

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE SUBSTRATO NA PROPAGAÇÃO DE LEVEDURA DO TIPO *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* DE USO INDUSTRIAL

Luzidelson Baracho Ribeiro¹; Sharline Florentino de Melo Santos², Edvânia da Silva Santana³ e Marcos Felício Vieira⁴

1 IFPB, luzidelson.ribeiro@ifpb.edu.br

2 UFPB, sharlinefm@hotmail.com

3 IFPB, silvaedvania400@gmail.com

3 IFPB, marcosfelicioviera@gmail.com

Introdução

Um dos grandes desafios do setor sucroalcooleiro reside na busca de maiores eficiências do processo fermentativo, ou seja, numa maior produção de etanol, em um menor intervalo de tempo e com uma máxima conversão de açúcares.

Nos processos de fermentação industriais, seja por batelada ou de forma contínua, o monitoramento da fermentação é realizado através de análises das concentrações de sólidos solúveis, por refratometria, que oferece um valor aproximado das quantidades de açúcares existentes no processo.

O álcool pode ser obtido industrialmente através de via biológica fermentativa (álcool de fermentação agrícola), da sintética (álcool de síntese) e, excepcionalmente da destilação de líquidos alcoólicos (álcool de recuperação). A via biológica é o método mais comum no Brasil, onde utiliza-se a cana-de-açúcar para obter os açúcares que são submetidos ao processo fermentativo, resultando como produto principal da atividade enzimática das leveduras, o álcool. Este álcool é o que se encontra em todas as bebidas alcoólicas, assim como no álcool combustível e na gasolina, como um aditivo. O etanol também é bastante empregado na indústria, seja na farmacêutica (na produção de perfumes, loções, antissépticos, etc.) ou como solvente químico.

O experimento realizado no Laboratório de Bioprocessos da UFPB teve por objetivo analisar a influência das concentrações iniciais de substrato (caldo de cana) na produção de levedura do tipo *Saccharomyces cerevisiae* (Fermol Millennium Destiler – SC 20)

Metodologia

Os experimentos foram separados nas seguintes etapas:

- 1-Preparo do meio de cultura (padronização das concentrações iniciais de substratos);
- 2-Inoculação de levedura;
- 3-Incubação;
- 4-Acompanhamento do processo de fermentação.

Preparo do Meio de Cultura (substrato)

O meio de cultura utilizado foi o caldo de cana comercial. Foram preparadas soluções em duplicata, nas concentrações aproximadas de substrato de 6, 8 e 10 °Brix e em seguida com 8, 10 e 12 °brix. Para as diluições, foi utilizado água destilada e esterilizada em autoclave por 15 min e a uma temperatura de 120 °C. As soluções preparadas foram transferidas para erlenmeyers de 1 litro, identificados por tipo de amostra.

Inoculação

Em cada erlenmeyer foi adicionado 2,0 g/L da levedura industrial Fermol Millennium Destiler (SC 20).

Incubação

Após a inoculação da levedura, as amostras foram transferidas para uma incubadora, onde foram submetidas a uma temperatura e agitação orbital constantes, de 32°C e 150 rpm. As amostras foram mantidas na incubadora durante todo o processo de fermentação.

Acompanhamento do Processo Fermentativo

Foram realizadas amostragens, em duplicata, a cada uma hora, das soluções contidas nos erlenmeyers, até completar 12 horas de processo. Das amostras coletadas, 2,0 mL foram transferidas para micro tubos, com auxílio de uma pipeta automática. Novas amostragens foram realizadas após 23 e 24 horas de fermentação, sendo 2,0 mL para micro tubos e 50 mL para tubos falcon.

As amostras contidas nos micro tubos foram submetidos à uma centrifugação, onde foi utilizado uma centrífuga do tipo eppendorf, a uma rotação de 10.000 rpm por um tempo de 5 minutos. Os tubos falcon foram submetidos à uma centrifugação, em centrífuga refrigerada, durante 10 minutos a uma rotação de 3.000 rpm. Os tubos foram previamente lavados, identificados e secados durante 24 horas, em estufa de secagem e esterilização. Após secagem, os tubos foram colocados em um dessecador por um período de 15 minutos e em seguida pesados.

O processo de centrifugação resultou em uma parte sedimentada (sólidos insolúveis e biomassa) e uma parte sobrenadante (líquido e sólidos solúveis).

Concentração de Substrato

Após a centrifugação, com auxílio de uma pipeta automática, foi retirado a parte sobrenadante contida nos micro tubos, para análise da concentração de sólidos solúveis, medida em graus brix. Para esta análise, foi utilizado um refratômetro de bancada.

Concentração de Células (Peso Seco)

Para determinação do peso seco, a parte sedimentada foi submetida a secagem, em uma estufa a 80°C. Após 24 horas de secagem, as amostras foram pesadas. A diferença entre as pesagens (tubo com sedimento – tubo vazio) equivale a quantidade de massa de leveduras obtidas ao longo do processo.

Amostras contidas nos micro tubos (massa seca)

Por diferença de massas, determinou-se o peso seco de células (%p/v). O valor da massa seca, em g/L, foi obtido dividindo a massa resultante dos processos de secagem, em gramas, por 0,002 L, pois foram utilizados 2 mL de amostra no processo de centrifugação.

Amostras contidas nos tubos falcon - (massa seca)

Para determinação da massa de leveduras obtidas ao longo do processo fermentativo, a parte sobrenadante foi retirada, com auxílio de uma pipeta automática e descartada, já a parte sedimentada, foi submetida a pesagem. A diferença entre as pesagens, tubo com sedimento – tubo vazio, equivale a quantidade de massa (leveduras) obtidas ao longo do processo. Para calcular a concentração de leveduras, em g/L, basta dividir os valores das massas pelo volume de amostra (0,05 litros).

pH

Foram realizadas leituras de pH no início e ao término do processo.

Floculação

Ao término do processo de fermentação, foram coletados 100 mL das amostras e deixadas em repouso durante 15 minutos em provetas, de acordo com a metodologia fermentec, para verificação de flocos formados.

Resultados e discussão

A amostra com 10° Brix foi a que apresentou melhor velocidade de consumo de substrato, menor variação de pH e maior concentração de células. Não foi verificado floculação nos experimentos em estudados.

Conclusões

A partir dos resultados obtidos, observamos que para um inóculo com concentração celular de 2g/L, a concentração de substrato de 10° Brix foi a que obteve melhor eficiência na propagação da levedura em estudo.

Palavras-Chave: cana de açúcar, levedura, fermentação e etanol.

Referências

- ARAÚJO, Frederico A. Dantas de, Processo de Clarificação do Caldo da Cana pelo Método da Bicarbonatação, Revista Ciência & Tecnologia, ano I, n. 1, julho-dezembro, 2007.
- CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA – CTC. Manual de Métodos Analíticos de Controle Químico da Fermentação. Piracicaba, 2005.
- CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA – CTC. Manual de Métodos de Microbiologia do Fermento. Piracicaba, 2007.
- CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA – CTC. Manual de Controle Químico da Fabricação de Açúcar. Piracicaba, 2005.
- FERNANDES, A. C. Cálculos na Agroindústria da Cana-de-Açúcar. Piracicaba: STAB, 2003. 240 p.
- HUGOT, E. Manual da Engenharia Açucareira, volume I, Ed. Mestre Jou, São Paulo, 1977.