

ORIGINAL ARTICLE

Produção de ácido lático em meio à base de efluentes da indústria de alimentos por cultura láctea mista imobilizada

Production of lactic acid in a medium based on food industry effluents using an immobilized mixed dairy culture

Carolina Lilibeth Carvalho de Pinho¹, Caroline Eliza Sgarbosa de Oliveira¹,
Jamille Coelho Coimbra², Weskley da Silva Cotrim^{1*} 

¹Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Instituto de Ciências Exatas e da Terra, Laboratório de Engenharia de Processos Industriais, *Campus* Universitário do Araguaia, Barra do Garças/MT - Brasil

²Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Viçosa/MG - Brasil

***Corresponding Author:** Weskley da Silva Cotrim, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Instituto de Ciências Exatas e da Terra, Laboratório de Engenharia de Processos Industriais, *Campus* Universitário do Araguaia, Av. Valdon Varjão, 6390, CEP: 78600-000, Barra do Garças/MT - Brasil, e-mail: weskleycotrim@ufmt.br

Cite as: Pinho, C. L. C., Oliveira, C. E. S., Coimbra, J. C., & Cotrim, W. S. (2019). Production of lactic acid in a medium based on food industry effluents using an immobilized mixed dairy culture. *Brazilian Journal of Food Technology*, 22, e2018100. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.10018>

Resumo

O ácido polilático (PLA), o mais conhecido bioplástico com potencial para ser o substituto dos polímeros derivados do petróleo, é produzido pela polimerização do ácido lático. A aplicação do ácido lático para a produção de ácido polilático tem levado a um aumento substancial no seu consumo. Entretanto, o custo da matéria-prima representa um grande obstáculo na produção econômica de ácido lático para essa finalidade. Assim, vários materiais têm sido considerados como substratos alternativos, incluindo subprodutos de indústrias agrícolas, indústrias de alimentos e biomassas naturais. O presente trabalho avaliou o uso de resíduos da indústria de alimentos como suplemento nutricional do soro de leite para produção de ácido lático por cultura mista imobilizada de bactérias lácticas (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 e *Streptococcus thermophilus*). Foram testadas três condições de pH (6,0; 6,5 e 7,0) e três condições de temperatura (30 °C, 35 °C e 40 °C) de fermentação. Também foram testados três níveis de suplementação do soro de leite com cada um dos resíduos: água de maceração de milho – AMM (0%, 5% e 10%); vinhaça (0%, 5% e 10%) e extrato de levedura (0%, 3% e 6%). Ao final da fermentação, observou-se que os tratamentos com temperatura de 40 °C e o pH inicial de 7,0 apresentaram teor de ácido lático 10% superior aos demais. Todos os resíduos foram efetivos em aumentar a produção de ácido lático quando suplementados no soro de leite. O extrato de levedura apresentou a maior concentração de ácido lático, com 0,0307 mol.L⁻¹, resultado 20% superior ao da água de maceração de milho e vinhaça.

Palavras-chave: Extrato; Levedura; Vinhaça; Maceração; Milho; Fermentação.

Abstract

Poly(lactic acid) (PLA), the best-known bioplastic with the potential to substitute polymers derived from petroleum, is produced by lactic acid polymerization. The application of lactic acid in the production of poly(lactic acid) has led to a substantial increase in the world consumption of this acid. However, the cost of the raw material represents a



Este é um artigo publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença [Creative Commons Attribution](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), que permite uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, sem restrições desde que o trabalho original seja corretamente citado.

major obstacle in the economic production of lactic acid for this purpose. Thus, many materials have been considered as alternative substrates, including by-products from agricultural industries, food industries and natural biomasses. The present work evaluated the use of residues from the food industry as a nutritional supplement for the whey used in the production of lactic acid by an immobilized mixed culture of lactic acid bacteria (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 and *Streptococcus thermophilus*). Three pH conditions (6.0, 6.5 and 7.0) and three fermentation temperatures (30 °C, 35 °C and 40 °C) were tested. Three levels of whey supplementation were also tested with each of the residues: corn maceration water - AMM (0%, 5% and 10%); vinasse (0%, 5% and 10%) and yeast extract (0%, 3% and 6%). At the end of the fermentations, it could be seen that the treatments with a temperature of 40 °C and an initial pH of 7.0 presented a lactic acid content 10% higher than the other treatments. All the residues were effective in increasing the lactic acid production when used to supplement the whey. The yeast extract presented the highest concentration of lactic acid, with 0.0307 mol.L⁻¹, a result 20% higher than that obtained with corn maceration water and vinasse.

Keywords: Extract; Yeast; Vinasse; Maceration; Corn; Fermentation.

1 Introdução

O ácido láctico possui ampla aplicação como matéria-prima para várias indústrias, tais como a indústria de alimentos, indústria farmacêutica, de couro e indústrias têxteis. A aplicação do ácido láctico para a produção de ácido polilático (PLA), o mais conhecido bioplástico que pode ser o substituto dos polímeros derivados do petróleo, tem levado a um aumento substancial no consumo mundial desse ácido (Tosungnoen et al., 2014; Vijayakumar et al., 2008). No entanto, o preço do ácido láctico é ainda elevado para a sua utilização econômica na produção de PLA. Desta forma, diversos pesquisadores têm se dedicado ao desenvolvimento de abordagens efetivas para a sua produção, buscando substratos de baixo custo, micro-organismos eficientes e a otimização do processo de fermentação (Ding & Tan, 2006; Tosungnoen et al., 2014; Wee et al., 2006).

O custo da matéria-prima é um dos principais fatores que interferem na produção econômica de ácido láctico. Assim, vários materiais têm sido considerados como substratos alternativos, incluindo subprodutos de indústrias agrícolas, indústrias de alimentos e biomassas naturais não utilizadas (Abdel-Rahman et al., 2013; Bai et al., 2016; Bonk, et al., 2017). Resíduos agroindustriais vêm sendo utilizados, não só como fonte de carbono, mas também como fonte orgânica de nitrogênio, o qual é utilizado nos processos anabólicos e catabólicos, e está disponível na forma de aminoácidos, peptídeos e componentes inorgânicos (Martinez et al., 2013)

Para sua utilização como substrato, o resíduo deve atender aos requisitos nutricionais do micro-organismo empregado no processo. Nesse sentido, o soro de leite se apresenta como uma boa alternativa, uma vez que apresenta uma composição rica em lactose, proteínas, gorduras, vitaminas e sais minerais, atendendo à maioria dos requisitos nutricionais dos micro-organismos fermentadores, especialmente as bactérias do ácido láctico (BAL), o grupo mais largamente utilizado na produção do ácido láctico (Abdel-Rahman et al., 2013). Segundo Hofvendahl & Hahn-Hagerdal (2000), um grande número de diferentes substratos tem sido utilizado na produção de ácido láctico por fermentação de bactérias lácticas, uma vez que essas bactérias não produzem quantidades suficientes de enzimas proteolíticas, se faz necessária a suplementação do meio com uma fonte de aminoácidos e vitaminas lipossolúveis (Panesar et al., 2007), os quais podem ser fornecidos por outros resíduos, nutricionalmente ricos, da indústria de alimentos, tais como bagaço, melaço e vinhaça de cana-de-açúcar, manipueira, além da água de maceração de milho (AMM), do autolisado de levedura e de outros resíduos de alimentos (Bernardo et al., 2016; Zheng et al., 2017).

Nesse sentido, o presente trabalho visou ao estudo do uso de resíduos da indústria de alimentos como suplemento nutricional em meio à base de soro de leite para produção de ácido láctico por cultura mista imobilizada de bactérias lácticas (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 e *Streptococcus thermophilus*).

2 Material e métodos

Foi utilizada uma cultura mista liofilizada da marca Bio-Rich® (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 e *Streptococcus thermophilus*). A cultura láctica desidratada (40 mg) foi reativada em 100 mL de leite UHT e incubada por uma hora a 45 °C, em incubadora com agitação orbital, até concentração final estimada de 1×10^5 UFC/mL, sendo essa a pré-cultura utilizada no processo de imobilização celular.

Todos os meios fermentativos utilizados neste estudo foram elaborados pela suplementação do soro de leite por extrato de levedura, água de maceração de milho ou vinhaça. O soro de leite foi obtido a partir de leite pasteurizado. Para cada 1.000 mL de leite, adicionou-se 1 mL da enzima quimosina, conforme recomendação do fabricante (HA-LA® - Chr. Hansen Holding A/S), e 0,5 mL de solução de cloreto de cálcio 40%. Após esse procedimento, o leite foi incubado a 36 °C por duas horas. Decorrido esse tempo, o soro foi separado do coágulo por filtração simples e, na sequência, aquecido em banho-maria a 95 °C, durante 30 minutos, e filtrado novamente para remoção do material precipitado.

O extrato de levedura e a vinhaça foram produzidos por fermentação alcoólica de solução de açúcar mascavo 15% (m/m) por cultura desidratada de *Saccharomyces cerevisiae*, incubada por 48 h a 30 °C. Após fermentação, o material foi destilado para remoção do álcool e obtenção da vinhaça. Parte da vinhaça foi centrifugada a 3.500 rpm por 15 min, sendo o sobrenadante descartado e o precipitado (extrato de levedura) coletado e armazenado.

Para o preparo água de maceração de milho, 300 g milho semiduro foram adicionados a um erlenmeyer contendo a solução de maceração constituída por 950 mL de água destilada, 5 mL de ácido láctico e 2,5 gramas de metabissulfito de sódio, para liberação do SO₂ (Lopes-Filho et al., 2006). Os grãos foram então macerados em incubadora Shaker por 48 horas à temperatura de 50 °C sob agitação. Após esse período, a água de maceração foi filtrada e aquecida a 90 °C por três horas.

A etapa de imobilização foi realizada por meio do aprisionamento de células em gel de alginato de cálcio, conforme descrito por Mirdamadi et al. (2008), com modificações. Prepararam-se 40 mL de solução de alginato de sódio 2,5%, à qual foram adicionados 30 mL da pré-cultura microbiana. Essa mistura foi transferida para uma bureta e gotejada em uma solução de cloreto de cálcio 0,2 M. Cada gota, ao entrar em contato com o cloreto de cálcio, forma uma esfera, contendo dentro dela as células imobilizadas. As esferas formadas, contendo as células imobilizadas, foram mantidas em solução de cloreto de cálcio a 4 °C durante 12 horas, para cura das esferas. Após o período de cura, as esferas foram separadas por filtração e lavadas duas vezes com água destilada, para remoção do excesso de íons de cálcio e células não aprisionadas, sendo assim utilizadas nos ensaios fermentativos.

O estudo foi realizado em dois experimentos consecutivos. No primeiro, foi avaliado o efeito da temperatura (30 °C, 35 °C e 40 °C) e do pH inicial (6,0; 6,5 e 7,0) da fermentação sobre a produção de ácido láctico. No segundo experimento, avaliou-se a suplementação do soro de leite com três diferentes resíduos da indústria de alimentos (extrato de levedura, vinhaça e água de maceração de milho).

Na primeira etapa, para cada pH inicial, foram realizados ensaios em triplicata pela adição de 300 mL de soro de leite em frascos erlenmeyers de 500 mL, os quais tiveram os pH ajustados para cada caso. Um frasco de cada pH inicial foi submetido à fermentação em cada uma das temperaturas em estudo. Todos os frascos foram mantidos nas suas respectivas temperaturas durante seis horas, em estufa BOD. Nos tempos 0 h, 0,5 h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h e 6 h, uma alíquota foi retirada de cada frasco, totalizando 30 mL, para realização das análises físico-químicas.

Na segunda etapa, foram avaliadas três fontes de nitrogênio, sendo estas o extrato de levedura, a água de maceração de milho e a vinhaça. Um tratamento controle (não suplementado) foi realizado para comparação com aqueles suplementados. Quando utilizada a suplementação, realizaram-se duas fermentações para cada fonte de nitrogênio, variando a concentração adicionada ao soro de leite. Com o extrato de levedura, o meio foi composto de 300 mL de soro de leite e a adição de 3% e 6% de extrato. Na fermentação utilizando a

AMM como fonte de nitrogênio, a composição do meio foi de 300 mL de soro de leite e 5% e 10% de água de maceração. E, por fim, a fermentação utilizando a vinhaça foi realizada utilizando 300 mL de soro e 5% e 10% de vinhaça. Todos os ensaios foram inoculados com 16 g de esferas de alginato de cálcio e submetidos às mesmas condições de fermentação, sendo estas a temperatura de 40°C e o pH inicial 7,0. Nos tempos 0 h, 0,5 h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h e 6 h, uma alíquota foi retirada de cada frasco, totalizando 30 mL, para realização das análises físico-químicas.

A determinação do teor de ácido láctico durante a fermentação foi realizada como descrita por Zenebon et al. (2008). O pH foi determinado por medida direta em amostra mediante inserção do eletrododo pHmetro digital diretamente no frasco de fermentação.

Na condução das duas etapas do experimento, foi adotado delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições. Não foram avaliados efeitos do tempo no processo. Exclusivamente para os fatores temperatura e pH (primeira etapa), foi adotado arranjo fatorial 3², sendo a temperatura (TPR) e o pH inicial (PH), os fatores do delineamento. Os níveis de temperatura foram 30 °C, 35 °C e 40 °C. Os níveis de pH inicial foram 6,0, 6,5 e 7,0. Os dados foram analisados no software R 3.3.2 (R Core Team, 2016), por meio de análise de variância (ANOVA) e teste de comparações múltiplas (TUKEY), adotando o nível de 5% de probabilidade.

3 Resultados e discussão

3.1 Influência da temperatura e do pH inicial na produção de ácido láctico utilizando células imobilizadas

A Figura 1 apresenta os resultados para a produção de ácido láctico em diferentes condições iniciais de temperatura e pH, após 6 h de fermentação. Não foram observadas interações significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). A maior concentração de ácido láctico foi obtida com a fermentação iniciada com o maior valor de pH inicial (7,0), decrescendo à medida que o pH inicial também era reduzido ($p < 0,05$). Quando avaliado o efeito da temperatura, observou-se que a fermentação conduzida a 40 °C apresentou resultados superiores às demais ($p < 0,05$).

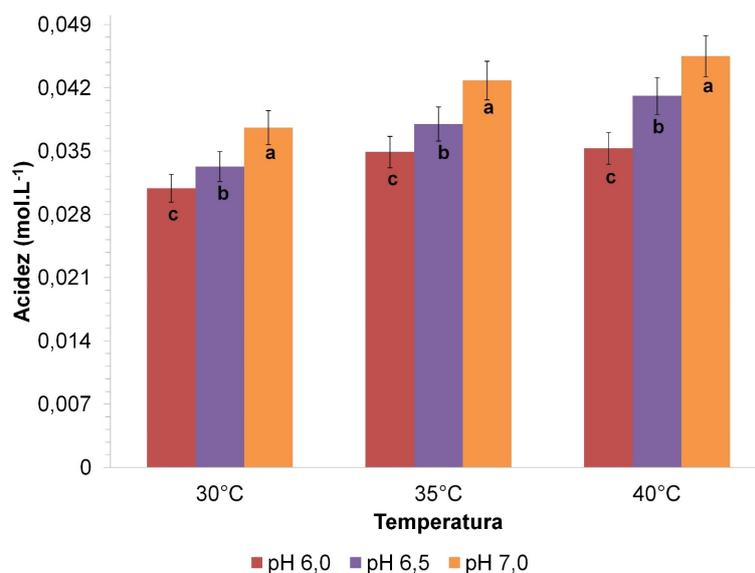


Figura 1. Teor de ácido láctico produzido após 6 h de fermentação por cultura mista de bactérias lácticas (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 e *Streptococcus thermophilus*) imobilizadas em esferas de alginato de cálcio, em soro de leite. Médias seguidas por letras iguais, na mesma temperatura, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O pH do meio de fermentação influencia diretamente na produção de ácido láctico, pois os microorganismos dependem do pH intracelular e extracelular, e este afeta a atividade catalítica das enzimas e o seu metabolismo (Mozzi et al., 2015). Segundo Hofvendahl & Hahn-Hagerdal (1997), ácidos fracos inibem o crescimento bacteriano, porque, com a queda do pH externo, o ácido é protonado, se difunde para a célula e dissocia-se devido ao pH superior intracelular. A célula então tem de usar ATP para bombear os prótons para seu exterior e, desta forma, a energia é totalmente utilizada para a manutenção da homeostase do pH, ocorrendo a parada do crescimento e, conseqüentemente, a morte das bactérias. Além disso, ocorre a autólise das células em altas concentrações de ácido láctico e a sua produção praticamente cessa quando o meio de fermentação atinge valores de pH próximos a 4,0. Isso explica por que maiores concentrações de ácido láctico foram obtidas em pH inicial equivalente a 7,0, uma vez que, nesta condição, as bactérias lácticas possuem condições mais favoráveis para adaptação e multiplicação em comparação ao pH inicial 6,0 e 6,5, levando a uma maior produção de ácido láctico.

3.2 Avaliação das fontes alternativas de nitrogênio

Foram avaliadas três fontes de nitrogênio (água de maceração de milho, a vinhaça e o extrato de levedura) utilizadas para suplementação do meio de cultura (soro de leite) para fermentação com células imobilizadas. Como a produção de ácido láctico foi superior na temperatura de 40 °C e pH inicial 7,0, estas foram as condições de trabalho adotadas neste experimento.

A Figura 2 apresenta o perfil de produção de ácido láctico, em seis horas de fermentação, com a utilização da água de maceração de milho (AMM) como suplemento nutricional para a cultura mista de bactérias lácticas. Foram testadas as concentrações de 0%, 5% e 10% de suplementação do soro de leite com a água de maceração de milho.

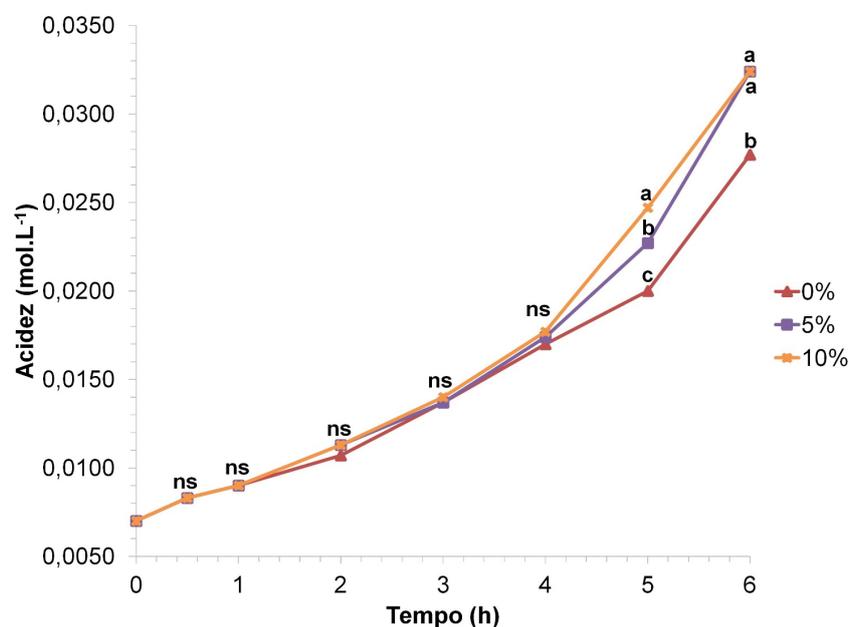


Figura 2. Produção de ácido láctico por cultura mista de bactérias lácticas (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 e *Streptococcus thermophilus*), imobilizadas em esferas de alginato de cálcio, em soro de leite suplementado com água de maceração de milho - AMM (pH inicial 7,0 e temperatura 40 °C). ns: Não significativo. Médias seguidas por letras iguais, no mesmo tempo, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Observa-se que, até o tempo de 4 h, a adição da AMM não apresentou vantagem para aumento da produção de ácido láctico, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$). Entretanto, após 5 h de fermentação, a suplementação começa a apresentar efeito positivo na produção de ácido láctico

($p < 0,05$), quando esse tratamento é comparado ao tratamento controle (0%). Ao final da fermentação, ficou evidente a vantagem da suplementação do soro de leite com água de maceração de milho, observando-se um incremento de cerca de 17% na produção de ácido láctico. Entretanto, não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) na produção de ácido láctico entre os tratamentos 5% e 10% de AMM.

No trabalho publicado por Lima et al. (2009), investigou-se a produção de ácido láctico por *Lactobacillus* sp., utilizando melão de cana-de-açúcar enriquecido com água de maceração de milho e autolisado de levedura. As maiores concentrações de ácido láctico foram encontradas nos meios em que foram adicionados 15 g/L de AMM e 5 g/L de autolisado de levedura (41,4 g/L). O experimento em que não foi adicionado a AMM como suplemento apresentou a menor produção de ácido láctico (12,1 g/L).

Na fermentação utilizando vinhaça como fonte de nitrogênio (Figura 3), a vantagem na suplementação é evidenciada a partir de 2 h de fermentação, em que os tratamentos com 5% e 10% de suplementação apresentaram maiores concentrações de ácido láctico, quando comparadas ao tratamento controle (0%) ($p < 0,05$). Ao final do experimento, não se verificou vantagem do tratamento de 10% frente àquele com 5% de suplementação do soro de leite por vinhaça. Entretanto, fica evidente a vantagem da suplementação, uma vez que os tratamentos que receberam a vinhaça produziram até 48% mais ácido láctico ($p < 0,05$), quando comparados ao tratamento controle (0%).

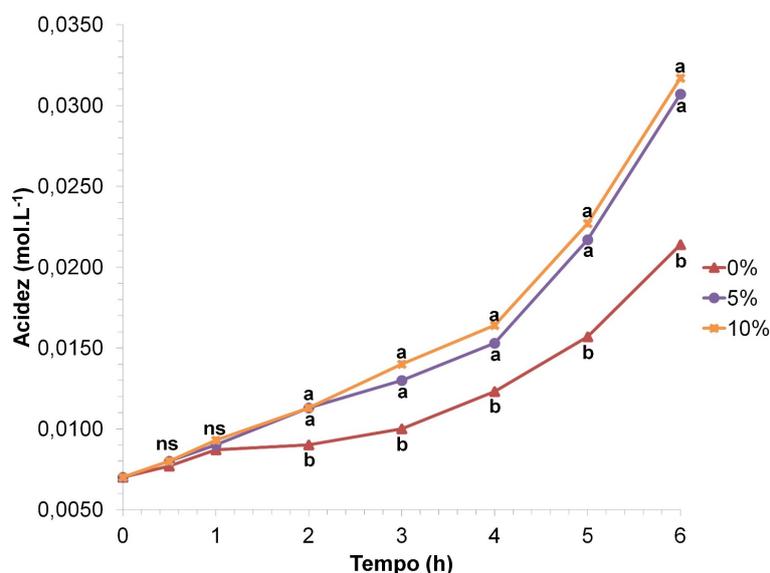


Figura 3. Produção de ácido láctico por cultura mista de bactérias lácticas (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 e *Streptococcus thermophilus*), imobilizadas em esferas de alginato de cálcio, em soro de leite suplementado com vinhaça (pH inicial 7,0 e temperatura 40 °C). ns: Não significativo. Médias seguidas por letras iguais, no mesmo tempo, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

A matéria nitrogenada representa cerca de 28% de toda a matéria seca presente na vinhaça, se apresentando na forma de proteínas e aminoácidos livres, dentre outros componentes (Dowd et al., 1994; Zali et al., 2017). A vinhaça possui quantidades livres apreciáveis de asparagina (42,6 mg L⁻¹), glicina (1050,9 mg L⁻¹), leucina (3148,1 mg L⁻¹) e alanina (134,9 mg L⁻¹), todas estas consideradas aminoácidos essenciais para o crescimento de *Lactobacillus acidophilus* (Silva et al., 2017; Soska, 1966). Além disso, também são observadas quantidades significativas de potássio e fósforo, minerais também necessários ao metabolismo microbiano, o que explica o efeito positivo da suplementação do soro de leite com esse resíduo (Zali et al., 2017).

A Figura 4 apresenta o efeito positivo na produção de ácido láctico ao se utilizar soro de leite suplementado com extrato de levedura como meio de cultivo para cultura mista imobilizada em esferas de alginato de cálcio.

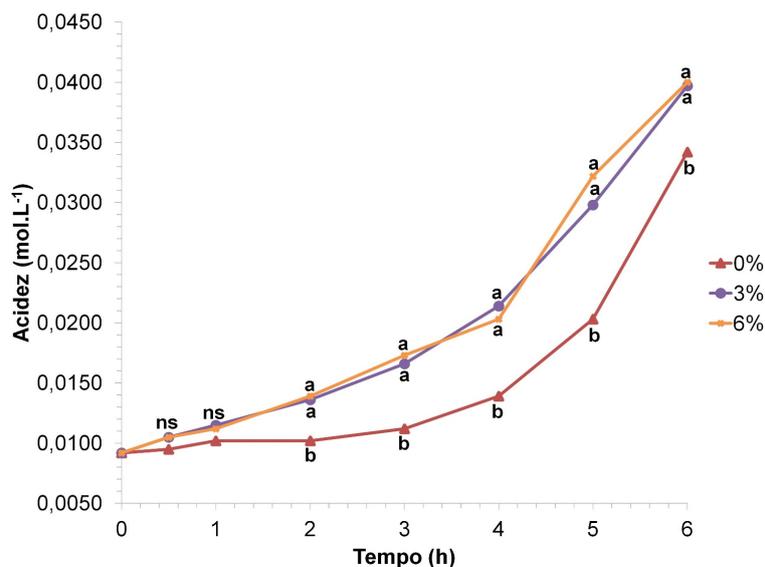


Figura 4. Produção de ácido láctico por cultura mista de bactérias lácticas (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 e *Streptococcus thermophilus*), imobilizadas em esferas de alginato de cálcio, em soro de leite suplementado com extrato de levedura (pH inicial 7,0 e temperatura 40 °C). ns: Não significativo. Médias seguidas por letras iguais, no mesmo tempo, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Após duas horas de fermentação, já é possível observar diferença entre o tratamento controle e os tratamentos com 3% e 6% de suplementação ($p < 0,05$) de extrato de levedura. A vantagem produtiva de ácido láctico persiste ao longo do processo ($p < 0,05$) para o meio suplementado com extrato de levedura (3% e 6%), quando comparado com aquele não suplementado (0%). Ao final do experimento, não se verificou diferença significativa ($p > 0,05$) entre o tratamento 3% e 6%, embora esses dois tratamentos tenham se mostrado superiores ($p < 0,05$) ao controle (0%), na produção de ácido láctico.

Assim como ocorre com a vinhaça, o extrato de levedura é rico em aminoácidos livres, minerais e vitaminas do complexo B, contribuindo para a redução no tempo de adaptação das bactérias lácticas (Champagne et al., 2003). Champagne et al. (1999) haviam demonstrado que a suplementação do meio de cultivo por extrato de levedura, em doses crescentes, contribui para a redução no tempo de adaptação da cultura láctea e o aumento na taxa de multiplicação celular.

Uma vez que bactérias lácticas têm a produção de ácido láctico afetada pelo seu metabolismo de produção de energia (ATP), é esperado que aumentos na taxa de multiplicação celular também sejam acompanhados de aumento na taxa de produção de ácido láctico. Isso explica o aumento na taxa de produção de ácido láctico já nas horas iniciais do processo observado nos tratamentos suplementados com extrato de levedura (3% e 6%), quando comparados com o controle (0%). Dados da literatura corroboram essa hipótese, uma vez que Haully et al. (2003) observaram que cultura de *Lactobacillus curvatus* produziram maiores quantidades de ácido láctico em meio suplementado com extrato de levedura. O efeito da suplementação também foi observado por Oliveira et al. (2009) para cultura de *Lactobacillus casei* cultivada em meio à base de melaço suplementado com 2% de EL, comparando-se com o meio não suplementado e com aqueles de menores doses de extrato de levedura. Quando o meio foi composto por caldo de cana-de-açúcar, a suplementação com extrato de levedura também foi efetiva no aumento da produção de ácido láctico por cultura de *Lactobacillus plantarum* (Oliveira et al., 2013).

A Figura 5 apresenta a concentração de ácido láctico produzido quando utilizado cada um dos três resíduos agroindustriais como suplemento. Todos tratamentos apresentaram aumento na produção de ácido láctico em relação ao controle. Entretanto, é possível observar que o extrato de levedura apresentou a maior concentração de ácido láctico ($p < 0,05$), 0,0307 mol.L⁻¹, quando comparado aos demais suplementos. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos que utilizaram vinhaça e AMM como fonte de nitrogênio ($p > 0,05$).

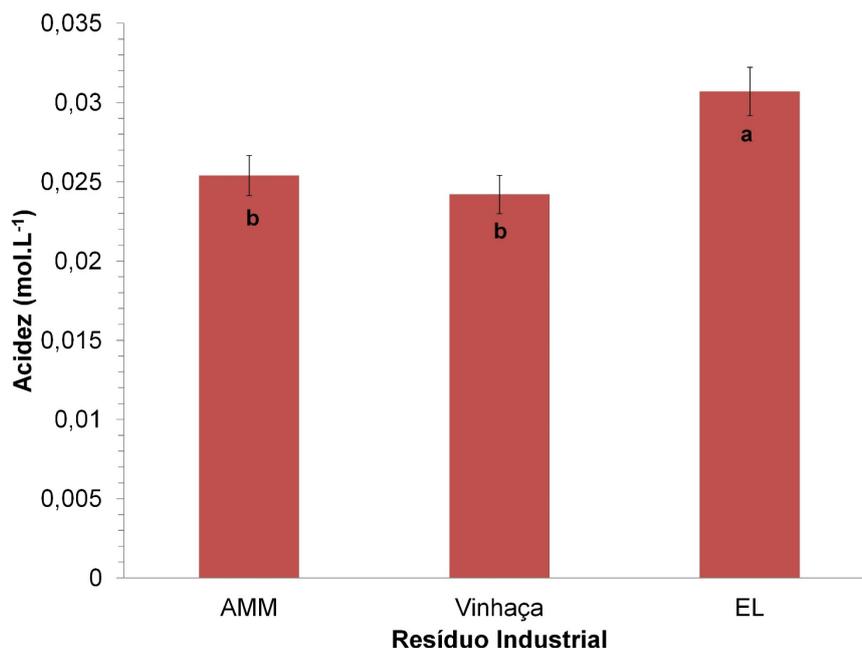


Figura 5. Teor de ácido láctico produzido em 6 h de fermentação de soro de leite suplementado com água de maceração de milho, vinhaça ou extrato de levedura, por cultura mista de bactérias lácticas (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 e *Streptococcus thermophilus*), imobilizadas em esferas de alginato de cálcio (pH inicial 7,0 e temperatura 40 °C). Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Roy et al. (1986) observaram que *Lactobacillus helveticus* cultivados em meio à base de soro de queijo produziram mais ácido láctico em meio suplementado com extrato de levedura em relação ao meio suplementado com AMM. Isso provavelmente ocorre por ser o extrato de levedura uma excelente fonte de vitaminas do complexo B, sendo frequentemente usado para fornecer esses fatores em meios de cultura bacteriológicos. É também considerado indispensável para obtenção de rápidas taxas de crescimento somado à produção de ácido láctico por bactérias lácticas (Selmer-Olsen & Sorhaug, 1998).

4 Conclusão

No final da fermentação, ao avaliar o efeito da temperatura e do pH inicial, observou-se que a temperatura de 40 °C e o pH inicial de 7,0 apresentaram um teor de ácido láctico 10% superior em relação aos demais tratamentos, indicando que estes valores são os mais indicados para a otimização do processo fermentativo.

Todos os resíduos foram efetivos em aumentar a taxa de produção de ácido láctico quando suplementados no soro de leite. Entretanto, não se observou diferença significativa entre os níveis de suplementação para cada resíduo. O extrato de levedura demonstrou melhores resultados com um teor de ácido láctico 20% superior ao da água de maceração de milho e vinhaça.

Referências

- Abdel-Rahman, A. M., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. (2013). Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnology Advances*, 31(6), 877-902. PMID:23624242. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.04.002>
- Bai, Z., Gao, Z., Sun, J., Wu, B., & He, B. (2016). D-Lactic acid production by *Sporolactobacillus inulinus* YBS1-5 with simultaneous utilization of cottonseed meal and corn cob residue. *Bioresource Technology*, 207, 346-352. PMID:26897413. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.007>
- Bernardo, M. P., Coelho, L. F., Sass, D. C., & Contiero, J. (2016). L-(+)-Lactic acid production by *Lactobacillus rhamnosus* B103 from dairy industry waste. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(3), 640-646. PMID:27266630. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2015.12.001>

- Bonk, F., Bastidas-Oyanedel, J.-R., Yousef, A. F., & Schmidt, J. E. (2017). Exploring the selective lactic acid production from food waste in uncontrolled pH mixed culture fermentations using different reactor configurations. *Bioresource Technology*, 238, 416-424. PMID:28458175. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.057>
- Champagne, C. P., Gaudreau, H., & Conway, J. (2003). Effect of the production or use of mixtures of bakers' or brewers' yeast extracts on their ability to promote growth of lactobacilli and pediococci. *Electronic Journal of Biotechnology*, 6(3), 185-197. <http://dx.doi.org/10.2225/vol6-issue3-fulltext-3>
- Champagne, C. P., Gaudreau, H., Conway, J., Chartier, N., & Fonchy, E. (1999). Evaluation of yeast extracts as growth media supplements for lactococci and lactobacilli by using automated spectrophotometry. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 45(1), 17-21. PMID:12501397. <http://dx.doi.org/10.2323/jgam.45.17>
- Ding, S., & Tan, T. (2006). L-lactic acid production by *Lactobacillus casei* fermentation using different fed-batch strategies. *Process Biochemistry*, 41(6), 1451-1454. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2006.01.014>
- Dowd, M. K., Johansen, S. L., Cantarella, L., & Reilly, P. J. (1994). Low molecular weight organic composition of ethanol stillage from sugarcane molasses, citrus waste, and sweet whey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(2), 283-288. <http://dx.doi.org/10.1021/jf00038a011>
- Haully, M. C. O., Oliveira, A. R., & Oliveira, A. S. (2003). Produção de ácido láctico por *Lactobacillus curvatus* em melão de cana-de-açúcar. *Semina: Ciências Agrárias*, 24(1), 133-142. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2003v24n1p133>
- Hofvendahl, K., & Hahn-Hagerdal, B. (1997). L-lactic acid production from whole wheat flour hydrolysate using strains of *Lactobacilli* and *Lactococci*. *Enzyme and Microbial Technology*, 20(4), 301-307. [http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229\(97\)83489-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229(97)83489-8)
- Hofvendahl, K., & Hahn-Hagerdal, B. (2000). Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme and Microbial Technology*, 26(2-4), 87-107. PMID:10689064. [http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229\(99\)00155-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229(99)00155-6)
- Lima, C. J. B., Coelho, L. F., Blanco, K. C., & Contiero, J. (2009). Response surface optimization of D (-)-lactic acid production by *Lactobacillus* SMI8 using corn steep liquor and yeast autolysate as an alternative nitrogen source. *African Journal of Biotechnology*, 8(21), 5842-5846. <http://dx.doi.org/10.5897/AJB09.627>
- Lopes-Filho, J. F., Ramos, A. P., & Romero, J. T. (2006). Water, sulfur dioxide and lactic acid diffusivities in corn grains during steeping for wet milling. *Brazilian Journal of Food Technology*, 9(4), 257-263.
- Martinez, F. A. C., Balcianas, E. M., Salgado, J. M., González, J. M. D., Conveti, A., & Oliveira, R. P. S. (2013). Lactic acid properties, applications and production: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 30(1), 70-83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2012.11.007>
- Mirdamadi, S., Atashgahi, S., Rajabi, A., Aziz-Mohseni, F., Roayaei, M., & Hamed, J. (2008). Cell entrapment of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC 39392 for lactic acid production. *Iranian Journal of Biotechnology*, 6(1), 16-21.
- Mozzi, F., Raya, R. R., & Vignolo, G. M. (2015). *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications* (392 p). Iowa: Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118868386>
- Oliveira, D. F. D., Tonial, I. B., & Bravo, C. E. C. (2013). Produção de ácido láctico e viabilidade celular de *Lactobacillus plantarum* inoculado em caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) suplementado. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 4(4), 67-71. <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232013000400008>
- Oliveira, R. F., Soudaleff, M., Lima, M. V. S., & Lima, H. O. S. (2009). Produção fermentativa de ácido láctico a partir do melão da cana-de-açúcar por *Lactobacillus casei*. *Brazilian Journal of Food Technology*, 2, 1-7. Edição Especial.
- Panesar, P. S., Kennedy, J. F., Gandhi, D. N., & Bunko, K. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*, 105(1), 1-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.035>
- R Core Team. (2016). *R: a language and environment for statistical computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Recuperado em 7 de maio de 2018, de <http://www.R-project.org/>
- Roy, D., Goulet, J., & Leduy, A. (1986). Batch fermentation of whey ultrafiltrate by *Lactobacillus helveticus* for lactic acid production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 24(3), 206-213. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00261538>
- Selmer-Olsen, E., & Sorhaug, T. (1998). Comparative studies of the growth in whey supplemented with autolysate from brewery yeast biomass or commercial yeast of *Lactobacillus plantarum* extract. *Milchwissenschaft. Milk Science International*, 53(7), 367-370.
- Silva, J. L., Beluomini, M. A., Sedonho, G. C., & Stradiotto, N. R. (2017). Determination of amino acids in sugarcane vinasse by ion chromatographic using nickel nanoparticles on reduced graphene oxide modified electrode. *Microchemical Journal*, 134, 374-382. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2017.07.007>
- Soska, J. (1966). Growth of *Lactobacillus acidophilus* in the absence of folic acid. *Journal of Bacteriology*, 91(5), 1840-1847. PMID:4957024.
- Tosungnoen, S., Chookietwattana, K., & Dararat, S. (2014). Lactic acid production from repeated-batch and simultaneous saccharification and fermentation of cassava starch wastewater by amyolytic *Lactobacillus plantarum* MSUL 702. *APCBEE Procedia*, 8, 204-209. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apcb.2014.03.028>
- Vijayakumar, J., Aravindan, R., & Viruthagiri, T. (2008). Recent trends in the production, purification and application of lactic acid. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 22(2), 245-264.
- Wee, Y. J., Kim, J. N., & Ryu, H. W. (2006). Biotechnological production of lactic acid and its recent applications. *Food Technology and Biotechnology*, 44(2), 163-172.

Zali, A., Eftekhari, M., Fatehi, F., & Ganjkhanlou, M. (2017). Effect of vinasse (condensed molasses solubles) on performance and meat chemical composition of Holstein male calves. *Italian Journal of Animal Science*, 16(3), 515-520. <http://dx.doi.org/10.1080/1828051X.2017.1298407>

Zenebon, O., Pasquet, N. S., & Tiglia, P. (2008). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos* (1020 p.). São Paulo: Instituto Adolfo Lutz.

Zheng, J., Gao, M., Wang, Q., Wang, J., Sun, X., Chang, Q., & Tashiro, Y. (2017). Enhancement of L-lactic acid production via synergism in open co-fermentation of *Sophora flavescens* residues and food waste. *Bioresource Technology*, 225, 159-164. PMID:27888733. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.055>

Financiamento: Nenhum.

Received: May 07, 2018; Accepted: Oct. 24, 2018