

Avaliação da Capacidade Fermentativa, Biomassa e Viabilidade Celular de Isolados de Leveduras Selvagens

**Tayllan Insfran Gonçalves¹, Marcelo Augusto de Souza Costa¹, Cláudia A. L. Cardoso²,
José Roberto Hernandez³ e Margareth Batistote¹.**

¹ Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – Curso de Tecnologia em Produção Sucrialcooleira
CEP 79730-000- Glória de Dourados -MS - E-mail: tayllan_insfran@hotmail.com² Universidade Estadual de
Mato Grosso do Sul – Curso de Ciências Biológicas
Caixa Postal 351 CEP 79804-970 Dourados – MS

³ Universidade Estadual Paulista- Departamento de Bioquímica
Caixa Postal 174 CEP 14800-901- Araraquara- SP

RESUMO

A obtenção de um processo mais eficiente de produção de etanol esta diretamente relacionada à capacidade fermentativa das leveduras durante o processo de fermentação, bem como formas de se minimizar os efeitos causados às leveduras devido às condições drásticas as quais são submetidas durante a fermentação. Portanto são necessárias as buscas por novos isolados que sejam capazes de fermentar nas mesmas condições e características das linhagens industriais utilizadas atualmente no processo de produção de etanol no Brasil e no Estado. Na avaliação da capacidade fermentativa os isolados selvagens de leveduras crescidas em mosto a base de caldo, os isolados selvagens apresentaram diferenças no perfil fermentativo, sendo que 6 isolados ETH-6, ETH-7, ETH-8, ETH-9, ETH-10 e ETH12 apresentaram capacidade fermentativa, e os demais isolados não fermentaram.

Palavras-chave: fermentação, caldo de cana, micro-organismos.

INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas e a elevação nos custos do petróleo aliadas às necessidades estratégicas de produção de energia têm motivado uma corrida sem precedentes à produção de combustíveis alternativos, preferencialmente de fontes renováveis. Neste cenário, o Brasil desponta como o país com as tecnologias e políticas mais avançadas do mundo devido à pioneira utilização do etanol obtido a partir da cana-de-açúcar como combustível, desde a década de 1970¹. O processo de produção do etanol no Brasil utiliza a sacarose proveniente da cana-de-açúcar, na forma de caldo de cana, como substrato para fermentação. A fermentação é uma transformação bioquímica provocada na matéria prima por um micro-organismo. Durante muitos anos as destilarias brasileiras iniciaram a safra com leveduras do gênero *Saccharomyces*, predominantemente a espécie *Saccharomyces cerevisiae* e suas diversas linhagens comerciais e isoladas em laboratório. A seleção da levedura adequada para cada tipo de fermentação é uma estratégia importante para garantir uma boa fermentação, assim como para melhorar as características finais do produto. Durante os processos de fermentação industrial, as leveduras passam por diversas formas de stress². O ambiente de fermentação é complexo, principalmente em processos que utilizam o caldo de cana-de-açúcar como matéria-prima. Nesse sistema, ocorre uma sucessão intensiva de linhagens de *S. cerevisiae* no mosto de fermentação. No



processo fermentativo, quando o fermento original é substituído por linhagens selvagens, as cepas selvagens podem se tornar mais adaptadas ao processo fermentativo. Em alguns casos, o fermento original é completamente substituído por linhagens selvagens de *S. cerevisiae*³. Portanto a busca de novas espécies de leveduras mais adaptadas aos processos fermentativos é de suma importância, uma vez que estes micro-organismos são os agentes transformadores responsáveis pelas moléculas de etanol um importante produto biotecnológico. O presente projeto visa avaliar os isolados de leveduras selvagens de aspecto rugoso, e sua capacidade fermentativa buscando aquela mais adaptada ao processo, produzindo um melhor rendimento alcoólico, para que o setor sucroenergético possa atingir seu potencial máximo. Avaliar a produção de biomassa e a viabilidade celular visando comparar a sua capacidade fermentativa, buscando formar um banco de dados de leveduras regional.

MATERIAL E MÉTODOS

Na avaliação da capacidade fermentativa foi utilizado mosto na concentração de 12° Brix e adicionado com o auxílio de uma pipeta 10,0 mL em tubos de ensaio contendo tubos de Durham invertidos. O conjunto foi esterilizado em autoclave a 120°C por 20 minutos. Com auxílio de uma alça de platina 4 colônias de leveduras foram inoculadas. Os tubos testes foram colocados em estufa a 30°C durante 24 horas e observado o crescimento das leveduras através formação de gás, retido no tubo de Durham. A determinação da viabilidade celular foi periodicamente acompanhada através da em contagem em câmara de Neubauer utilizando o corante azul de metileno e a biomassa foi determinada por espectrofotometria.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação da capacidade fermentativa os isolados selvagens de leveduras crescidas em mosto a base de caldo, os isolados selvagens apresentaram diferenças no perfil fermentativo, sendo que 6 isolados ETH-6, ETH-7, ETH-8, ETH-9, ETH-10 e ETH12 apresentaram capacidade fermentativa, e os demais isolados não fermentaram. A tabela 1 mostra a capacidade fermentativa de isolados de leveduras selvagens.

Tabela 1. Avaliação da Capacidade Fermentativa dos isolados selvagens.

Isolado	Fermenta	Não Fermenta
ETH-1		-
ETH-2		-
ETH-3		-
ETH-4		-
ETH-5		-
ETH-6	+	
ETH-7	+	
ETH-8	+	
ETH-9	+	
ETH-10	+	
ETH-11		-
ETH-12	+	

Na avaliação da produção biomassa o isolado que teve menor produção foi o isolado ETH-1 apresentou 1,6 mg/mL, e o isolado ETH-3 obteve a maior produção de biomassa 3,6 mg/mL, os



isolados ETH-10 e ETH-11 obteve a mesma produção de biomassa. A menor taxa de viabilidade celular foi de 20% no isolado EHT-2, e o que apresentou maior viabilidade foi o isolado ETH-10 83%. A tabela 2 apresenta os parâmetros fermentativos.

Tabela 2. Avaliação da biomassa e viabilidade de isolados de leveduras selvagens em mosto a base cana.

Usina	Amostra	Biomassa (mg /mL)	Viabilidade (%)
A	ETH-1	1,6	63,0
B	ETH-2	1,7	20,0
A	ETH-3	3,6	78,0
B	ETH-4	3,4	80,0
A	ETH-5	2,2	70,0
B	ETH-6	2,2	34,0
A	ETH-7	2,7	56,0
B	ETH-8	2,2	73,0
A	ETH-9	2,4	77,0
B	ETH-10	3,0	83,0
A	ETH-11	2,9	71,0
B	ETH-12	2,5	72,0

CONCLUSÕES

Na avaliação da capacidade fermentativa 50% dos isolados de leveduras selvagens fermentaram o mosto a base de caldo de cana e 50% não fermentaram. Na avaliação dos parâmetros fermentativos analisados os isolados selvagens mostram uma baixa produção de biomassa e taxa de viabilidade celular alta para a maioria dos isolados.

REFERÊNCIAS

(1) BUCKERIDGE, M. S. 2008. Rotas para o etanol celulósico em um cenário de mudanças climáticas. **Opiniões**, Ribeirão Preto, p. 62, 01 julho de 2008. Disponível em: <http://sistemas3.usp.br/tycho/CurriculoLattesMostrar?codpub=57A21E19F3E5>, último acesso em 05/05/2011.



III SIMBBTEC
Londrina 2013

Anais do III Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia
Trabalho Completo apresentado na seção: PÔSTER

(2) BROSNAM, M. P., DONNELLY, D., JAMES, T.C., BOUD, U. The estress response is repressed during fermentation in brewery strains of yeast. **Journal of Appied Microbiology**, v.88, p.746-755, 2000.

(3) SILVA-FILHO, E.A., SANTOS, S.K.B., RESENDE, A.M., MORAIS. J.O.F., MORAIS. Jr. M.A., SIMÕES, D.A. Yeast population dynamics on industrial fuel ethanol fermentation processes assessed by PCR fingerprinting. **Antonie Van Leewenhoek**, v.88, p.13-23, 2005.