

## **Avaliação da Ação da Luz Ultravioleta na Linhagem de Levedura Industrial Ragi Instan Utilizada Produção de Etanol**

**Maria do Socorro Mascarenhas Santos<sup>1</sup>, Dauto Francisco Correia de Souza<sup>2</sup>, Neliane Soares de Barros<sup>1</sup>, Maria Emília da Silva<sup>3</sup>, Margareth Batistote<sup>4</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: socorro\_mascarenhas@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Curso de Química Industrial, CEP 79804-970 - Caixa-postal: 351 Dourados, MS

<sup>3</sup> Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Docente do Curso de Biologia, CEP 79804-970 - Caixa-postal: 351 Dourados, MS

<sup>4</sup> Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Docente do Curso de Tecnologia em Produção Sucroalcooleira, CEP 79730-000 – Glória de Dourados, MS

### **RESUMO**

*Os estudos acerca das linhagens de leveduras com tolerância a múltiplos estresses têm contribuído muito para a implantação de novas tecnologias para a fabricação do etanol, no entanto, este processo de produção não dispõe de um tratamento asséptico eficiente do mosto e a contaminação é um fator estressante. Diante do exposto, o estudo visa comparar o crescimento da linhagem de levedura industrial Ragi Instan cultivada em meio sólido de Agar Sabouraud sob a ação da luz branca e da luz ultravioleta. Foi realizada a diluição seriada de  $1 \times 10^{-1}$  a  $1 \times 10^{-4}$ , e as placas de Petri foram distribuídas em dois ambientes sob a ação luz branca e ultravioleta, a temperatura de 30°C por 50 horas. Os dados mostram que a linhagem de levedura sofreu ação da luz ultravioleta indicado pela quantificação de unidade formadores de colônias - UFC presentes nas placas.*

**Palavras-chave:** microrganismos, cultivo, morte celular.

### **INTRODUÇÃO**

A produção de etanol combustível em larga escala no Brasil trouxe a necessidade de um grande desenvolvimento tecnológico para o setor agroindustrial da cana. Ainda, para superar os baixos preços no mercado e os custos de produção, as indústrias sucroalcooleiras melhoraram seus processos de fermentação (AMORIM et al., 2011).

A produção do bioetanol brasileiro é derivada de tecnologias de primeira geração, onde uma simples fonte de açúcar, proveniente da extração da cana de açúcar, a sacarose, é fermentada por leveduras com o produto primário o etanol (BROW, et al., 2013). Assim novas tecnologias foram desenvolvidas e transferidas para a indústria, tais como: melhoria nos sistemas de moagem e destilação; ganhos de produtividade na fermentação; aumento da produtividade

agrícola; obtenção de maior eficiência de conversão; seleção de microrganismos mais resistentes ao reciclo; entre outras (GOLDEMBERG et al., 2008). A utilização da luz ultravioleta como possível agente esterilizante tem sido utilizada. Estudos realizados por Pigatto, (2008) relatam sobre a utilização da radiação ultravioleta como mecanismo de descontaminação e agente antimicrobiano na desinfecção de água, ar e superfície.

Os primeiros equipamentos comerciais de ultravioleta (UV) foram produzidos para as indústrias farmacêuticas e de aquicultura em razão de não utilizarem substâncias químicas para a descontaminação. Depois, surgiu o interesse para a utilização desses equipamentos nas indústrias de alimentos e bebidas. Diversas pesquisas têm sido desenvolvidas nessas áreas com o intuito de avaliar o efeito letal (a resposta microbiológica) de UV-C e as eventuais alterações nas características sensoriais dos produtos (LÓPEZ-MALO e PALOU, 2005).

Deste modo, o estudo visa avaliar a influência da ação da luz branca e ultravioleta no crescimento celular da linhagem de levedura industrial Ragi Instan, utilizada para o processo de fermentação na produção de bioetanol, em meio sólido.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Para a realização e identificação da contagem da unidade formadora de colônia-UFC, foi utilizado o meio sólido de Agar Sabouraud Dextrose esterilizado em autoclave a 120°C graus. Foi realizada a diluição seriada em solução salina (0,85%)  $1 \times 10^{-1}$  a  $1 \times 10^{-4}$ , e 1,0mL das amostras que foram colocadas em placas de Petri e espalhadas com o auxílio de uma alça de Drigalski. O experimento foi conduzido em triplicata, e distribuídos em dois ambientes sob a ação da luz branca (FOX LUX 15W) e luz ultravioleta (STAR LUX 15W), as amostras foram incubadas a uma temperatura de 30°C sob uma chapa de aquecedora por 50 horas. Após o período de cultivo as placas de Petri foram contadas e a média foi utilizada para representar o número total de Unidades Formadoras de Colônias -UFC. Para

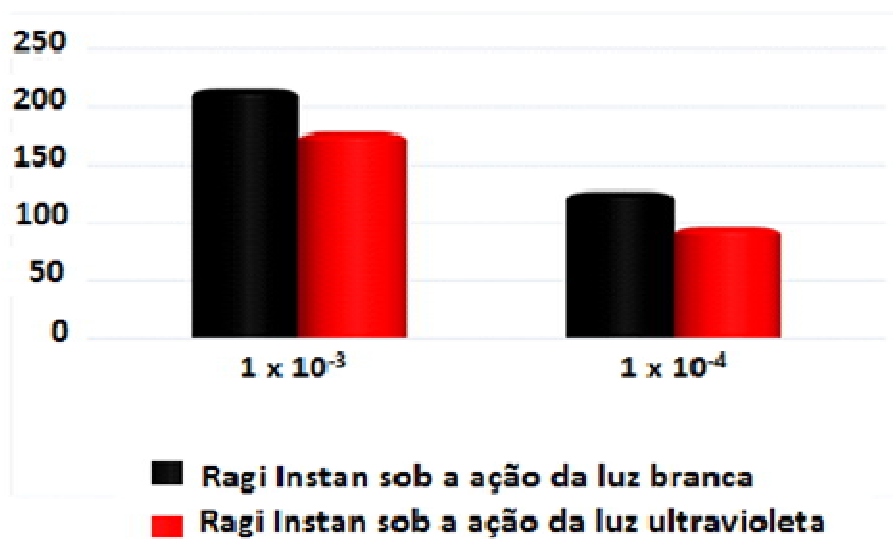
### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Na avaliação das unidades formadoras de colônias-UFC sob a ação e exposição da luz branca observou-se que está favorece a fase log de crescimento da levedura. Na luz UV as UFC se mostraram em número inferior, talvez isso tenha ocorrido pela característica da luz ultravioleta em inativar os microrganismos. Os dados mostram que a ação da luz UV inativa os contaminantes em relação as diluições analisadas, o método se mostrou eficaz neste estudo talvez pudesse uma alternativa como um agente esterilizante do mosto, mostra a figura 1.

Estudos realizados por Lobo e colaboradores (2009), usando uma lâmpada ultravioleta de 30W, analisou a inativação de células de *Saccharomyces cerevisiae* e *Escherichia coli* em água, variando a concentração de células e o tempo de exposição a luz UV, esses autores obtiveram as melhores condições para a inativação desses microrganismos, a qual foi obtido com uma concentração de células de 0,01 g/L, irradiadas por 60 segundos, o que causou 99,99 % de inativação celular. Estudos realizados por Pigatto (2008) mostraram que a ação da luz UV interfere na multiplicação de microrganismos.

Na análise de danos causados aos microrganismos e conseqüentemente a redução da taxa logarítmica obtida depende de vários fatores tais como: a resistência do microrganismo à ação da luz UV, das propriedades absorptivas no qual eles estão suspensos e a dose UV aplicada segundo Altic e colaboradores (2007). Estudos realizados pela ação da luz ultravioleta em

microrganismos, mostraram e os mesmos são inativados pela alteração do seu metabolismo e reprodução, ou seja, a injúria causada pela ação da luz UV ao sistema de reprodução das células levando à morte ( GUERRERO-BELTRÁN E BARBOSA-CÁNOVAS, 2004).



**Figura1:** Análise da unidade formadora de colônia/UFC sob a ação da luz branca e ultravioleta no cultivo de leveduras industriais em diferentes diluições.

### CONCLUSÕES

Na presença da luz branca as leveduras industriais tiveram seu crescimento inalterado, no entanto foi observada contaminação. Sob a ação da luz ultravioleta ocorreu a inativação do crescimento das colônias, porém não foi verificada contaminação nas condições analisadas demonstrando, assim, que este método de esterilização poderá vir a ser utilizado no processo de produção do bioetanol.

### REFERÊNCIAS

- ALTIC, L.C.; ROWE, M.T.; GRANT, I.R. UV Light Inactivation of *Mycobacteri uma vium* subsp. *paratuberculosis* in Milk as Assessed by *FASTPlaque* TB Phage Assay and Culture. **Applied Environmental Microbiology**, Belfast, v. 73, no. 11, 3728-3733. 2007.
- AMORIM, H., LOPES, M., DE CASTRO OLIVEIRA, J., BUCKERIDGE, M. e GOLDMAN, G. Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.91, n.5, p.1267-1275. 2011.



## V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

- BROW, N.A.; CASTRO, P.A.; FIGUEIREDO, B.C.P.; SAVOLDI, M.; BUCKERIDGE, M.S.; LOPES, M.L.; PAULLILO, S.C.L.; BORGES, E.P.; AMORIM, H.V.; GOLDMAN, M.H.S.; BONATTO, D.; MALAVAZI, I.; GOLDMAN, 64 G.H. Transcriptional profiling of Brazilian *Saccharomyces cerevisiae* strains selected for semi-continuous fermentation of sugarcane must. **FEMS Yeast Res.** v. 13. p. 277-90, 2013.
- GOLDEMBERG, J. The Brazilian biofuels industry. **Biotechnol Biofuels.** v. 1. p. 6-15, 2008.
- GUERRERO-BELTRÁN, J.A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Review: advantages and limitations on processing foods by UV light. **Food Science and Technology International**, v. 3, p.137-147, 2004.
- LOBO, M. G. ; COSTA, B. P. da ; WISBECK, E. Avaliação da desinfecção de água por reator utilizando radiação ultravioleta. **Revista de Ciências ambientais**, v.3, p.1981-8858, 2009.
- LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E. Ultraviolet light and food preservation. In: BARBOSA-CÁNOVAS, G; TAPIA, M.S.; CANO, M.P. Novel food processing technologies. **New York: CRC**, 2005. Chap. 18.
- MORAIS, E. B.; OFUGI, P. M.; Contagem de microrganismos através das técnicas spread-plate e pour-plate. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAA2WIAI/contagem-microorganismos-atraves-dastecnicas-spread-plate-pour-plate>>. Acesso em: 02 de março 2015.
- PIGATTO, G. Irradiação UV em *Xantomonas campestris* PV. *Campestris* visando a produção da goma xantana. **Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista**, 2008.