



16° Congresso de Iniciação Científica

INFLUÊNCIA DO TEOR ALCOÓLICO E DE ÍONS CÁLCIO NO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO ENTRE LEVEDURAS E BACTÉRIAS

Autor(es)

GLAUCE PASCHOALINI

Orientador(es)

VALMIR EDUARDO ALCARDE

Apoio Financeiro

PIBIC/CNPq

1. Introdução

A floculação é um fenômeno apresentado por leveduras, as quais se unem em agregados denominados flocos constituídos por várias células. A ocorrência da floculação na fermentação alcoólica pode ser causada pela presença de linhagens floculentas do gênero *Saccharomyces* e por bactérias contaminantes. Nas usinas de álcool a contaminação bacteriana é considerada a principal responsável pela floculação do fermento (ALCARDE, 2001). A contaminação bacteriana é um dos fatores preponderantes dentre aqueles que afetam a fermentação alcoólica. Segundo Amorim et al. (1996), o maior efeito das bactérias na levedura e no rendimento da fermentação é físico. As bactérias se unem com as leveduras provocando floculação, que vão ao fundo da dorna ocasionando na centrifugação entupimento de bicos, canalizações, ocorrendo muita perda de levedura, resultando em uma queda no rendimento do processo fermentativo. O mecanismo através dos quais as bactérias exercem efeito direto na floculação de leveduras não está totalmente esclarecido. Na floculação de leveduras floculentas o modelo mais aceito é o "modelo das lectinas", proposto por (MIKI, et al. 1982). Este modelo propõe a ocorrência de uma ligação específica entre as proteínas (lectinas) de células floculentas e os receptores de manana da parede celular de células adjacentes, requerendo ainda a presença de íons cálcio, cuja função é a de manter as lectinas em sua conformação ativa.

2. Objetivos

Este trabalho tem por objetivo verificar as condições de ocorrência da floculação entre a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e *Lactobacillus* contaminantes do processo de produção de álcool, avaliando o efeito do teor alcoólico e o efeito combinado do teor alcoólico e de íons cálcio neste processo. Serão também investigados os possíveis mecanismos de floculação entre leveduras e bactérias.

3. Desenvolvimento

Para este estudo foi utilizada a leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (FT134L), cultivada em meio de cultivo YEPD (extrato de levedura-1,0%; peptona-1,0%; dextrose-2,0%). As bactérias utilizadas nos experimentos foram: *Lactobacillus fermentum* (FT282B), *Lactobacillus plantarum* (FT025B), *Lactobacillus fructivorans* (FT421B), *Lactobacillus fructosus* (FT432B) e *Lactobacillus buchneri* (FT414B), cultivadas em meio de cultivo "De Man, Rogosa, Sharp" - MRS Difco 0881-01-3. As culturas microbianas foram cedidas pela Fermentec S/C Ltda. Os testes de floculação foram realizados de acordo com o método de Stratford & Keenan (1988), utilizando uma concentração de $5,0 \times 10^8$ células de leveduras/ml e concentração superior a 10^8 células de bactérias/ml. Para verificar o efeito do teor alcoólico foram realizados testes de floculação na ausência e na presença de 10% e 15% de álcool. Para se verificar o efeito combinado de íons cálcio foram realizados testes de floculação na ausência e na presença de 10% e 15% de álcool em conjunto com 400 ppm e 800 ppm de cálcio.

4. Resultado e Discussão

Para interpretação dos resultados utilizou-se a padronização de acordo com Santos (1991), considerando fortemente floculante (+++) as espécies bacterianas que proporcionaram uma leitura da absorbância inferior a 0,25, mediamente floculante (++) as leituras entre 0,25 a 0,40, fracamente floculante (+) as bactérias que proporcionaram leitura entre 0,40 a 0,65 e como não floculante (-) as leituras (absorbância) superiores a 0,65. Os testes de floculação realizados encontram-se na Tabela 1, 2 e 3.

Tabela 1:

Os resultados indicam que *Lactobacillus plantarum* (FT025B), *Lactobacillus fructosus* (FT432B), *Lactobacillus buchneri* (FT414B) e *Lactobacillus fermentum* (FT282B) apresentaram capacidade de provocar a floculação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (FT134L). Entretanto *fructivorans* (FT421B) não conseguiu flocular a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (FT134L).

Tabela 2:

A análise das Tabelas 1 e 2 mostram que o teor alcoólico parece influenciar a capacidade floculante de bactérias frente à levedura *Saccharomyces cerevisiae* (FT134L). Este parâmetro também parece estar relacionado à espécie bacteriana envolvida no processo: para *Lactobacillus fructivorans* (FT421B), *Lactobacillus plantarum* (FT025B) e *Lactobacillus fermentum* (FT282B) não houve alteração na capacidade

floculante; para *Lactobacillus fructosus* (FT432B) houve alteração na floculação com aumento da presença de teor alcoólico no meio; e para *Lactobacillus buchneri* (FT414B) houve perda da capacidade floculante com a presença de teor alcoólico no meio.

Tabela 3:

A análise dos dados das Tabelas 2 e 3 indicam que o aumento do teor de cálcio de 400 ppm para 800 ppm em um meio com presença de 10 a 15% de teor alcoólico parece não influenciar a intensidade e capacidade floculante das bactérias e levedura testada.

5. Considerações Finais

Os resultados obtidos nos experimentos mostraram que *Lactobacillus plantarum* (FT025B), *Lactobacillus fructosus* (FT432B), *Lactobacillus buchneri* (FT414B) e *Lactobacillus fermentum* (FT282B) podem provocar a floculação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (FT134L). Já *Lactobacillus fructivorans* (FT421B) não conseguiu induzir a floculação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (FT134L) nas concentrações microbianas estudadas. O teor alcoólico parece influenciar a capacidade floculante de bactérias frente à levedura *Saccharomyces cerevisiae* (FT134L). Este parâmetro também parece estar relacionado à espécie bacteriana envolvida no processo: para *Lactobacillus fructivorans* (FT421B), *Lactobacillus plantarum* (FT025B) e *Lactobacillus fermentum* (FT282B) não houve alteração na capacidade floculante; para *Lactobacillus fructosus* (FT432B) houve alteração na floculação com aumento da presença de teor alcoólico no meio; e para *Lactobacillus buchneri* (FT414B) houve perda da capacidade floculante com a presença de teor alcoólico no meio. O efeito do aumento do teor de cálcio de 400 ppm para 800 ppm em um meio com presença de 10 a 15% de teor alcoólico parece não influenciar a intensidade e capacidade floculante das bactéria e levedura testada.

Referências Bibliográficas

ALCARDE, V.E. Avaliação de parâmetros que afetam a floculação de leveduras e bactérias isoladas de processos industriais de fermentação alcoólica. Campinas, 2001. 91p. (Doutorado – Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP).

AMORIM, H.V. de; BASSO, L.C.; ALVES, D.M.G. *Processos de produção de álcool*. Piracicaba, Centro de Biotecnologia Agrícola, 1996. 103p.

MIKI, B.L.A.; POON, N.H.; JAMES, A.P.; SELIGY, V.L. Possible mechanism for flocculation interactions governed by gene FLO1 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bacteriology*. v. 150 n.2 p.878-889, 1982.

SANTOS, M.T. Característica da floculação de leveduras causada por *Lactobacillus fermentum*. Campinas,

STRATFORD, M. & KEENAN, M.H.J. Yeast flocculation: quantification. *Yeast* **4**: 107-15, 1988.

Anexos

Tabela 1: Capacidade floculante de bactérias frente à levedura FT134.

Microrganismo	População Levedura : Bactéria	Teor de ions de Cálcio (ppm)	Teor alcoólico (%)	Leitura (A) 800 nm	Gráu de floculação
<i>L. buchneri</i>	$5,0 \times 10^8$: $1,2 \times 10^8$	400	-	0,55	+
<i>L. fermentum</i>	$5,0 \times 10^8$: $5,2 \times 10^8$	400	-	0,019	+++
<i>L. fructivorans</i>	$5,0 \times 10^8$: $1,2 \times 10^8$	400	-	1,125	-
<i>L. fructosus</i>	$5,0 \times 10^8$: $2,2 \times 10^8$	400	-	0,251	++
<i>L. pasteurum</i>	$5,0 \times 10^8$: $3,7 \times 10^8$	400	-	0,022	+++

Tabela 2: Efeito do teor alcoólico na floculação entre leveduras e bactérias

Microrganismo	População Levedura : Bactéria	Teor de ions de Cálcio (ppm)	Teor alcoólico (%)	Leitura (A) 800 nm	Gráu de floculação
<i>L. buchneri</i>	$5,0 \times 10^8$: $1,2 \times 10^8$	400	10%	0,756	-
<i>L. fermentum</i>	$5,0 \times 10^8$: $5,2 \times 10^8$	400	10%	0,018	+++
<i>L. fructivorans</i>	$5,0 \times 10^8$: $1,2 \times 10^8$	400	10%	1,216	-
<i>L. fructosus</i>	$5,0 \times 10^8$: $2,2 \times 10^8$	400	10%	0,272	+++
<i>L. pasteurum</i>	$5,0 \times 10^8$: $3,7 \times 10^8$	400	10%	0,019	+++
<i>L. buchneri</i>	$5,0 \times 10^8$: $1,2 \times 10^8$	400	15%	0,7	-
<i>L. fermentum</i>	$5,0 \times 10^8$: $5,2 \times 10^8$	400	15%	0,023	+++
<i>L. fructivorans</i>	$5,0 \times 10^8$: $1,2 \times 10^8$	400	15%	1,215	-
<i>L. fructosus</i>	$5,0 \times 10^8$: $2,2 \times 10^8$	400	15%	0,252	++
<i>L. pasteurum</i>	$5,0 \times 10^8$: $3,7 \times 10^8$	400	15%	0,027	+++

Tabela 3: Efeito combinado do teor alcoólico e teor de ions cálcio na floculação entre leveduras e bactérias

Microrganismo	População Levedura : Bactéria	Teor de ions de Cálcio (ppm)	Teor alcoólico (%)	Leitura (A) 800 nm	Gráu de floculação
<i>L. buchneri</i>	$5,0 \times 10^8$: $1,2 \times 10^8$	800	10%	0,828	-
<i>L. fermentum</i>	$5,0 \times 10^8$: $5,2 \times 10^8$	800	10%	0,032	+++
<i>L. fructivorans</i>	$5,0 \times 10^8$: $1,2 \times 10^8$	800	10%	1,245	-
<i>L. fructosus</i>	$5,0 \times 10^8$: $2,2 \times 10^8$	800	10%	0,301	++
<i>L. pasteurum</i>	$5,0 \times 10^8$: $3,7 \times 10^8$	800	10%	0,017	+++
<i>L. buchneri</i>	$5,0 \times 10^8$: $1,2 \times 10^8$	800	15%	1,072	-
<i>L. fermentum</i>	$5,0 \times 10^8$: $5,2 \times 10^8$	800	15%	0,013	+++
<i>L. fructivorans</i>	$5,0 \times 10^8$: $1,2 \times 10^8$	800	15%	1,119	-
<i>L. fructosus</i>	$5,0 \times 10^8$: $2,2 \times 10^8$	800	15%	0,22	+++
<i>L. pasteurum</i>	$5,0 \times 10^8$: $3,7 \times 10^8$	800	15%	0,032	+++