carbono (melaço) foi praticamente nulo, representando apenas 0,1% do COE.

Åkerberg e Zacchi (2000) compararam os COE com os CT das produções de ácido láctico por fermentação, utilizando *Lactococcus lactis ssp lactis* ATCC 19435 em diferentes concentrações de glicose, e concluíram que os COE representaram cerca de 80% do CT da produção de ácido láctico. Demirçi *et al.* (1998) comentaram que os meios de cultura, incluindo as fontes de carbono, representaram mais de 30% do CT da produção de ácido láctico.

**Tabela 2 – Produtividades médias de ácido láctico e de biomassa de *Lactobacillus plantarum* CCT 0580 em g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> e rendimentos médios da conversão de açúcares redutores em ácido láctico e em biomassa de *Lactobacillus plantarum* CCT 0580 em g.g<sup>-1</sup> ao final de 72 h em incubação a 35°C sem agitação nos meios GLIC, MEL e MRS.**

	Q <sub>p</sub> (g.L <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )	Y <sub>p/s</sub> (g.g <sup>-1</sup> )	Q <sub>x</sub> (g.L <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )	Y <sub>x/s</sub> (g.g <sup>-1</sup> )
GLIC	0,01a	0,40a	0,03a	0,98a
MEL	0,09b	0,52b	0,10b	0,60b
MRS	0,17c	0,64c	0,13c	0,46c

Valores na mesma coluna seguidos por letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ). Q<sub>p</sub>: produtividade média de ácido láctico; Q<sub>x</sub>: produtividade média de biomassa de *Lactobacillus plantarum* CCT 0580; Y<sub>p/s</sub>: conversão de açúcares redutores em ácido láctico; Y<sub>x/s</sub>: conversão de açúcares redutores em biomassa de *Lactobacillus plantarum* CCT 0580; GLIC: glicose; MEL: melaço de cana-de-açúcar; MRS: controle.

González *et al.* (2007) estudaram os custos de produção de ácido láctico a partir do soro de leite, incluindo todas as etapas da produção. Eles observaram que a fermentação é responsável por 50% dos custos anuais da produção de ácido láctico a 50%, sendo 25% apenas com extrato de levedura. Mais uma vez, os gastos com meio de cultura tiveram o maior impacto na produção de ácido láctico utilizando um resíduo agroindustrial (soro de leite), corroborando o achado para o meio MEL de 98,5% dos COE sendo com suplementos.

A Tabela 4 apresenta os resultados dos COE para a produção de biomassa.

Na avaliação dos COE para a produção de 1 g de biomassa de *L. plantarum* a cada tempo de fermentação nos meios testados (GLIC, MEL e MRS), pode-se observar que o meio MEL resultou nos menores COE em todos os tempos de fermentação. Os custos mais elevados foram encontrados no meio GLIC (Tabela 4).

Ao se comparar as proporções dos COE para produção de biomassa de *L. plantarum* por categoria de insumos, verificou-se que a maior parcela no meio GLIC referiu-se à fonte de carbono (61,4% do COE). No meio MEL, considerando o baixo custo com a fonte

de carbono, foram os suplementos os responsáveis por quase a totalidade do COE, principalmente com a peptona (47,9% do COE). Como o meio MRS, por já ser complexo, não foi suplementado, todo o COE (100%) referiu-se a ele. Não foram obtidos custos com reagentes analíticos na produção de biomassa de *L. plantarum*, pois na metodologia utilizada não houve necessidade de tais recursos.

De modo geral, Chaves (2015) comparou os custos operacionais da produção de polihidroxibutirato (PHB) por *Bradyrhizobium japonicum* utilizando diferentes fontes de carbono, dentre elas o melão. Ela constatou que os custos com meios de cultura foram mais representativos, principalmente os custos com extrato de levedura (entre 24,82 e 46,96%). Segundo a autora, os custos da utilização do melão (R\$ 3,35/g de PHB) superaram os custos quando se utilizou sacarose (R\$ 2,86/g de PHB). No entanto, os custos com a utilização do melão foram menores do que com a utilização dos demais meios testados: sacarose < melão < glicerol < soro de leite < lactose < glicose.

Mesmo sem suplementações que atendam ao máximo desempenho nas fermentações, aplicando o método da OP, observou-se certa vantagem na substituição do MRS

**Tabela 3 – Custos operacionais efetivos para a produção, por grama, de ácido láctico em laboratório de acordo com os meios de cultura testados (GLIC, MEL e MRS).**

Insumos	24 h			48 h			72 h		
	GLIC	MEL	MRS	GLIC	MEL	MRS	GLIC	MEL	MRS
Fonte de carbono	R\$ 14,99	R\$ 0,00	R\$ 7,59	R\$ 10,00	R\$ 0,00	R\$ 4,97	R\$ 10,00	R\$ 0,00	R\$ 4,46
Suplementos									
Ureia	R\$ 1,46	R\$ 0,21	-	R\$ 0,97	R\$ 0,18	-	R\$ 0,97	R\$ 0,13	-
Peptona	R\$ 4,52	R\$ 0,66	-	R\$ 3,01	R\$ 0,54	-	R\$ 3,01	R\$ 0,42	-
Extrato de levedura	R\$ 3,44	R\$ 0,50	-	R\$ 2,29	R\$ 0,41	-	R\$ 2,29	R\$ 0,32	-
Subtotal	R\$ 9,42	R\$ 1,37	-	R\$ 6,27	R\$ 1,13	-	R\$ 6,27	R\$ 0,87	-
Reagentes analíticos									
Hidróxido de sódio	R\$ 0,10	R\$ 0,01	R\$ 0,01	R\$ 0,06	R\$ 0,01	R\$ 0,01	R\$ 0,06	R\$ 0,01	R\$ 0,00
Fenolftaleína	R\$ 0,01	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,01	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,01	R\$ 0,00	R\$ 0,00
Álcool absoluto	R\$ 0,03	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,02	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,02	R\$ 0,00	R\$ 0,00
Subtotal	R\$ 0,14	R\$ 0,01	R\$ 0,01	R\$ 0,09	R\$ 0,01	R\$ 0,01	R\$ 0,09	R\$ 0,01	R\$ 0,00
Custo operacional efetivo									
Total	R\$ 24,55	R\$ 1,38	R\$ 7,60	R\$ 16,36	R\$ 1,14	R\$ 4,98	R\$ 16,36	R\$ 0,88	R\$ 4,46

US\$ 1,00 = R\$ 4,05. Cotação média do dólar para o mês de janeiro de 2016 (Banco Central do Brasil, 2016). GLIC: glicose; MEL: melão de cana-de-açúcar; MRS: controle.

e da glicose por melaço, tanto para a produção de ácido láctico, quanto para a produção de biomassa de *L. plantarum* CCT 0580. Todos os valores das simulações nas quais o melaço seria utilizado foram positivos (Tabela 5). As receitas obtidas com as produções de ácido láctico e de biomassa foram de R\$ 0,05 e R\$ 412,17, respectivamente.

A Tabela 5 apresenta os resultados das OP para as possíveis substituições dos meios das fontes de carbono.

De acordo com os conceitos de química verde trazidos por Torresi *et al.* (2010), a substituição de glicose por melaço pode ser ambientalmente sustentável, considerando que a produção de ácido láctico e de biomassa de *L. plantarum* CCT 0580 foram maiores utilizando melaço e apresentou COE menores.

Dessa forma, a Figura 2 apresenta um modelo de ecossistema industrial com a incorporação da produção de

**Tabela 4 – Custos operacionais efetivos para a produção, por grama, de biomassa de *Lactobacillus plantarum* CCT 0580 em laboratório de acordo com os meios de cultura testados (GLIC, MEL e MRS).**

Insumos	24 h			48 h			72 h		
	GLIC	MEL	MRS	GLIC	MEL	MRS	GLIC	MEL	MRS
Fonte de carbono	R\$ 3,10	R\$ 0,00	R\$ 4,68	R\$ 3,95	R\$ 0,00	R\$ 3,34	R\$ 4,09	R\$ 0,00	R\$ 6,17
Suplementos									
Ureia	R\$ 0,30	R\$ 0,12	-	R\$ 0,38	R\$ 0,14	-	R\$ 0,40	R\$ 0,12	-
Peptona	R\$ 0,94	R\$ 0,39	-	R\$ 1,19	R\$ 0,42	-	R\$ 1,23	R\$ 0,36	-
Extrato de levedura	R\$ 0,71	R\$ 0,29	-	R\$ 0,90	R\$ 0,32	-	R\$ 0,94	R\$ 0,28	-
Subtotal	R\$ 1,95	R\$ 0,80	-	R\$ 2,47	R\$ 0,88	-	R\$ 2,57	R\$ 0,76	-
Custo operacional efetivo									
Total	R\$ 5,05	R\$ 0,80	R\$ 4,68	R\$ 6,42	R\$ 0,88	R\$ 3,34	R\$ 6,66	R\$ 0,76	R\$ 6,17

US\$ 1,00 = R\$ 4,05. Cotação média do dólar para o mês de janeiro de 2016 (Banco Central do Brasil, 2016). GLIC: glicose; MEL: melaço de cana-de-açúcar; MRS: controle.

**Tabela 5 – Orçamentação parcial simulando as substituições das produções, por grama de ácido láctico e de biomassa de *Lactobacillus plantarum* CCT 0580 a partir das substituições de GLIC e MRS por MEL e a partir de GLIC por MRS.**

Meios a serem substituídos	Ácido láctico			Biomassa de <i>L. plantarum</i>		
	Meios alternativos			Meios alternativos		
	MEL 24 h	MEL 48 h	MEL 72 h	MEL 24 h	MEL 48 h	MEL 72 h
GLIC 24 h	R\$ 4,25	R\$ 4,25	R\$ 4,29	R\$ 23,17	R\$ 23,41	R\$ 23,67
GLIC 48 h	R\$ 5,62	R\$ 5,62	R\$ 5,66	R\$ 14,98	R\$ 15,22	R\$ 15,48
GLIC 72 h	R\$ 5,86	R\$ 5,86	R\$ 5,90	R\$ 14,98	R\$ 15,22	R\$ 15,48
MRS 24 h	R\$ 3,88	R\$ 3,80	R\$ 3,92	R\$ 6,22	R\$ 6,46	R\$ 6,72
MRS 48 h	R\$ 2,54	R\$ 2,46	R\$ 2,58	R\$ 3,60	R\$ 3,84	R\$ 4,10
MRS 72 h	R\$ 5,37	R\$ 5,29	R\$ 5,41	R\$ 3,08	R\$ 3,32	R\$ 3,58
	MRS 24 h	MRS 48 h	MRS 72 h	MRS 24 h	MRS 48 h	MRS 72 h
GLIC 24 h	R\$ 0,37	R\$ 1,71	-R\$ 1,12	R\$ 16,95	R\$ 19,57	R\$ 20,09
GLIC 48 h	R\$ 1,74	R\$ 3,08	R\$ 0,25	R\$ 8,76	R\$ 11,38	R\$ 11,90
GLIC 72 h	R\$ 1,98	R\$ 3,32	R\$ 0,49	R\$ 8,76	R\$ 11,38	R\$ 11,90

Valores positivos significam alteração favorável. Para verificar as simulações em sentido inverso, basta inverter os sinais dos valores. GLIC: glicose; MEL: melaço de cana-de-açúcar; MRS: controle.



O meio MEL apresenta o menor custo operacional efetivo em escala laboratorial para a produção de 1 g de biomassa de *L. plantarum* CCT 0580 e de ácido láctico, seguido por MRS e GLIC, respectivamente. De acordo com a OP, o melão é uma fonte economicamente viável para

uso na substituição da glicose para produção de ácido láctico e biomassa de *L. plantarum* CCT 0580, em escala laboratorial. A partir desses resultados, sugere-se que novos trabalhos sejam realizados em escala industrial, para verificar a rentabilidade real dessa substituição.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro ao projeto nº E-26/110.582/2014

e à Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda da Universidade Federal Fluminense (EEIMVR-UFF).

## REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAHMAN, M. A.; TASHIRO, Y.; SONOMOTO, K. Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: overview and limits. *Journal of Biotechnology*, v. 156, n. 4, p. 286-301, dez. 2011.
- ABEE, T.; KROCKEL, L.; HILL, C. Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *International Journal of Food Microbiology*, v. 28, n. 2, p. 169-185, dez. 1995.
- ÅKERBERG, C.; ZACCHI, G. An economic evaluation of the fermentative production of lactic acid from wheat flour. *Bioresource Technology*, v. 75, n. 2, p. 119-126, nov. 2000.
- AYALA, A.; TUN, E. Effect of consumption of molasses/urea block on the growth of housed bullocks fed ad libitum with *Pennisetum purpureum*. *Tropical Animal Health and Production*, v. 23, n. 2, p. 95-98, jun. 1991.
- BANCO CENTRAL DO BRASIL. *Cotações e Boletins*. Disponível em: <<http://www4.bcb.gov.br/pec/taxas/port/ptaxnpsq.asp>>. Acesso em: 05 fev. 2016.
- CHAVES, M. C. *Avaliação da síntese de poli-3-hidroxibutirato (PHB) a partir de resíduos agroindustriais e análise do custo operacional de produção*. 73 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) – Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica, Universidade Federal Fluminense, Volta Redonda, 2015.
- CHRAMOSTOVÁ, J.; MOŠNOVÁ, R.; LISOVÁ, I.; PEŠEK, E.; DRBOHLAV, J.; NĚMEČKOVÁ, I. Influence of cultivation on the growth of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., and *Streptococcus termophilus* and on the production of organic acids in fermented milks. *Czech Journal of Food Sciences*, Prague, v. 32, n. 5, p. 422-429, 2014.
- COELHO, L. F.; LIMA, C. J. B.; RODOVALHO, C. M.; BERNARDO, M. P.; CONTIERO, J. Lactic acid production by new *Lactobacillus plantarum* Lmism-6 grown in molasses: optimization of medium composition. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 27-36, jan. 2011.
- DAUDT, C. E.; SIMON, J. A. Um método rápido para análise de glicose em mostos e sua quantificação em algumas cultivares do Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 31, n. 4, p. 697-701, ago. 2001.
- DEMIRCI, A.; POMETTO III, A. L.; LEE, B.; HINZ, P. N. Media evaluation of lactic acid repeated-batch fermentation with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* subsp. *raimnosus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 46, n. 11, p. 4771-4774, out. 1998.
- EITEMAN, M. A.; RAMALINGAM, S. Microbial production of lactic acid. *Biotechnology Letters*, Dordrecht, v. 37, n. 5, p. 955-972, jan. 2015.

- EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA (EPE). *Balanço energético nacional 2015 – ano base 2014*. Rio de Janeiro: EPE, 2015. 34p. Disponível em: <[https://ben.epe.gov.br/downloads/Relatorio\\_Final\\_BEN\\_2015.pdf](https://ben.epe.gov.br/downloads/Relatorio_Final_BEN_2015.pdf)>. Acesso em: 15 maio 2016.
- EVANGELISTA, R. L.; NIKOLOV, Z. L. Recovery and purification of lactic acid from fermentation broth by adsorption. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Totowa, v. 57, n. 1, p. 471-480, mar. 1996.
- FELTRIN, V. P.; SANT'ANNA, E. S.; PORTO, A. C. S.; TORRES, R. C. O. Produção de *Lactobacillus plantarum* em melão de cana-de-açúcar. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 43, n. 1, 2000.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistic analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov. 2011.
- FUNDAÇÃO GETULIO VARGAS (FGV). Índice Geral de Preços - Disponibilidade Interna (IGP-DI). Disponível em: <[http://www.antigofgvdados.fgv.br/bf/dsp\\_periodo.htm](http://www.antigofgvdados.fgv.br/bf/dsp_periodo.htm)>. Acesso em: 5 fev. 2016.
- GONZÁLEZ, M. I.; ÁLVAREZ, S.; RIERA, F.; ÁLVAREZ, R. Economic evaluation of an integrated process for lactic acid production from ultrafiltered whey. *Journal of Food Engineering*, Pullman, v. 80, n. 2, p. 553-561, maio 2007.
- HAO, Z.; REISKE, H. R.; WILSON, D. B. Characterization of Cadmium Uptake in *Lactobacillus plantarum* and Isolation of Cadmium and Manganese Uptake Mutants. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 65, n. 11, p. 4741-4745, nov. 1999.
- HOFVENDAHL, K.; HAHN-HÄGERDAL, B. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme and Microbial Technology*, Atlanta, v. 26, n. 2-4, p. 87-107, fev. 2000.
- JOHN, R. P.; NAMPOOTHIRI, K. M.; PANDEY, A. Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Heidelberg, v. 74, n. 3, p. 524-534, jan. 2007.
- MANAHAN, S. E. *Green Chemistry and the Ten Commandments of sustainability*. 2. ed. Columbia [Missouri]: ChemChar Research, 2006. 379 p.
- MARTINEZ, F. A. C.; BALCIUNAS, E. M.; SALGADO, J. M.; GONZÁLEZ, J. M. D.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, R. P. S. Lactic acid properties, applications and production: a review. *Trends in Food Science & Technology*, Wageningen, v. 30, n. 1, p. 70-83, mar. 2013.
- MAZZEO, M. F.; CACACE, M. F.; PELUSO, M. F.; ZOTTA, M. F.; MUSCARIELLO, M. F. Effect of inactivation of *ccpA* and aerobic growth in *Lactobacillus plantarum*: A proteomic perspective. *Journal of Proteomics*, Martinsried, v. 75, n. 13, p. 4050-4061, jul. 2012.
- MELAÇOS BRASILEIROS. *Aplicações*. 2014. Disponível em: <<http://www.melacos.com.br/melacos-brasileiros-outras-aplicacoes.html>>. Acesso em: 15 fev. 2016.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v. 31, p. 426-428, 1959.
- MOUSAVI, Z. E.; MOUSAVI, S. M.; RAZAVI, S. H.; HADINEJAD, M.; EMAM-DJOMEH, Z.; MIRZAPOUR, M. Effect of fermentation of pomegranate juice by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* on the antioxidant activity and metabolism of sugars, organic acids and phenolic compounds. *Food Biotechnology*, New York, v. 27, n. 1, p. 1-13, fev. 2013.
- NORONHA, F. J. *Projetos agropecuários: administração financeira, orçamentação e avaliação econômica*. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1981. 274 p.
- OLIVEIRA, R. F.; SOUSDALEFF, M.; LIMA, M. V. S.; LIMA, H. O. S. Produção fermentativa de ácido láctico a partir do melão da cana-de-açúcar por *Lactobacillus casei*. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, p. 34-40, jun. 2009.
- PANESAR, P.; KENNEDY, J. F.; GANDHI, D. N.; BUNKO, K. Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*, v. 105, n. 1, p. 1-14, 2007.

- PANESAR, P. S.; KENNEDY, J. F.; KNILL, C. J.; KOSSEVA, M. Production of L(+) lactic acid using *Lactobacillus casei* from whey. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 53, n. 1, p. 219-226, jan. 2010.
- PAUCEAN, A.; DAN-CRISTIAN, V.; SONIA-ANCUTA, S.; CARMEN, S. Carbohydrate metabolic conversions to lactic acid and volatile derivatives, as influenced by *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 and *Lactobacillus casei* ATCC 393 efficiency during in vitro and sourdough fermentation. *European Food Research and Technology*, Berlim, v. 237, n. 5, p. 679-689, jun. 2013.
- PIACENTE, F. J. *Agroindústria Canavieira e o Sistema de Gestão Ambiental: o caso das usinas localizadas nas bacias hidrográficas dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiá*. 187 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Econômico) – Instituto de Economia da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- QUATRAVAUX, S.; REMIZE, F.; BRYCKAERT, E.; COLAVIZZA, D.; GUZZO, J. Examination of *Lactobacillus plantarum* lactate metabolism side effects in relation to the modulation of aeration parameters. *Journal of Applied Microbiology*, Bedford, v. 101, n. 4, p. 903-912, 2006.
- SILVA, M. V.; GONÇALVES, O. H.; LIMA, M. V. S.; LIMA, H. O. S. Obtenção de ácido láctico via fermentação descontínua utilizando melão de cana-de-açúcar, farinha de varredura, frutose e fécula de mandioca. *Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos*, Campo Mourão, v. 1, n. 2, p. 97-102, jul. 2010.
- SOLIMAN, W.; WANG, L.; BHATTACHARJEE; KAUR, K. Structure-Activity Relationships of an Antimicrobial Peptide Plantaricin S from Two-Peptide Class IIb Bacteriocins. *Journal of Medicinal Chemistry*, Washington, v. 54, n. 7, p. 2399-2408, mar. 2011.
- TONDEE, T.; SIRIANUNTAPIBOON, S. Decolorization of molasses wastewater by *Lactobacillus plantarum* No. PV71-1861. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 14, p. 6258-6265, set. 2008.
- TORRESI, S. I. C. de; PARDINI, V. L.; FERREIRA, V. F. O que é sustentabilidade. [Editorial]. *Química Nova*, São Paulo, v. 33, n 1, p. 5, 2010.
- UNITED NATIONS. *Declaration of the United Nations Conference on the Human Environment*. 1972. Disponível em: <<http://www.un-documents.net/unchedec.htm>>. Acesso em: 2 fev. 2016.
- VARGAS, A. L. V.; Lepsch, L. H.; BRANCO, R. de F. Lactic Acid production by *Lactobacillus plantarum* CCT 0580 using sugar cane molasses. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA, 6., 2015. *Anais...* Brasília: Sociedade Brasileira de Biotecnologia, nov. 2015.
- VIJAYAKUMAR, J.; ARAVINDAN, R.; VIRUTHAGIRI, T. Recent trends in the production, purification and application of lactic acid. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, Zagreb, v. 22, n. 2, p. 245-264, 2008.
- VISHNU, C.; SEENAYYA, G.; REDDY, G. Direct fermentation of various pure and crude starchy substrates to L(+) lactic acid using *Lactobacillus amylophilus* GV6. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Dordrecht, v. 18, n. 5, p. 429-433, 2002.
- VRANCKEN, G.; VUYST, L.; RIMAUX, T.; ALLEMEERSCH, J.; WECKX, S. Adaptation of *Lactobacillus plantarum* IMDO 130201, a wheat sourdough isolate, to growth in wheat sourdough simulation medium at different pH values through differential gene expression. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 77, n. 10, p. 3406-3412, abr. 2011.
- VRIES, M. C.; VAUGHAN, E. E.; KLEEREBEZEM, M.; VOS, W. M. de. *Lactobacillus plantarum*: survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal*, Edmonton, v. 16, n. 9, p. 1018-1028, 2006.
- WANG, Y.; TASHIRO, Y.; SONOMOTO, K. Fermentative production of lactic acid from renewable materials: Recent achievements, prospects, and limits. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 119, n. 1, p. 10-18, jan. 2015.
- WOUTERS, D.; GROSU-TUDOR, S.; ZAMFIR, M.; VUYST, L. Applicability of *Lactobacillus plantarum* IMDO 788 as a starter culture to control vegetable fermentations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Chichester, v. 93, n. 13, p. 3352-3361, jun. 2013.