

## COMPARAÇÃO DA EFICIÊNCIA FERMENTATIVA NA PRODUÇÃO DE ETANOL POR LINHAGEM NATIVA E COMERCIAL DE *Saccharomyces cerevisiae*

## COMPARISON OF FERMENTATIVE EFFICIENCY IN ETHANOL PRODUCTION BY NATIVE AND COMMERCIAL LINEAGE OF *Saccharomyces cerevisiae*

SILVA, Débora Cristina Moraes Niz da <sup>1</sup>

BARBON, Fabiane de Faria <sup>2</sup>

BRONZATTO, Roberta Bassetto <sup>3</sup>

### RESUMO

O Brasil é destaque na produção de etanol, já que produz 20% do total gerado no mundo. A produção se faz pela fermentação do mosto que é constituído de caldo de cana, melaço ou ainda podendo ser misturado os dois. No processo de fermentação ocorre a transformação dos açúcares em etanol, utilizando-se a levedura mais adaptada para fermentação alcoólica, a *Saccharomyces cerevisiae*. É selecionada uma cepa de levedura para iniciar as fermentações industriais, durante a safras podem aparecer outras leveduras que acabam substituindo as leveduras selecionadas, que são chamadas de leveduras nativas ou contaminantes. Algumas unidades produtoras de etanol isolaram a levedura nativa do seu processo já que são consideradas boas fermentadoras, e utilizaram como inóculo para as próximas safras. O objetivo do trabalho foi realizar uma comparação entre uma linhagem de levedura nativa C1 584/2012 com uma comercial CAT-1 no processo de fermentação alcoólica. O trabalho foi desenvolvido na Usina Açúcareira São Manoel, localizada no município de São Manuel estado de São Paulo. Primeiramente foi realizada a seleção da levedura nativa através das análises de cariotipagem e testes fermentativos para avaliação da melhor cepa entre as que permaneceram no processo. Foi observado que a C1 584/2012 foi a que apresentou melhores resultados, sendo assim a safra 2015/2016 iniciou-se com ela e foi comparada através da eficiência fermentativa com a levedura CAT-1 a qual iniciou a safra 2014/2015. Considerando que mesmo contaminada por outras leveduras durante o período comparado, a C1 584/2012 obteve uma melhor eficiência fermentativa.

**Palavras-chaves:** Levedura; *Saccharomyces cerevisiae*; Fermentação.

### ABSTRACT

Brazil is a highlight in the production of ethanol, since it produces 20% of the total generated in the world. The production is made by the fermentation of the must, which consists of

<sup>1</sup> Coordenadora e docente do Curso Superior de Tecnologia em Gastronomia na FAIP. [deboracristina.niz@gmail.com](mailto:deboracristina.niz@gmail.com)

<sup>2</sup> Discente do Curso de Tecnologia em Alimentos. Faculdade de Tecnologia “Estudante Rafael Almeida Camarinha” – FATEC. [fabianebarbon@hotmail.com](mailto:fabianebarbon@hotmail.com)

<sup>3</sup> Discente do Curso de Tecnologia em Alimentos. Faculdade de Tecnologia “Estudante Rafael Almeida Camarinha” – FATEC. [ro.bronzatto@hotmail.com](mailto:ro.bronzatto@hotmail.com)

sugarcane juice, molasses or even the two can be mixed. In the fermentation process the sugars are transformed into ethanol, using the most adapted yeast for alcoholic fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*. A yeast strain is selected to initiate the industrial fermentations, during the harvests may appear other yeasts that end up replacing the selected yeasts, which are called native yeasts or contaminants. Some ethanol plants isolated the native yeast from their process as they are considered good fermenters, and used as inoculum for the next crops. The objective of the work was to compare a native yeast strain C1 584/2012 with a commercial CAT-1 in the alcoholic fermentation process. The work was developed at the Açucareira São Manoel Plant, located in the municipality of São Manuel state of São Paulo. First, the selection of native yeast was performed through karyotyping and fermentation tests to evaluate the best strain among those that remained in the process. It was observed that C1 584/2012 was the one that presented the best results, so the 2015/2016 harvest started with it and was compared through the fermentative efficiency with CAT-1 yeast, which started the 2014/2015 harvest. Considering that even contaminated by other yeasts during the comparative period, C1 584/2012 obtained a better fermentative efficiency.

**Keywords:** Yeast; *Saccharomyces cerevisiae*; Fermentation.

## INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo e conseqüentemente de açúcar, sendo responsável por 25% da produção mundial. O país também é destaque na produção de etanol, já que produz 20% do total gerado no mundo (UNICA, 2015).

É reconhecido e elogiado mundialmente pelo forte componente renovável de sua matriz energética. Atualmente mais de 47% de toda a energia utilizada no país vem de fontes renováveis, sendo a cana-de-açúcar é a matéria-prima para produção de etanol e bioeletricidade. Em relação a emissão de gases causadores do efeito estufa, o etanol brasileiro reduz as emissões em cerca de 90% comparado a gasolina (UNICA, 2015).

De acordo com Chieppe Júnior (2012) a produtividade média de geração de etanol por hectare de cana é de 7500 litros, enquanto que a mesma área de milho, principal matéria prima do álcool produzido por fermentação nos Estados Unidos, produz três mil litros do combustível.

A produção de álcool no Brasil se faz por fermentação de mosto, constituído por caldo de cana ou melaço, ou ainda por misturas destes dois componentes. No processo de fermentação ocorre a transformação dos açúcares em etanol, utilizando-se a levedura mais adaptada para fermentação alcoólica, a *Saccharomyces cerevisiae* (VIEIRA; FERNANDES, 2012). Na recuperação do vinho final, resultante da fermentação e após a destilação é obtido o etanol etílico hidratado carburante e etanol etílico anidro carburante, sendo o primeiro o etanol comum vendidos nos postos de combustível e o segundo refere-se ao etanol adicionado

na gasolina, onde a diferença entre os dois está relacionado a quantidade de água presente em cada um deles. O etanol hidratado sai diretamente das colunas de destilação, já o anidro, produzido a partir do hidratado passa por processo para retirada da maior parte de água presente (REVISTA RURAL,2005).

Alguns fatores afetam o rendimento da fermentação e a conversão de açúcar em etanol, como é o caso de fatores físicos (temperatura, pressão osmótica) (LIMA, BASSO e AMORIM, 2001), químicos (pH, oxigenação, nutrientes minerais e orgânicos, inibidores) (MAIA,1989) e microbiológicos (espécie, linhagem e concentração de leveduras, contaminação bacteriana) (CHERUBIN, 2003).

Uma cepa de levedura é selecionada para iniciar as fermentações industriais. Pode ocorrer de nos ciclos fermentativos surgirem outras leveduras que acabam substituindo as linhagens selecionadas, essas leveduras são chamadas de nativas ou contaminantes, que podem acabar dominando o processo devido a alguns fatores como, agressividade na competição por nutrientes, maior velocidade de multiplicação, pressão de seleção favorável e adaptação às condições do meio fermentativo. Mas isso pode acarretar uma redução no rendimento alcoólico, maior tempo de fermentação e produção de metabólitos indesejáveis (RAVANELLI, 2010).

Por outro lado, existem as leveduras personalizadas que são selecionadas entre as que aparecem na fermentação. Estas são isoladas e reintroduzidas na própria usina, pois estão adaptadas ao processo da unidade, por isso apresentam persistência, dominância e podem ter suas habilidades melhoradas para trabalhar de acordo com as particularidades da usina (JORNAL CANA, 2015).

As destilarias brasileiras, por não possuírem unidades de esterilização de mosto, são consideradas abertas do ponto de vista microbiológico. Elas trabalham com populações mistas, ou seja, várias linhagens de levedura presentes. Estas linhagens podem ser classificadas como sendo selecionadas, nativas ou selvagens (ANDRIETTA, 2007). Entendem-se linhagens selecionadas como aquelas adquiridas no próprio ambiente fermentativo, as quais foram isoladas e têm sido comercializadas para serem utilizadas como inóculo nas partidas das plantas industriais (ANDRIETTA et al, 2011). As nativas são aquelas encontradas no processo, que apresentam características fermentativas satisfatórias, mas são diferentes em relação às selecionadas. As linhagens selvagens são aquelas presentes nos processos que apresentam características fermentativas não adequadas aos processos

industriais e normalmente não são *Saccharomyces*, sendo consideradas oportunistas, dominando o processo somente em condições anormais (ANDRIETTA, 2007).

Algumas linhagens de *Saccharomyces* que estão sendo isoladas durante o processo fermentativo em destilarias brasileiras, têm sido caracterizadas como boas fermentadoras, elas são utilizadas como biomassa tanto na usina que foram isoladas como também em outras unidades (ALVES, 2011). Essas linhagens receberam nomes referentes às iniciais da unidade onde foram isoladas, exemplo CAT-1 (Usina de Catanduva), PE-2 (Usina da Pedra) entre outras que também são comercializadas. Com isso a utilização de leveduras isoladas no processo e posteriormente selecionadas constitui uma alternativa viável na iniciação da temporada industrial (ANDRIETTA, et al 2007).

A partir dos anos 90, constatou-se que as leveduras comerciais são substituídas pelas leveduras nativas ao longo do processo de fermentação, e que a única levedura com capacidade de permanecer no processo é a que foi isolada na mesma unidade em safras anteriores. Por esse motivo as usinas começaram a isolar e propagar a sua própria levedura para o início da safra. As unidades se equiparam para estarem aptas a propagar sua própria levedura (ANDRIETTA, 2006).

Diante do exposto, este estudo teve como objetivo fazer uma comparação entre a linhagem de levedura nativa C1 584/2012 e a uma levedura comercial CAT -1 no processo de fermentação alcoólica.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Planejamento experimental*

O trabalho foi desenvolvido na Usina Açúcareira São Manoel, a unidade é produtora de açúcar, etanol e levedura seca e está localizada em São Manuel no estado de São Paulo.

O acompanhamento das leveduras do processo foi realizado mensalmente durante as safras 2011/2012 e 2012/2013. A identificação das cepas de leveduras foi feita por meio de cariotipagem (técnica que separa por meio de eletroforese os cromossomos de leveduras, na sua forma intacta). As análises foram realizadas pelo Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA/UNICAMP).

### *Seleção da linhagem de levedura nativa*

Com os resultados obtidos através da cariotipagem da levedura durante as safras 2011/2012 e 2012/2013, foi realizado junto com o CPQBA um trabalho para avaliar as três leveduras nativas que foram isoladas nos finais das safras por apresentarem bom rendimento fermentativo e não serem cepas floculantes. Duas delas dominavam as dornas de fermentação no final da safra 2011/2012 e uma no final da safra 2012/2013, denominadas C1 252/11, C2 252/11 e C1 584/12 respectivamente. Primeiramente foi feita cariotipagem e comparação das cepas. Em seguida foi realizada uma fermentação em laboratório para avaliação da capacidade fermentativa, produção de etanol, produção de massa, consumo de açúcar, floculação e produção de espuma das leveduras quando comparadas a uma levedura padrão (linhagem padrão é uma levedura comercial que apresenta bom desempenho industrial).

### *Comparação entre cepa nativa e comercial*

Após a avaliação da capacidade fermentativa de cada levedura, foi realizado um trabalho dentro da unidade produtora de etanol, comparando a cepa de levedura que apresentou melhor resultado no teste fermentativo a C1 584/12 com a linhagem CAT-1. Na safra 2014/2015 iniciou-se a fermentação com a cepa comercial CAT-1 e foi comparada através da eficiência fermentativa por subprodutos com a levedura a C1 584/12 de melhor capacidade fermentativa, a qual iniciou a safra 2015/2016, a cepa foi fornecida em slants pelo CPQBA e a multiplicação foi realizada no laboratório da própria usina.

### *Análises relacionadas a eficiência da fermentação*

#### **Porcentagem de fermento tratado, vinho de levedurado e do vinho da dorna final**

As amostras foram coletadas de forma pontual a cada 4 horas. A porcentagem foi medida através da centrifugação de 10 mL da amostra em um tubo graduado de 10 mL com fundo cônico em uma centrífuga de bancada marca Metroterm, modelo MTD – Plus com rotação de 3.500 rpm por 3 min. Ao final do tempo, observou-se o volume do precipitado no tubo graduado e multiplicou-se por 10. Sendo o resultado expresso em % (CTC, 2011).

#### **Teor alcoólico do vinho de levedurado e do fermento tratado**

As amostras foram coletadas de forma pontual a cada 4 horas. As amostras foram destiladas em microdestilador de álcool, marca Tecnal modelo TE-012 e a leitura do teor alcoólico do destilador foi feita em densímetro eletrônico: marca Anton Paar – modelo DMA 4500, sendo o resultado expresso em % v/v (CTC, 2011).

## **ARRT do vinho delevedurado**

As amostras de vinho delevedurado foram coletadas de forma pontual a cada 8 horas. O método utilizado foi Lane & Eynon e titulação com solução de Fehling A e B. O resultado foi expresso em porcentagem (CTC, 2011).

## **ARRT do vinho delevedurado**

As amostras de vinho delevedurado foram coletadas de forma pontual a cada 8 horas. O glicerol foi determinado pelo método enzimático, empregando espectrofotometria, cuja absorvância é medida a 540 nm. Resultado foi expresso em % m/v (CTC, 2011).

## **Acidez sulfúrica do mosto, do vinho da dorna final e do fermento tratado**

As amostras do mosto, do vinho levedurado e do fermento tratado foram coletadas de forma pontual a cada 4 horas. A determinação foi feita através de titulação com solução de hidróxido de sódio 1mol/L, gota a gota e sob agitação até pH 8,7. O pHmetro usado foi da marca Mettler Toledo modelo AG 8603 (CTC, 2011).

## ***Cálculos relacionados aos parâmetros fermentativos***

$Y_{X/S}$  – Rendimento em células (g MS/ g ART)

*Fator de conversão substrato a célula (g/g) foi calculado pela Equação 1.*

$$Y_{X/S} = \frac{X_f - X_0}{S_t - S_f} \quad (1)$$

Onde,

$X_f$  – concentração celular final (g/L),  $X_0$  – concentração celular inicial (g/L),  $S_t$  – concentração de substrato total (g/L),  $S_f$  – concentração de substrato final (g/L),  $Y_{x/s}$  – fator de conversão substrato a célula (g/g)

$Y_{P/S}$  – Rendimento em etanol (g Etanol/ g ART)

*Fator de conversão substrato a etanol (g/g) foi determinado pela Equação 2.*

$$Y_{E/S} = \frac{E_f - E_0}{S_t - S_f} \quad (2)$$

Onde,

$E_f$  – concentração produto final (g/L),  $E_0$  – concentração produto inicial (g/L),  $S_t$  – concentração de substrato total (g/L),  $S_f$  – concentração de substrato final (g/L),  $Y_{e/s}$  – fator de conversão substrato a produto (g/g)

**Prod** – Produtividade (g etanol/ litro de meio x h)

*Produtividade em etanol (g/L.h) foi determinada pela Equação 3.*

$$P_E = \frac{E_f - E_0}{t_f} \quad (3)$$

Onde,

$E_f$  – concentração produto final (g/L),  $E_0$  – concentração produto inicial (g/L),  $t_f$  – tempo total de fermentação (horas),  $P_e$  – produtividade em etanol (g/L.h)

**VCS** – Velocidade de consumo de substrato (g ART/ litro de meio x h)

A velocidade média do consumo de substrato foi calculada através da Equação 4.

$$P_S = \frac{S_t - S_f}{t_f} \quad (4)$$

Onde,

$S_f$  – concentração substrato final (g/L),  $S_t$  – concentração substrato total (g/L),  $t_f$  – tempo total de fermentação (horas),  $P_s$  – velocidade média consumo de substrato (g/L.h)

**Prod Esp** – Produtividade por massa de célula produzida

*Produtividade em célula (g/L.h) foi calculado pela Equação 5.*

$$P_x = \frac{X_f - X_0}{t_f} \quad (5)$$

Onde,

$X_f$  – concentração celular final (g/L),  $X_0$  – concentração celular inicial (g/L),  $t_f$  – tempo total de fermentação (horas),  $P_x$  – produtividade em célula (g/L.h)

**Superior** – Rendimento em Etanol e velocidade de fermentação igual ou maior que o padrão (Conversão acima de 90%).

**Satisfatório** – Rendimento em etanol igual ou superior ao padrão e velocidade de fermentação satisfatória (Conversão entre 80 a 89%).

**Médio** – Rendimento em etanol similar ao padrão e velocidade de fermentação mediana (Conversão menor que 79%).

**Insatisfatória** – Rendimento em etanol abaixo do padrão e velocidade de fermentação abaixo do padrão.

$\eta_p$  (%) – Eficiência de fermentação

Eficiência de fermentação ( $\eta_p$  (%)), com base no rendimento teórico proveniente da equação de Gay-Lussac (51,1 g etanol . 100g glicose<sup>-1</sup>):

$$\eta_{P(\%)} = \frac{Y_p \times 100}{\bar{s}} \quad (6)$$

Onde:  $\frac{Y_p}{\bar{s}}$  = Fator de conversão de substrato em etanol (g . g<sup>-1</sup>).

$\eta_p$  (%) = Eficiência de fermentação em porcentagem

## Cálculo da eficiência da fermentação por subprodutos (FERNANDES, 2011)

A Eficiência da fermentação por subproduto foi calculada por meio da equação 7 e pelas equações auxiliares 8-11.

$$\frac{100}{1 + (1,19 \cdot K_1) + (0,5 \cdot K_g) + (0,51 \cdot K_{ac}) + (0,51 \cdot K_{arrt})} \quad (7)$$

$$K_1 = \frac{LevDV \cdot 0,33}{GrauVVC \cdot 0,7893} \quad (8)$$

$$K_{arrt} = \frac{ARRT}{GrauVVC \cdot 0,7893} \quad (9)$$

$$K_g = \frac{Glicerol}{GrauVVC \cdot 0,7893} \quad (10)$$

$$K_{ac} = \frac{AcVDF - AcFT \left( \frac{LevVC}{LevFT} \right) - AcM \left( 1 - \frac{LevVC}{LevFT} \right)}{1,837 \cdot 789,3 \left( \frac{GrauVVC}{100} \right) - \left( \frac{LevVC}{LevFT} \right) \left( \frac{GrauVFT}{100} \right)} \quad (11)$$

Onde:

$K_1$  - perdas porcentuais devido ao fermento produzido

$K_{arrt}$  - Perdas devidas aos açúcares redutores residuais totais

$K_g$  - Teor de glicerol no vinho delevedurado

$K_{ac}$  - Acidez produzida

LevDV - Porcentagem de fermento vinho delevedurado.

GraVVC - Teor alcoólico vinho delevedurado (% v/v).

Glicerol - Teor de Glicerol vinho delevedurado (%).

AcVDF - Acidez sulfúrica vinho dorna final (g/L).

AcFT - Acidez sulfúrica fermento tratado (g/L).

LevVC- Porcentagem de fermento vinho delevedurado (%).

LevFT - Porcentagem de fermento tratado (%).

AcM - Acidez sulfúrica do mosto (g/L).

GrauVFT - Teor alcoólico fermento tratado (% v/v).

ARRT - Açúcares redutores residuais totais (%).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Seleção de linhagem nativa*

A tabela 1 mostra os parâmetros fermentativos das linhagens de leveduras, os resultados apontam que as linhagens C1 252/11 e C1 584/12 tiveram melhores resultados até mesmo sobre a linhagem padrão conforme. Identificou-se que as duas cepas eram das mesmas linhagens a C1 252/11 e C1 584/12 (Figura 1). A linhagem C2/2011 apresentou características satisfatórias, entretanto tem a tendência a formar espuma quando em crescimento, assim ela se torna desaconselhável para o início de safra.

Tabela 1 – Parâmetros fermentativos das linhagens de leveduras

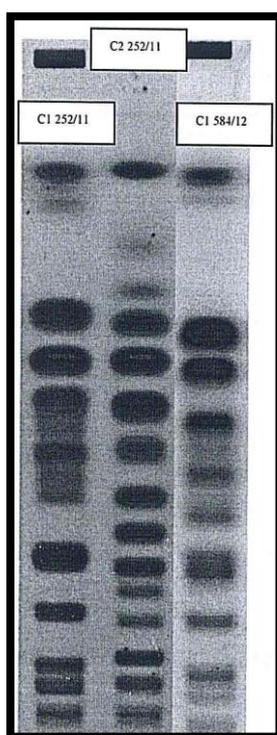
Parâmetros fermentativos	Referência	C1 252/11	C2 252/11	C1 584/12
<b>Yx/s</b>	0,04000	0,0404	0,0396	0,0422
<b>Yp/s</b>	0,4600	0,4649	0,4642	0,4647
<b>Prod</b>	2,5000	2,6519	2,6517	2,3724
<b>VCS</b>	5,8000	6,0880	6,0956	5,3316
<b>CONV</b>	90,00	94,30	94,18	83,02
<b>Prop Esp</b>	0,4500	0,4804	0,4889	0,4696
<b>VCS Esp</b>	1,0500	1,0595	1,0595	0,9951
<b>Característica</b>	xxxxxx	Superior	Superior	Satisfatória

<b>Fermentativa</b>				
<b>Floculação</b>	-	Não	Não	Não
<b>Formação de espuma</b>	-	Não	Não	Sim
<b>Outros</b>	-	Não	Não	Não

Fonte: Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA/UNICAMP)

A figura 1 mostra o eletrograma das leveduras após a análise de eletroforese.

Figura 1 - Cariotipagem



Fonte: Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA/UNICAMP)

### *Caracterização do processo*

O processo de produção de etanol na unidade é contínuo, sendo que o volume útil total dos reatores soma 2.800 m<sup>3</sup>. A capacidade de produção diária é de 1.200 m<sup>3</sup> de etanol hidratado e 500 m<sup>3</sup> etanol anidro. A planta de fermentação é composta por três linhas de quatro fermentadores (total de 12) e uma única dorna final. Após o término da fermentação, o vinho passa por centrífugas com rotação de eixo de 1.700 a 1800 rpm para separação do creme de levedura. O vinho delevedurado (sem as leveduras) segue para a destilação e o

creme de levedura para tratamento do fermento. Durante a centrifugação ocorre a sangria de fermento, que segue para a fábrica de levedura seca.

## *Avaliação da capacidade fermentativa das cepas*

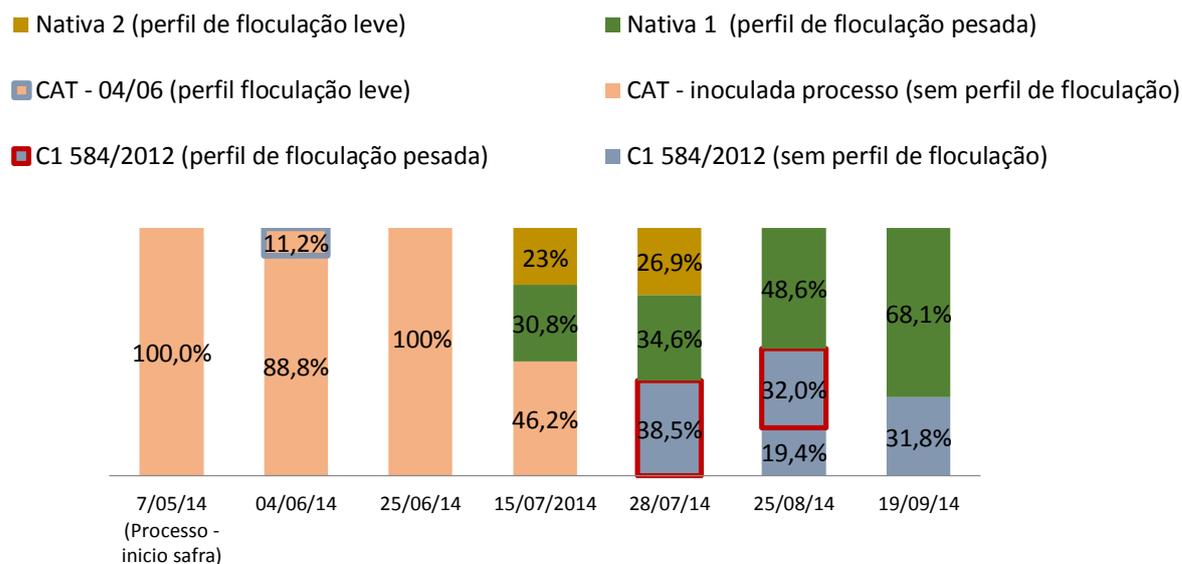
A figura 2 mostra a sucessão de cepas de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* durante a safra 2014/2015. A levedura comercial CAT-1 foi utilizada como inóculo para o processo de fermentação (07/05/14). Observou-se que nos dois primeiros meses de safra (maio e junho), a cepa CAT-1 apresentou 100% da população, sendo que na análise de 04/06/14 a CAT-1 apresentou 88,8% da população sem perfil de floculação e 11,2% com perfil de floculação leve e no mês de julho apresentou 100% de CAT-1 sem perfil de floculação. Esse perfil de floculação se deve às características da matéria-prima que segundo Ginovart *et al* (2006) no processo de floculação de leveduras fenômenos biológicos, químicos e físicos estão envolvidos. Essas linhagens floculadas apresentam em sua composição genômica, genes que expressam proteínas conhecidas como floculinas, elas permitem que a essas leveduras cresçam de forma floculada (ANDRIETTA, STECKELBERG e ANDRIETTA, 2006).

A partir do dia 15/07/14 a CAT-1 apresentou 46,2% da população e houve contaminação com duas leveduras nativas, uma ocupando 23% (Nativa 2) da população e a outra 30,8% (Nativa 1), sendo estas não encontradas nos meses anteriores e consequentemente iniciando o processo de eliminação da CAT-1. Após a primeira quinzena de julho (de 18 a 24/07) foi introduzida a levedura nativa C1 584/2012 no processo e no final de agosto observamos que a mesma apareceu com 38,5% da população com perfil de floculação pesada e as duas nativas presentes na coleta anterior apareceram novamente com 26,9% (Nativa 2) e 34,6% (Nativa 1) da população. No mês de agosto foram encontradas 32,0% da levedura C1 584/12 com perfil de floculação leve, 19,4% da mesma sem perfil de floculação e 48,6% da levedura Nativa 1 que havia aparecido, retornou nos meses de julho e agosto em maior porcentagem. No mês de setembro apareceram 31,8% da levedura C1 584/2012 sem perfil de floculação e 68,1% da Nativa 1 presente no mês anterior.

A partir de julho a cepa CAT-1 foi eliminada dos fermentadores, restando apenas às leveduras nativas. Hoje se tem conhecimento que a levedura propagada no início da safra é rapidamente substituída por uma levedura nativa, isto é, que habita o ambiente da cana-de-açúcar e é introduzida no processo (ANDRIETTA, STECKELBERG e ANDRIETTA, 2006).

Raramente as unidades trabalham com uma única levedura no processo, normalmente essa população é constituída por uma ou mais leveduras que estão muito ligadas as características da matéria-prima processada. (ANDREITTA et al., 2011)

Figura 2 – Cariotipagem Safra 2014/2015



Fonte: Usina Açucareira São Manoel

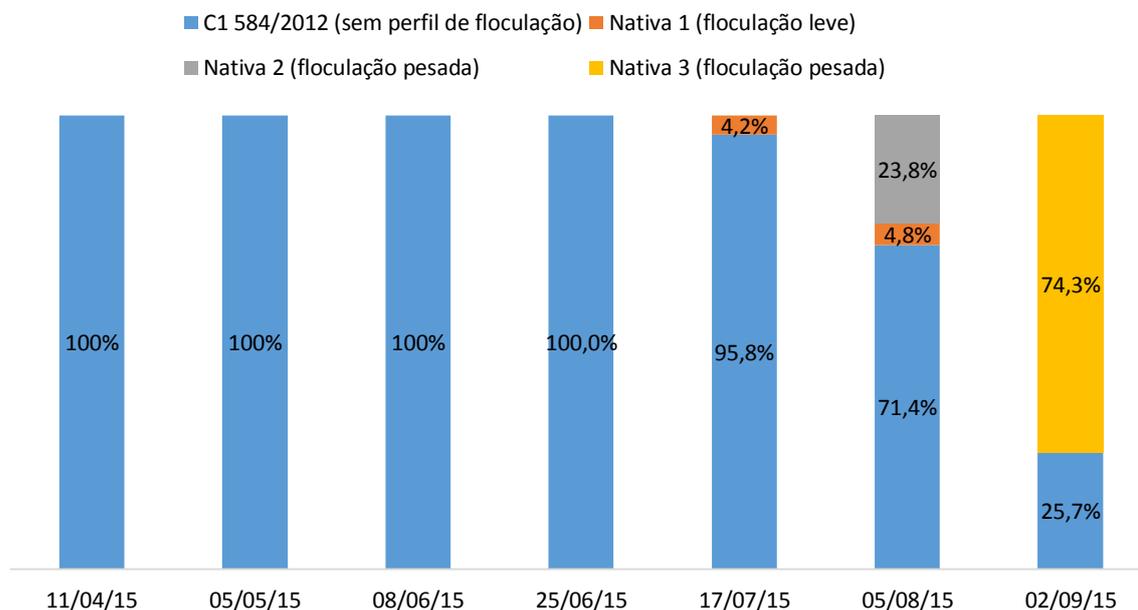
A figura 3 apresenta a dinâmica das leveduras durante a safra 2015/2016. Na primeira coleta, que foi realizada no dia 11/04/15, como já esperado a população apresentou 100% da levedura C1 584/2012 (que foi isolada dentro da própria unidade) e permaneceu durante os meses de maio, junho e julho. No mês de julho a C1 584/2012 dominava o processo representando 95,8%, mas, participou da população uma linhagem de levedura nativa (Nativa 1) com 4,2% e perfil de floculação leve.

Em agosto a C1 584/2012 continuou predominando com 71,4%, a Nativa 1 apareceu novamente com 4,8% da população e uma outra nativa surgiu para dividir o ambiente, a Nativa 2 com 23,8% e perfil de floculação pesada, a qual só esteve presente nessa coleta. De acordo Koizumi e Ogawa (2005), citado por Figueiredo (2008), as centrifugações no processo ocorrem para separar o mosto fermentado da células, neste caso a floculação é indesejada, pois os flocos interferem na correta centrifugação impedindo a separação do mosto e gerando perdas no reciclo.

Na última análise realizada no dia 02/09/15 as nativas que estavam presentes nos meses anteriores desapareceram e outra nativa surgiu dominando o processo, a Nativa 3 representava 74,3% da população e compartilhava com 25,7% da C1 584/2012.

Comparando o tempo de permanência no processo fermentativo da cepa C1 584/2012 com a CAT-1, observamos que a C1 584/2012 até o término deste trabalho não foi eliminada das dornas de fermentação, diferentemente da CAT-1 que foi substituída por outras nativas em no mês de julho. Atribui-se a essa permanência a C1 584/2012 ter sido uma linhagem selecionada na própria planta da usina e essa estar mais adaptada as condições do processo. Dificilmente as leveduras comerciais recomendadas como inócuos para início de fermentação persistem até o final da safra, de modo geral elas são substituídas por leveduras habitantes (Nativas) da matéria – prima de cada unidade, sendo que a presença de determinada substância na composição da matéria-prima é um forte fator na composição da microbiota das dornas de fermentação (ANDREITTA et al., 2011). Os resultados mostraram que quando o inóculo são as leveduras isoladas na própria unidade, essas dominam o processo até o final da safra (ANDRIETTA, STECKELBERG e ANDRIETTA, 2006).

Figura 3- Cariotipagem Safra 2015/2016



Fonte: Usina Açucareira São Manoel

A eficiência fermentativa da safra 2014/2015 foi comparada com a da safra 2015/2016, considerando o mesmo período para duas safras, pois até o encerramento desse trabalho não havia encerrado a safra, portanto foram considerados os resultados até o mês de setembro para ambas as safras.

No mês de maio como observamos na figura 4, que na safra 2014/2015 obtivemos uma eficiência fermentativa de 89,99% enquanto na safra 2015/2016 a mesma foi de 92,04% o que significa 2,05 acima da safra anterior. Em junho a diferença foi de 2,02%, na safra 2014/2015 o valor foi de 90,77% e a safra 2015/2016 com 92,79%. O mesmo ocorreu no mês julho os resultados obtidos foram de 90,31% na safra 2014/2015 e 92,72% na safra 2015/2016 com uma diferença de 2,41% a maior durante o período avaliado.

Em agosto o quadro inverteu, os resultados para safra 2014/2015 foi de 92,72 enquanto na safra 2015/2016 foi de 92,33% gerando uma diferença de 0,39%, pode acontecer uma diminuição no rendimento do produto durante o processo, a detecção de leveduras e suas características serão importantes durante o processo fermentativo, pois podemos verificar se a diminuição do rendimento é devido a contaminação, falhas operacionais ou matéria-prima (SALVATO, 2010)

No último mês avaliado, com a porcentagem de C1 584/2012 de 25,7% nas dornas de fermentação a eficiência fermentativa da safra 2015/2016 novamente caiu com 4,24% abaixo

da safra 2014/2015 que foi 93,37%. Neste caso a contaminação de leveduras nativas que apresentam floculação pesada, provavelmente dificultou o processo fermentativo, que segundo Amorim (2005) a floculação das leveduras diminui o tempo de contato entre as células e o mosto e reduz o rendimento fermentativo (NAVES et al., 2010)

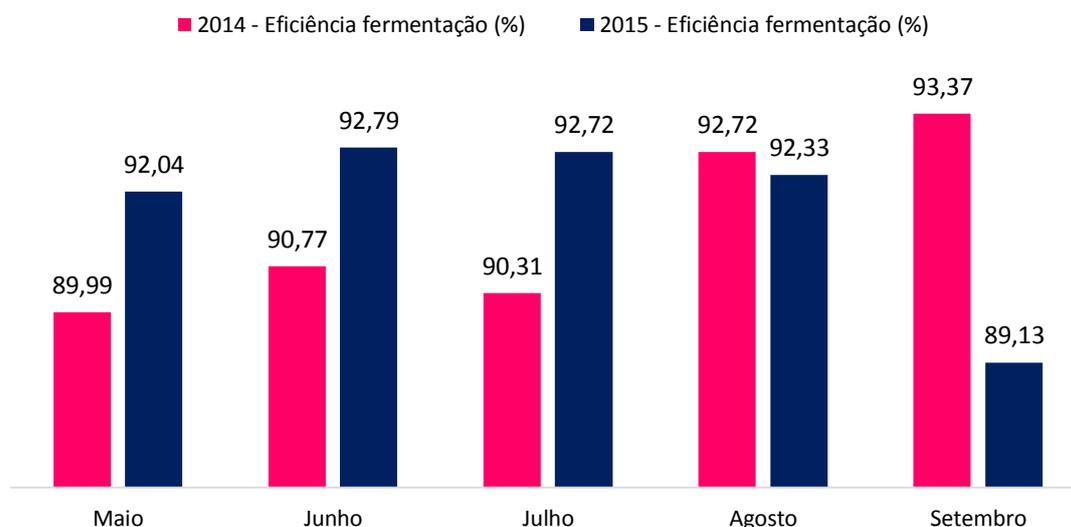
A tabela 2 apresenta a média mensal dos resultados envolvidos nos cálculos da eficiência fermentativa nas safras 2014/2015 e 2015/2016.

Tabela 2: Média dos resultados envolvidos da eficiência fermentativa

Mês	Porcentagem de Fermento vinho delev. (%)	ARRT vinho delev. (%)	Glicerol vinho delev. (%)	Teor Alcoólico vinho delev. (G/L)	Porcentagem de fermento dorna final (%)	Acidez sulfúrica a vinho dorna final (g/L)	Porcentagem de Fermento na cuba (%)	Teor Alcoól. Fermentado tratado Final (GL)	Acidez sulfúrica a fermento tratado (g/L)	Acidez sulfúrica do mosto (g/L)
Mai/14	0,39	0,37	0,35	7,54	12,20	3,03	37,26	3,45	3,56	0,89
Mai/15	0,22	0,18	0,40	7,20	11,98	2,81	38,82	3,63	3,95	0,85
Jun/14	0,26	0,37	0,33	7,32	14,59	3,05	41,64	3,62	4,10	0,93
Jun/15	0,24	0,14	0,39	7,28	12,84	2,67	40,15	3,77	4,01	0,93
Jul/14	0,24	0,39	0,46	7,37	13,61	3,05	37,75	4,18	4,63	0,91
Jul/15	0,22	0,15	0,40	7,19	12,14	2,69	37,18	4,09	4,44	0,90
Ago/14	0,22	0,30	0,40	8,25	13,92	2,93	39,74	5,04	5,00	0,85
Ago/15	0,20	0,25	0,46	7,73	12,51	2,59	37,69	4,55	4,18	0,84
Set/14	0,22	0,25	0,35	8,05	13,42	3,00	40,66	4,90	5,46	0,95
Set/15	0,22	0,48	0,63	7,83	13,29	3,21	36,53	4,36	4,64	0,99

Fonte: Usina Açucareira São Manoel

Figura 4 – Eficiência Fermentativa (%)



Fonte: Usina Açucareira São Manoel

## CONCLUSÃO

A eficiência fermentativa da levedura nativa C1 584/2012 foi melhor que a levedura comercial CAT-1 durante o período avaliado. Foram observadas algumas diferenças quando as mesmas começaram a ser substituídas por outras nativas.

Mesmo com a contaminação por outras leveduras nativas a cepa C1 584/12 permanece no processo diferentemente da CAT-1 que foi eliminada em julho. Recomenda-se continuar o estudo, onde possa ser observado o comportamento das leveduras até o término da safra, para que possamos verificar se a C1 584/12 retoma ao processo com maior porcentagem da população e/ou permanece até o final da safra ou se ocorre a eliminação semelhante ao que ocorreu com a CAT-1.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, P. C. O. Comportamento de leveduras selvagens em fermentação no setor sucroalcooleiro. *Revista Cognitio*, n.1, 2011. Disponível em: <http://revista.unilins.edu.br/index.php/cognitio/article/view/28/30>. Acesso em: 19 agosto 2015.

AMORIM, V. A. Fermentação alcoólica: ciência e tecnologia. *Piracicaba*: Fermentec, 2005. 434p.

ANDRIETTA, M. G .S.; STECKELBERG, C e ANDRIETTA, S. R. Bioetanol – Brasil, 30 anos na vanguarda. *Revista Multiciência*, n.7, Universidade de Campinas, 2006.

ANDRIETTA, M. G .S.; ANDRIETTA, S. R.; STUPIELLO, E. N. A. S. Uma nova visão da microbiota de leveduras habitantes do processo de produção do bioetanol brasileiro. *STAB*, vol.30, nº 2, novembro – dezembro, 2011.

ANDRIETTA, S. R. *Fermentação e tratamento do caldo*. Apostila do Curso de Investimento e Gestão na Agroindústria Sucroalcooleira. PECEGE/ESALQ/USP. Piracicaba, 2007.

CHERUBIN, R. A. *Efeitos da viabilidade da levedura e da contaminação bacteriana na fermentação alcoólica*. Tese (doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. p.124. Piracicaba, 2003.

CTC - CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA. *Manual de métodos analíticos controle químico da fermentação*. Piracicaba, 2011

FERNANDES, A. C. *Cálculos na Agroindústria da Cana-de-açúcar*. 3ª edição, Piracicaba: STAB, p. 416. 2011

FIGUEIREDO, C. M. **Análise molecular da floculação e formação de espuma por leveduras utilizadas na produção industrial de álcool combustível no Brasil**. Universidade Federal de Santa Catarina programa de pós-graduação em biotecnologia. Florianópolis, 2008.

GINOVART, M.; LÓPEZ, D.; GIRÓ, A.; SILBERT, M. Flocculation in brewing yeasts: a computer simulation study. *Biosystems*, v.83, p. 51-55, 2006.

JORNAL CANA. *Fermentec explica importância da seleção de leveduras*, 2014. Disponível em: <<http://www.jornalcana.com.br/fermentec-fala-sobre-importancia-da-selecao-de-leveduras/>>. Acesso em: 26 outubro de 2015

JÚNIOR, J. B. C. Tecnologia e fabricação do álcool. *Inhumas*: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012. 74 p.: il.

KOIZUMI, H. & OGAWA, T. Rapid and sensitive method to measure premature yeast flocculation activity in malt. *Journal of The American Society of Brewing Chemists*, v.63, n.4, p.147-150, 2005.

LIMA, U.A.; BASSO, L.C.; AMORIM, H.V. Biotecnologia Industrial – Processos Fermentativos e Enzimáticos. In: Schimidell, W.; Lima, U.A.; Aquarone, E.; Borzani, W. vol.1, cap.1: *Produção de Etanol*, p.1-43, 2001.

MAIA, A. B. R. A. *Fundamentos de fermentação alcoólica*. Apostila do curso de Engenharia Química. Belo Horizonte: UFMG, 1989.

NAVES, R. F.; FERNANDES, F. S.; PINTO, O. G.; NAVES, P. L. F. *Contaminação microbiana nas etapas de processamento e sua influência no rendimento fermentativo em usina alcooleira*. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.6, N.11; 2010 Pág. 1

RAVANELLI, G.C. *Qualidade da matéria-prima, microbiota fermentativa e produção de etanol sob ataque de Mahanarva fimbriolata em cana-de-açúcar*. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 2010.

REVISTARURAL. *Moagem: a transformação da cana em riqueza*. Disponível em: <<http://www.revistarural.com.br/edicoes/item/6037-moagem-a-transformacao-da-cana-em-riqueza>>. Acesso em: 20 outubro de 2015.

SALVATO, F. *Fermentação de mosto industrial por linhagens de Saccharomyces cerevisiae com transportador de sacarose e sobreexpressão de invertase interna: estudo comparativo com linhagens com alta e baixa atividade de invertase externa*. Tese (mestrado) – Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”. Piracicaba, 2010.

SOUZA, C. S. *Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de S. Cerevisiae*. 155f. Tese (Doutorado em biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/ Instituto Butantan/IPT, São Paulo, 2009.

VIEIRA, D. A. P.; FERNANDES, N. C. A. Q. *Microbiologia Aplicada. Inhumas*: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012.