

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

DESEMPENHO DE *Saccharomyces cerevisiae* EM MOSTO PRODUZIDO A PARTIR DE GENÓTIPOS DE SORGO

Lidyane Aline de Freitas^{1,6}; Márcia Justino Rossini Mutton²; Larissa Alves de Castro Jocarrelli³; Osânia Emerenciando Ferreira⁴; Igor dos Santos Masson^{1,5}; Gustavo Henrique Gravatim Costa^{1,5}

¹Mestrando em Microbiologia Agropecuária; ²Docente e Pesquisadora, Departamento de Tecnologia, FCAV/UNESP, Via de Acesso Professor Paulo Donato Castellane, km 5, CEP:14884-900, Jaboticabal, SP. Email: mjrmut@fcav.unesp.br; ³Graduanda em Tecnologia de Biocombustíveis; ⁴Doutoranda em Microbiologia Agropecuária; ⁵Aluno bolsista Capes; ⁶Aluna bolsista CNPQ

RESUMO

O sorgo sacarino apresenta elevada potencialidade como matéria-prima para produção de etanol, tanto do ponto de vista agrônomo quanto industrial. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o desempenho da microbiota fermentativa no caldo extraído de dois genótipos de sorgo. O delineamento experimental foi o em blocos casualizados em um esquema fatorial 2x3. Os tratamentos foram dois genótipos: CVWS80147 e BRS610; e três épocas de colheita (60, 90 e 120 dias após a semeadura). O caldo extraído foi submetido a um processo de clarificação, o Brix foi ajustado, e o pH corrigido, obtendo-se o mosto. Alíquotas de 250 mL de mosto foram submetidos a inoculação de levedura selecionada (CAT1). No pé-de-cuba, início e final do processo fermentativo determinou-se a viabilidade celular, brotamento e viabilidade de brotos. Conclui-se que o processamento de sorgo em seu estágio ideal de maturação promoveu maior viabilidade de células no processo fermentativo, independentemente do genótipo. O processamento de sorgo imaturo resultou em maior multiplicação celular.

Palavras-chave: Fermentação etanólica; viabilidade de leveduras; brotamento

PERFORMANCE OF *Saccharomyces cerevisiae* IN MUST PRODUCED FROM SORGHUM GENOTYPES

SUMMARY

The sweet sorghum has high potential as a raw material for ethanol production, both in terms of agronomic and industrial. This study aimed to evaluate the performance of microbial fermentation in juice of two genotypes of sorghum. The experimental design was randomized blocks in a factorial 2x3. The treatments were two genotypes: CVWS80147 and BRS610 and three harvest times (60, 90 and 120 days after seedling). The extracted juice was subjected to a process of clarification, Brix and pH adjustment to obtained the must. Aliquots of 250 ml of must were inoculated with strain selected (CAT1). At the inoculums, the beginning and end of the fermentation was determined the cell viability, budding and bud viability of the yeast. It follows that the processing of sorghum in the stage of maturation promoted greater cell viability in the fermentation process, independently of genotype. The processing resulted in higher sorghum immature cell multiplication

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

Keywords: Ethanol fermentation, yeast viability, budding

INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta grande oportunidade de desenvolvimento econômico e social, por meio dos agrocombustíveis. A abundante biodiversidade e as grandes extensões de terras agricultáveis com clima propício proporcionam condições ideais para produção dos chamados biocombustíveis (SOUZA, 2011).

Avaliando-se as quantidades de combustíveis produzidas e consumidas, aliadas aos valores divulgados através das previsões estatísticas, supõe-se que o emprego de uma única fonte de matéria-prima poderá não ser suficiente para atender a toda a demanda prevista, necessitando da ampliação do período de safra. Desta forma buscam-se outras matérias-primas compatíveis com o processamento industrial.

O sorgo sacarino destaca-se como matéria-prima para produção de etanol, tanto do ponto de vista agrônomo quanto industrial. Este apresenta colmos ricos em açúcares diretamente fermentáveis, semelhantes à cana-de-açúcar, e pode ser indicado para cultivo em áreas em que esta cultura não se adaptou satisfatoriamente.

Cabe destacar ainda como vantagens o fato de apresentar ciclo curto, baixo custo de implantação, propagação por sementes (que favorece as áreas de expansão), colheita mecanizada, além de se apresentar como uma das culturas mais eficientes em termos energéticos. Ao mesmo tempo deve-se considerar a possibilidade de utilização do bagaço para cogeração de energia elétrica e produção de etanol lignocelulósico (TEIXEIRA et al., 1997).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho da microbiota fermentativa no caldo extraído de dois genótipos de sorgo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado na FCAV/UNESP Câmpus de Jaboticabal-SP e conduzido no Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Álcool. Utilizou-se delineamento experimental em blocos em um esquema fatorial 2x3. Os tratamentos foram constituídos por dois genótipos: CVWS80147 e BRS610; e três épocas de colheita (60, 90 e 120 dias após a semeadura – d.a.s.). Cada parcela foi constituída por 10 linhas de 15 m de comprimento, espaçadas de 90x70 cm nas entrelinhas. A semeadura foi realizada em 15/12/2011, utilizando-se uma densidade de sementes que originou na colheita 100.000 a 110.000 plantas/ha.

Na colheita, foram removidas as folhas e as panículas, obtendo-se os colmos que foram submetidos à extração do caldo, em moenda de laboratório. O caldo extraído foi submetido a um processo de clarificação por defecação simples, para remoção de impurezas. Após a clarificação do caldo, o Brix foi ajustado, e o pH corrigido para 4,5 ($\pm 0,3$), obtendo-se o mosto.

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

Alíquotas de 250 mL de mosto foram submetidos a inoculação de levedura selecionada (CAT1), na concentração de 10^9 ufc por mL, previamente adaptada.

O processo foi monitorado com auxílio de densímetro de Brix. O final das fermentações foi estabelecido quando houve estabilização da leitura de Brix em intervalo de 30 minutos.

No início e final do processo fermentativo foram realizadas contagens de células de leveduras através de Câmara de Neubauer (LEE et al., 1981), determinado-se a viabilidade celular, brotamento e viabilidade de brotos.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F), teste de comparação de médias (Tukey 5%) empregando-se o programa ASSISTAT versão 7.6 beta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para viabilidade celular, viabilidade de brotos e brotamento do pé-de-cuba estão representados na Tabela 1. Verifica-se que a viabilidade celular da CVWS80147 (Figura 1) foi semelhante à da BRS610 aos 90 e 120 d.a.s.. Aos 60 d.a.s.. a BRS610 apresentou a menor viabilidade celular. A terceira época de colheita foi a que apresentou maior viabilidade celular, concordando com resultados de Bisio & Bulanti (2012) que encontraram valores superiores a 90% quando o genótipo era colhido no estágio de maturação.

Aos 60 d.a.s. foi mais favorável para a multiplicação celular, caracterizada pelo brotamento e viabilidade de brotos (Tabela 1). Este fato é explicado pela imaturidade tecnológica dos colmos dos genótipos, os quais resultaram em Brix do mosto inferior a 6° , sendo que teores de açúcar nesta concentração propiciam a respiração aeróbia e a multiplicação celular (WALKER, 1998).

A levedura no início da fermentação (Tabela 2) apresentou o mesmo comportamento do pé-de-cuba para os genótipos estudados, ou seja, não apresentaram efeitos significativos para os parâmetros analisados. Observa-se

Tabela 1. Valores médios da viabilidade celular, brotamento e viabilidade de brotos no pé-de-cuba para genótipos de sorgo CVWS80147 e BRS610 em três épocas de colheita, e resultados do teste F e do teste de Tukey.

	Viabilidade Celular	Brotamento	Viabilidade de Brotos
CVWS80147	88,68A	14,33 ^a	88,77A
BRS610	85,63A	14,27 ^a	92,40A
Teste Fgen	2,29ns	0,02ns	0,29ns
DMS	4,5	0,82	15,1
Epoca 1	83,93B	36,48 ^a	100,00A
Epoca 2	86,27AB	4,55B	80,20A
Epoca 3	91,25A	1,88C	91,66A
Teste Fép	54,57*	3613,11**	2,86ns
DMS	6,8	1,24	22,8

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

CV	4,92	5,48	15,88
Int genxép	10,57**	0,26ns	3,65ns

^{ns} não significativo; * significativo ao nível de 5% de probabilidade; ** significativo ao nível de 1% de probabilidade.

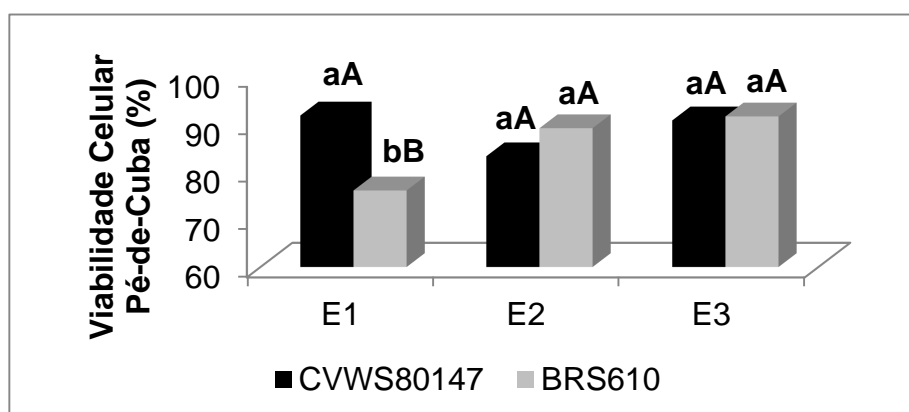


Figura 1: Interação entre os dois genótipos e as três épocas de colheita para o parâmetro viabilidade celular do pé-de-cuba.

que a fermentação realizada 60 d.a.s. interferiu negativamente na viabilidade celular no início da fermentação dos dois genótipos (Figura 2) em relação aos 90 e 120 d.a.s. entretanto, nesta época favoreceu a multiplicação de células, evidenciado pelo brotamento. Verifica-se também que para a época 1, o genótipo CVWS80147 apresentou maior viabilidade celular em relação a BRS610 (Figura 2).

No final do processo fermentativo (Tabela 3) não se observou efeito dos tratamentos sobre a viabilidade de brotos e, interação significativa para viabilidade celular e brotamento. A viabilidade celular aumentou significativamente com as épocas de amostragens, sendo que aos 30 d.a.s. a BRS610 foi superior (Figura 3). Na Figura 4, verifica-se que o brotamento foi significativamente maior na primeira amostragem, principalmente para a CVWS80147, que apresentou maior média que a BRS610. Ao contrario da

Tabela 2. Valores médios da viabilidade celular, brotamento e viabilidade de brotos no início do processo fermentativo, para genótipos de sorgo CVWS80147 e BRS610 em três épocas de colheita, e resultados do teste F e do teste de Tukey.

	Viabilidade Celular	Brotamento	Viabilidade de Brotos
CVWS80147	75,29A	10,92A	88,82A
BRS610	75,45A	13,12A	97,77A
F	0,01ns	2,19ns	2,68ns
DMS	4,33	3,32	12,16
Epoca 1	52,44B	24,87A	93,54A

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

Epoca 2	84,35A	6,55B	92,61A
Epoca 3	89,32A	4,65B	93,75A
F	141,16**	74,89**	0,02*
DMS	6,54	5,00	18,34
CV	5,47	26,28	12,41
Int VxE	5,66**	0,46ns	0,75ns

^{ns} não significativo; * significativo ao nível de 5% de probabilidade; ** significativo ao nível de 1% de probabilidade.

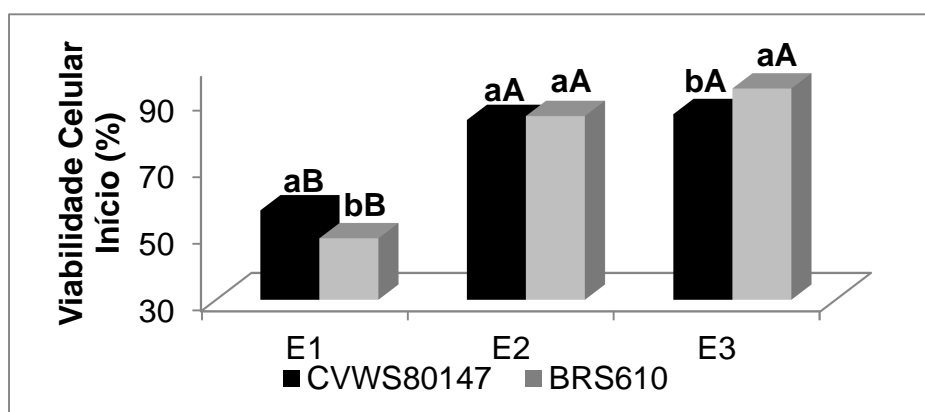


Figura 2: Interação entre os dois genótipos e as três épocas de colheita para o parâmetro viabilidade celular do início da fermentação.

viabilidade celular, o índice de brotamentos foi favorecido pela imaturidade dos genótipos os quais resultaram em mostos aptos ao processo de respiração, explicado anteriormente.

Tabela 3. Valores médios da viabilidade celular, brotamento e viabilidade de brotos no final do processo fermentativo, para genótipos de sorgo CVWS80147 e BRS610 em três épocas de colheita, e resultados do teste F e do teste de Tukey.

	Viabilidade Celular	Brotamento	Viabilidade de Brotos
CVWS80147	67,34B	16,80A	86,10A
BRS610	74,23A	12,46B	87,03A
F	9,36*	28,84**	0,01ns
DMS	5,02	1,79	20,24
Epoca 1	40,89C	34,15A	92,85A
Epoca 2	79,24B	5,09B	79,36A
Epoca 3	92,23A	4,66B	87,50A
F	187,21**	584,11**	0,74ns
DMS	7,57	2,71	30,53
CV	6,75	11,70	22,27
Int VxE	12,80**	12,27**	0,57ns

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

^{ns} não significativo; * significativo ao nível de 5% de probabilidade; ** significativo ao nível de 1% de probabilidade.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o processamento de sorgo em seu estágio ideal de maturação promoveu maior viabilidade de células no processo fermentativo, independentemente do genótipo. Entretanto o processamento de sorgo imaturo resultou em maior multiplicação celular. Não foi observada diferença para o comportamento da levedura CAT-1 quando submetida à fermentação de sorgo forrageiro e sacarino.

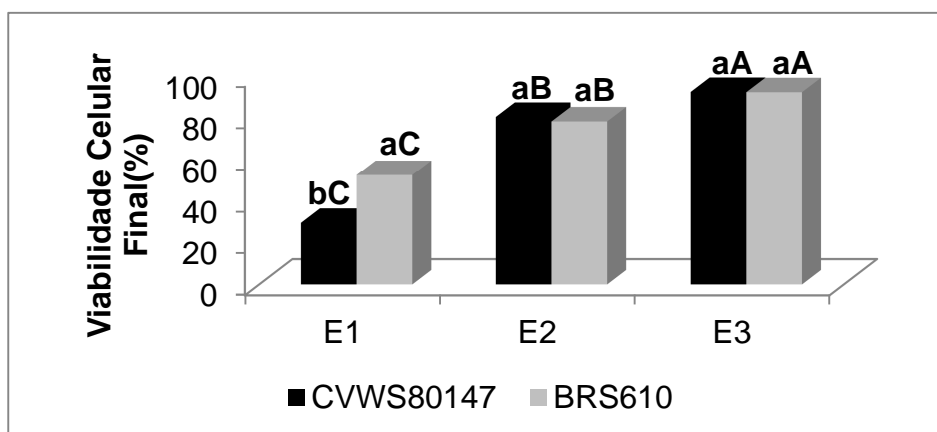


Figura 3: Interação entre os dois genótipos e as três épocas de colheita para o parâmetro viabilidade celular no final do processo fermentativo.

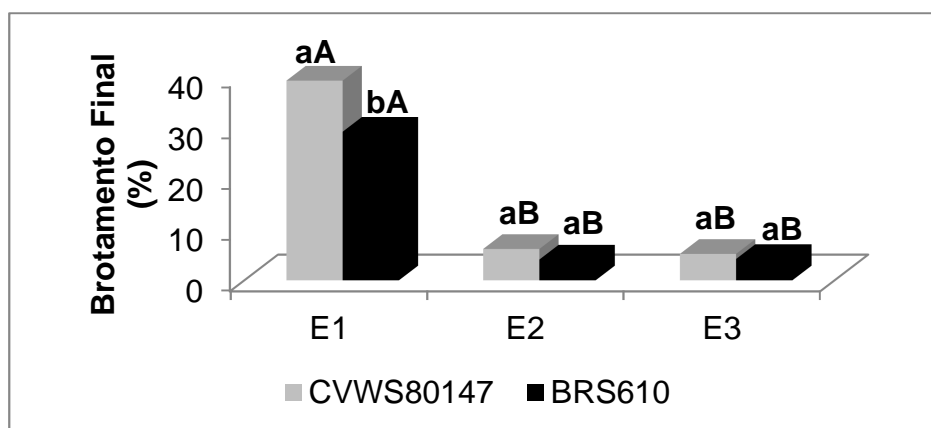


Figura 4: Interação entre os dois genótipos e as três épocas de colheita para o parâmetro brotamento no final do processo fermentativo

LITERATURA CITADA

BISIO, W.; BULANTI, L. **Sorgo Dulce Industrialización.** Workshop Internacional Agro-Industrial sobre sacarino. Piracicaba, 2012.

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

LANE, J. H., EYNON, L. Determination of reducing sugars by Fehling solution with methylene blue indicator. London: Norman Rodger, 1934, 8 p.

LEE, S.S.; ROBINSON, F.M.; WONG, H.Y. Rapid determination of yeast viability. Biotechnology Bioengineering Symposium, n.11 (1981).

SOUZA, V. F. **Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de sorgo sacarino**. 2011. 63f. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2011.

TEIXEIRA, C. G.; JARDINI, J. G.; BEISMAN, D. A.. Utilização do sorgo sacarino como matéria-prima complementar à cana-de-açúcar para a obtenção de etanol em microdestilaria. **Ciência. Technol. Aliment.**, Campinas, v. 17, n. 3, p.221-229, 1997.