

## V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

### Determinação Dos Parâmetros Fermentativos De Leveduras Industriais

**Marcelo Augusto de Souza Costa<sup>1</sup>, Neliane Soares de Barros<sup>1</sup>, Maria do Socorro Mascarenhas Santos<sup>1</sup>, Margareth Batistote<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul– Curso de Tecnologia em Produção Sucroalcooleira  
CEP 79730-000- Glória de Dourados -MS - E-mail: nellyvitoria@hotmail.com

<sup>2</sup> Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Centro de Pesquisa em Biodiversidade, CEP 79804-970 - Caixa-postal: 351 Dourados, MS

#### RESUMO

*A fermentação alcoólica é o fenômeno no qual os açúcares são transformados em álcool e gás carbônico, principalmente por ação das leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, que são os agentes principais no processo para produção do etanol. O estudo tem como objetivo analisar os parâmetros fermentativos de biomassa, viabilidade celular e pH de linhagens de leveduras industriais cultivadas em caldo de cana. O pré-inóculo utilizado foi o meio de cultivo (YPSAC 5%), esterilizados em autoclave a 120°C por 20 minutos. As linhagens foram incubadas a 30°C por 24 horas. Após o crescimento as leveduras foram centrifugadas e lavadas, para a obtenção da biomassa. Os ensaios fermentativos foram realizados em caldo de cana, incubados na temperatura de 30°C. Os dados mostram que a linhagem Fleischmann obteve a melhor produção de biomassa, e a melhor taxa de viabilidade celular foi da linhagem Barra Grande, e queda de pH para ambas as linhagens.*

**Palavras-chave:** *microorganismos, etanol, processo fermentativo*

#### INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar e o melaço são matérias-primas para a produção de açúcar e álcool. No Brasil, são mais de 300 usinas de açúcar e álcool que processam quase 400 milhões de toneladas de cana por ano. Cada tonelada de cana produz em média, 140 kg de bagaço, dos quais 90% são usados para produzir energia térmica e elétrica. O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e seus derivados, com cerca de 30% do total colhido em todo o mundo, seguido por países como Índia, China, Tailândia e México (MAPA, 2007; UDOP, 2013). A expectativa do setor sucroenergético é de até 2020 dobrar a produção, de 555 milhões de toneladas de cana para 1,2 bilhão de toneladas. Com a recente abertura do mercado americano para o biocombustível nacional, os números pressupõem o aumento das exportações de 1,5 bilhões para 13,5 bilhões de litros de etanol para os Estados Unidos (UNICA, 2011). A produção de etanol no Brasil utiliza como matéria-prima a cana-de-açúcar, uma gramínea tropical que acumula sacarose, a qual pode ser convertida sem pré-tratamento enzimático em etanol pela ação de levedura *Saccharomyces cerevisiae* durante o processo fermentativo (GOLDEMBERG, 2007; ROBERTSON et al., 2008). A fermentação é um dos processos bioquímicos, que ocorre no citoplasma da levedura, este mecanismo ocorre pela ação de inúmeras enzimas durante a fase da oxidação anaeróbica, transformando o açúcar em álcool, anidrido carbônico e outros

produtos secundários (OLIVEIRA, 2008). Diante do potencial fermentativo das leveduras industriais o estudo visa analisar os parâmetros fermentativos de biomassa, viabilidade celular e pH de linhagens de leveduras industriais cultivadas em caldo de cana.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Para o pré-inóculo foi utilizado o meio de cultivo (YPSAC 5%) contendo 1,0% (m/v) de extrato de levedo, 1,0% (m/v) de peptona e 5,0% (m/v) sacarose com pH ajustado em 5,0 e esterilizados em autoclave, a 120°C por 20 minutos, uma colônia das linhagens Fleischmann (Fle), Barra Grande (BG), foram incubadas a 30°C por 24 horas, após este período as células foram centrifugadas e lavadas em solução salina (0,85%), por duas vezes consecutivas, para a obtenção da biomassa. Os ensaios fermentativos foram realizados em caldo de cana na concentração de 15° Brix em erlenmeyers de 125 mL, contendo 25 mL, do caldo, esterilizados à 120°C por 20 minutos, os frascos foram incubados em estufa na temperatura de 30°C, e em determinados tempos de fermentação (2, 4, 6, 8 horas) alíquotas foram retiradas para análise dos parâmetros fermentativos tais como: biomassa que foi analisada por espectrofotômetro a 570 nm e a viabilidade celular por contagem em câmara de Neubauer e a análise do pH foi realizado utilizando tiras de pH.

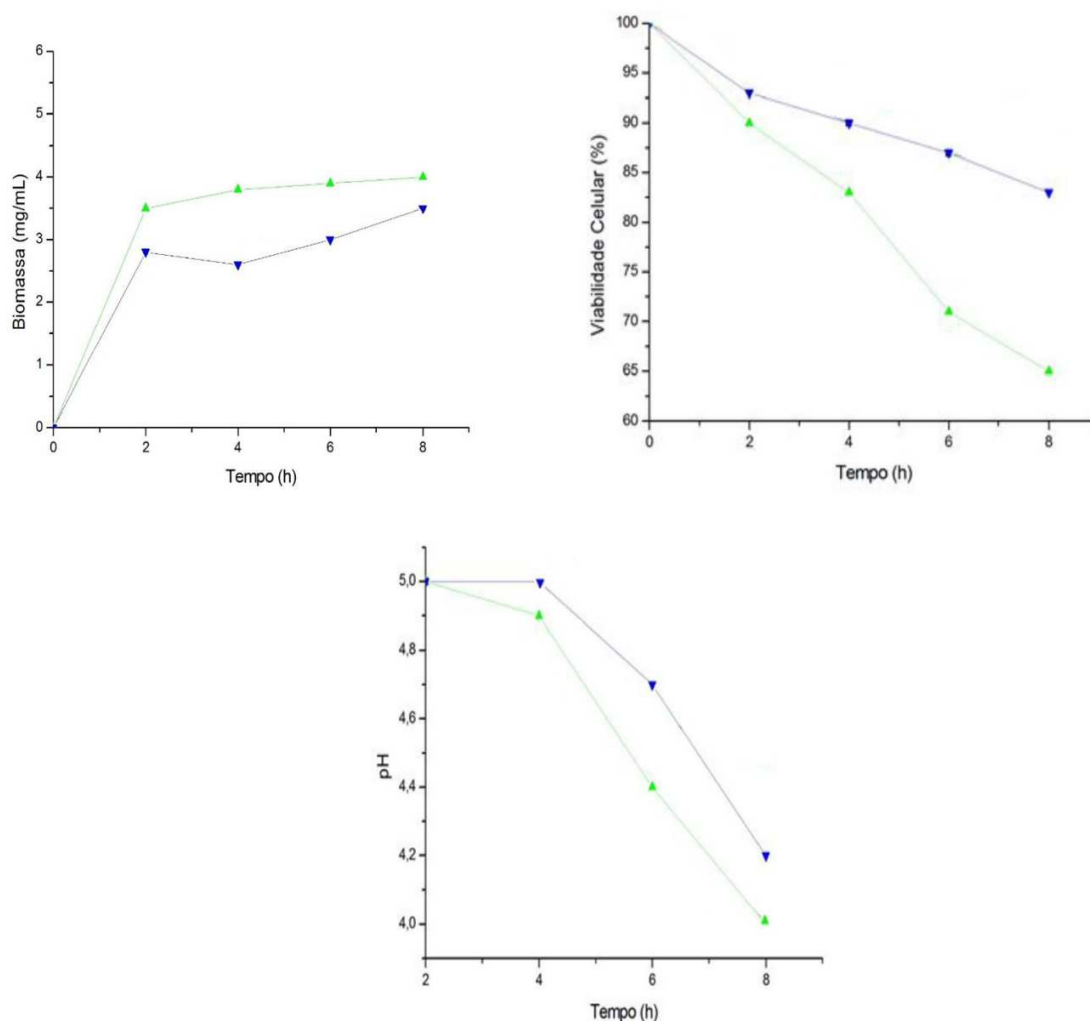
### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As linhagens de leveduras industriais estudadas apresentaram diferenças na cinética dos parâmetros analisados. A levedura Fleischmann foi a que apresentou melhor produção de biomassa de 4,0 mg/mL, contra 3,5 mg/mL da linhagem Barra Grande. Na avaliação da taxa de viabilidade celular a linhagem Barra Grande mostrou uma maior taxa de viabilidade, de 94%, frente a uma taxa de viabilidade de 90% da levedura Fleischmann, das linhagens de leveduras estudadas mostrou uma queda de pH inicial de 5,0 para 4,0 de ambas as amostras durante o período fermentativo, como apresentada a figura 1.

Tensões severas durante as fermentações tais como alto teor alcoólico, elevadas pressão osmótica do substrato e forte inibição do etanol durante a fase de produção, podem causar a perda da viabilidade celular e aumentando o tempo de fermentação (LI et al., 2009). A taxa de viabilidade celular pode ser influenciada em relação a concentrações de etanol relativamente baixa sendo um inibidor do crescimento de leveduras, por inibir a divisão celular e diminuindo a produção de biomassa. No entanto, em altas concentrações de etanol ocorre a perda da viabilidade celular e conseqüentemente a morte celular (STANLEY et al., 2010).

O pH ideal para a produção de etanol, a partir de leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisiae*, deve apresentar valor em torno de 4,5. O pH é um fator importante para as fermentações industriais devido à sua ação no controle da contaminação bacteriana quanto ao seu efeito sobre o crescimento da levedura, taxa de fermentação e formação de subprodutos, as fermentações se desenvolvem numa ampla faixa de valores de pH, sendo a adequada entre 4 e 5, aumentando-se o pH até 7 observa-se via de regra uma diminuição do rendimento em álcool, com aumento da produção de ácido acético (SOUZA, 2009).

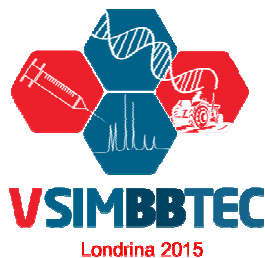
A sobrevivência de qualquer organismo requer a capacidade de adaptações às alterações ambientais. Na natureza ocorre uma grande diversidade de cepas de leveduras as quais mesmo sendo de mesma espécie podem apresentar diferenças entre si quanto ao seu genótipo e fenótipo, de forma a se adaptar ao seu habitat e nicho ecológico (CECCATO-ANTONINI, 2010).



**Figura 1** – Análise dos parâmetros fermentativos produção de biomassa, viabilidade celular e pH de leveduras industriais —▲— Fleischmann —▼— Barra Grande . Cultivadas na temperatura de 30°C, por 8 horas de fermentação.

### CONCLUSÕES

Nas condições fermentativas analisadas as linhagens de leveduras apresentaram uma boa performance fermentativa. A levedura que apresentou melhor desempenho nos parâmetros



## V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

fermentativos analisados foi a linhagem Barra Grande, mostrando se a mais indicada para a obtenção de etanol combustível.

### REFERÊNCIAS

- CECCATOANTONINI, S.R. **Microbiologia da fermentação alcoólica**. A importância do monitoramento microbiológico em destilarias. São Carlos: EduFSCar, 105 p. 2010.
- GOLDEMBERG, J. Ethanol for a sustainable energy future. **Science**, v.315, p.808-810, 2007.
- LI, F.; ZHAO, X.Q.; GE, X.M.; BAI, F.W. Na innovative consecutive batch fermentation process for very-high gravity ethanol fermentation with self flocculating yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Oxford, v. 84, p. 1079-1086, 2009.
- MAPA Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Balanco nacional de cana-de-açúcar e agroenergia. Secretaria de Produção e Agroenergia** – Brasília: MAPA/SPA, 2007. Disponível em: acesso em 12/12/2012.
- OLIVEIRA, R.H. A. Estudo dos processos de sacarificação, fermentação e destilação de cascas e pontas de mandioca no processo de obtenção de aguardente. In: XII Seminário de Iniciação Científica. Universidade Federal de Uberlândia. 2008.
- ROBERTSON GP, DALE VH., DOERING OC, HAMBURG SP, MELILLO JM., WANDER MM, PARTON WJ., ADLER PR, BARNEY JN., CRUSE RM. Agriculture. Sustainable biofuel redux. **Science**, v.322, p.49-50, 2008.
- SOUZA, C. S. Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de *S.cerevisiae*. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia (USP), Instituto Butantan (IPT), São Paulo, SP, Brasil, 2009.
- STANLEY, D.; BANDARA, A.; FRASER, S.; CHAMBERS, P.J.; STANLEY, G.A. the ethanol stress response and ethanol tolerance of *saccharomyces cerevisiae*. **Journal of applied microbiology**, oxford, v.20, p.13-24, 2010.
- UDOP - UNIÃO DOS PRODUTORES DE BIONERGIA. **Relação de usinas de Mato Grosso do Sul. 2013**. Disponível: <http://www.udop.com.br/index.php?item=perfil&op=apresentacoes> Acesso em 17 de novembro de 2012.
- UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA DE AÇÚCAR – Dados e Cotações – Estatísticas. ÚNICA – São Paulo, 2011. Disponível em < <http://www.unica.com.br/dadosCotacao/estatistica/> > acesso: julho/2011.