

# AVALIAÇÃO DA FERMENTAÇÃO DE LEVEDURAS SELVAGENS VISANDO OBTENÇÃO DE LEVEDURA PERSONALIZADA

Maria da Conceição de Almeida Ribeiro<sup>1</sup>;  
Daniela Defavari do Nascimento<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aluna Fatec Piracicaba; e-mail: concyxavier@hotmail.com

<sup>2</sup>Professora Fatec Piracicaba; e-mail: daniela.nascimento01@fatec.sp.gov.br

**Área do conhecimento:** 2.12.02.02-8

**Palavras-chave:** fermentação; etanol; biotecnologia.

## INTRODUÇÃO

As leveduras apresentam grande importância sob vários aspectos. No tocante ao aspecto industrial, são agentes de fermentação alcoólica na produção do álcool industrial e bebidas alcoólicas, além de serem utilizadas na panificação. O uso do etanol combustível traz vantagens, especialmente por ser renovável e limpo. Segundo dados IEA (Agência Internacional de Energia), a utilização de etanol produzido através da cana-de-açúcar reduz em média 89% a emissão de gases responsáveis pelo efeito estufa se comparado com a gasolina (NOVACANA, 2020).

Diferentes fatores interferem na eficiência da fermentação alcoólica, tais como pH, temperatura, entre outros, sendo que constituem particularidades para cada usina. Diversos estudos apontam que o principal fator responsável pelas perdas na produção do etanol é a contaminação por leveduras selvagens (ou indígenas), que se desenvolvem nas dornas ao longo da safra, substituindo, parcial e progressivamente, as leveduras selecionadas inoculadas no início do processo. Todavia, apesar de muitas leveduras selvagens acarretarem perda de eficiência nos processos fermentativos do setor sucroalcooleiro, determinadas leveduras que se instalam de maneira indesejada podem acabar apresentando melhor adaptabilidade e resistência às condições particulares da usina. O isolamento e aperfeiçoamento de leveduras que sejam ideais aos processos tem ganhado cada vez mais espaço, consistindo estratégia importante para garantir fermentação completa, redução dos insumos, melhores rendimentos, e adaptação aos processos mais estressantes e rentáveis (BASSO et al., 2008; LOPES et al., 2015).

## OBJETIVOS

Este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de leveduras selvagens, isoladas em estudos anteriores, em comparação com levedura selecionada (CAT1) na fermentação alcoólica.

## METODOLOGIA

Meios de cultura de fermentação foram preparados a partir de caldo de cana, extraído no dia. A determinação do °Brix foi realizada em refratômetro de bancada com correção do °Brix=15 com diluição com água destilada.

Para avaliar a capacidade de fermentação, realizou-se transferência individual de 10 mL dos meios de cultura de fermentação (3 repetições) para tubos de ensaio tampados, contendo em seu interior tubos de Durham invertidos (AUGUSTO et al., 2018). Visando adicionar similar quantidade de levedura em cada tubo, realizou-se análise de densidade óptica em espectrofotômetro (DO600nm) (VIANA, 2017). A quantidade de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) retido no interior dos tubos de Durham foi mensurado, anotando a altura da camada gasosa formada, e ao atingir a capacidade máxima dos tubos ou quando conveniente, realizou-se o procedimento de retirada do gás formado. O procedimento de viabilidade celular empregado foi contagem em câmara de Neubauer. A concentração do teor de etanol foi determinada, seguindo protocolo proposto por Bortoleto e Gomes (2020), em cromatógrafo gasoso. Ao final da

fermentação, foi quantificado os açúcares redutores (AR) residuais pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), adaptado por Vasconcelos, Pinto e Aragão (2013).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

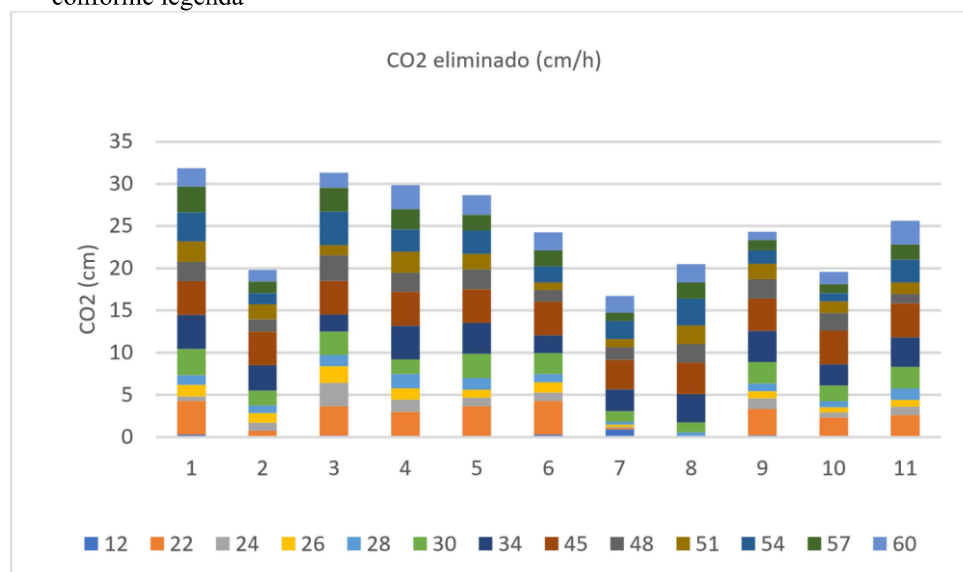
O processo foi conduzido na FATEC Piracicaba. A levedura selecionada (CAT-1, amostra 1), foi usada como controle para análise de outras 10 cepas (Tabela 1). O Gráfico 1 apresenta a taxa de eliminação de CO<sub>2</sub> ao longo do tempo. A levedura comercial (amostra 1), seguida de algumas indígenas liberaram mais gases. Em termos de consumo de açúcares e produção de etanol (Gráfico 2), a levedura 7, amostra que liberou menos CO<sub>2</sub>, também produziu menos etanol. Já a levedura 2, embora eliminado menos CO<sub>2</sub> que a maioria das amostras analisadas, produziu ~3,5% de etanol (Gráfico 2b). Amostras 2 e 7, deixaram bastante açúcar remanescente, 6,2g/100mL e 6,5g/100mL, respectivamente (Gráfico 2a), indicando que poderiam produzir mais etanol.

**Tabela 1** - Identificação das linhagens de leveduras analisadas neste projeto

| Identificação | Nome                   | Tipo                |
|---------------|------------------------|---------------------|
| 1             | cat1                   | Comercial           |
| 2             | Rosana 1               | Selvagem de frutas  |
| 3             | M.Alegre João Paulo 1  | Industrial indígena |
| 4             | M.Alegre agitada 1     | Industrial indígena |
| 5             | M.Alegre sobren. 1     | Industrial indígena |
| 6             | Indhira 14             | Cervejeira indígena |
| 7             | Amido Rodrigo          | Industrial indígena |
| 8             | Amora 1                | Selvagem de frutas  |
| 9             | Nadia/Arielen D4 10/10 | Industrial indígena |
| 10            | Nadia/Arielen B2 28/05 | Industrial indígena |
| 11            | Tadeu Modena 1         | Cervejeira Italiana |

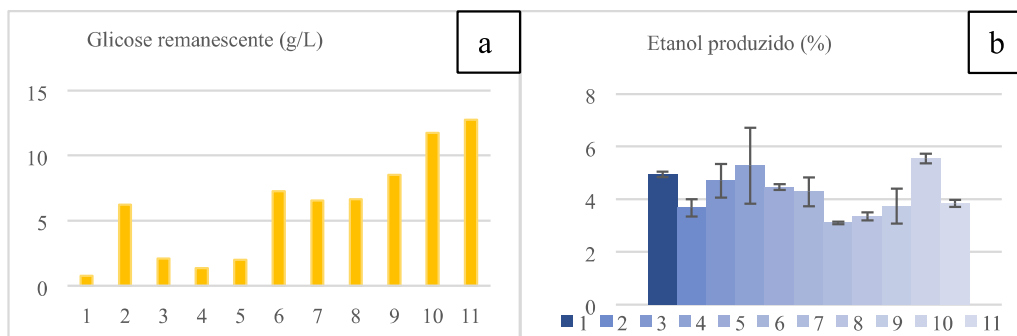
Fonte: Elaboração própria.

**Gráfico 1** – Eliminação de CO<sub>2</sub> ao longo do tempo, valores expressos como cm/hora, com medições até 60 horas, conforme legenda



Fonte: Elaboração própria.

**Gráfico 2a** – a) Teor de açúcares redutores remanescentes após processo fermentativo; b) Teor de etanol, determinado por cromatografia gasosa.



Fonte: Elaboração própria.

Leveduras 4 e 10 apresentaram maiores teores de etanol, superando levedura comercial Cat1 (Gráfico 2b). Ainda em comparação com a 1, amostras 4 e 10 liberaram menor quantidade de CO<sub>2</sub>, o que pode ser vantagem industrial, formando menos espuma na dorna, além de apresentar teor remanescente de açúcares redutores maiores, o que pode indicar possibilidade de produção de mais etanol. Outra linhagem que merece atenção, é a amostra 3, que produziu um pouco menos de etanol que a levedura selecionada, porém apresenta mais açúcares remanescentes (Gráfico 2a), indicando que pode ser uma questão de adaptação da levedura ao meio e que ela ainda poderá produzir mais etanol em outros experimentos. Com relação à viabilidade celular, todas as amostras deste experimento apresentaram resultados acima de 99% de viabilidade após período de fermentação.

## CONCLUSÃO

Amostras 3, 4 e 10 apresentaram eficiência de fermentação bastante parecida com a eficiência das leveduras selecionadas, tanto em termos de consumo de açúcares quanto em termos de produção de CO<sub>2</sub>, viabilidade celular e teor alcoólico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUGUSTO, M. et al. Teste de assimilação e fermentação de seis isolados utilizando a xilose. In: Encontro de Ensino, Pesquisa e Extensão, 5.; ENEPE UFGD, 12.; EPEX UEMS, 9., 2018, Dourados. Anais... Disponível em: <<http://eventos.ufgd.edu.br/>>. Acesso em: 10 nov. 2020.

BASSO L. C., AMORIM, H. V., DE OLIVEIRA, A. J., LOPES, M.L. Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil. FEMS Yeast Research, v. 8. 2008.

BORTOLETO, G. G.; GOMES, W. P. C. Determination of volatile organic compounds in craft beers by gas chromatography and headspace sampling. Research, Society and Development, v. 9, n. 9, p. e600997746, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i9.7746.

LOPES, M. L.; PAULILLO, S. C. DE L.; CHERUBIN, R. A.; GODOY, A.; NETO, H. B. DE A.; AMORIM, H. V. DE. Tailored yeast strains selected for ethanol production: the process driven selection (e-book). 1st. ed. Piracicaba: Fermentec Tecnologias em Açúcar e Alcool Ltda, 2015.

NOVACANA; Benefícios do etanol. <https://www.novacana.com/etanol/beneficios>. Acesso em 03 de setembro 2020.

VASCONCELOS, N. M.; PINTO, G. A. S.; ARAGÃO, F. A. S. Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3, 5-dinitrosalicílico: histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013.

VIANA, N. C., Caracterização morfológica e molecular de isolados de fermentação alcoólica. Dissertação (Mestrado) Microbiologia Agrícola. USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”: Piracicaba, 2017.

### **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos ao CNPQ pela disponibilização da bolsa PIBITI para realização deste trabalho, bem como à Fermentec e ao Engenho São Pedro pelo fornecimento de leveduras.