

COMPARAÇÃO DE EFICIÊNCIA FERMENTATIVA ENTRE *ZYMOMONAS MOBILIS* E *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* NA PRODUÇÃO DE ETANOL DE PRIMEIRA GERAÇÃO

MARIA CAROLINA GARCIA SILVA¹, VÍVIAN O. LIMA², MÁRCIA L. RIZZATTO³.

¹ Graduanda em Tecnologia em Biocombustíveis, Bolsista PIBITI, IFSP, Câmpus Matão, carolinagsilva99@hotmail.com.

² Professora do IFSP, Câmpus Matão, vivianlima@ifsp.edu.br.

³ Professora do IFSP, Câmpus Matão, marciarizzatto@ifsp.edu.br.

Área de conhecimento (Tabela CNPq): 2.12.02.02-8 Microbiologia Industrial e de Fermentação

Apresentado no
9º Congresso de Inovação, Ciência e Tecnologia do IFSP
11 a 13 de dezembro de 2018 - Boituva-SP, Brasil

RESUMO: Dentre as inúmeras fontes de energias renováveis, a produção de etanol e biodiesel se destaca no Brasil. O principal processo da produção de etanol é a fermentação microbiana, que transforma o caldo da cana-de-açúcar em etanol e CO₂ utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. O objetivo deste projeto é avaliar o rendimento de etanol de fermentações realizadas pela bactéria *Z. mobilis* comparando-o com o rendimento obtido pela levedura *S. cerevisiae*. A metodologia utilizada foi embasada em estudos já realizados com os mesmos microrganismos, realizando fermentações em triplicata tendo o caldo-de-cana como substrato sob condições experimentais semelhantes para os dois microrganismos. Os resultados obtidos mostraram que ambos os microrganismos apresentaram comportamentos semelhantes durante seus processos fermentativos acerca do consumo de substrato e variação do peso da massa celular. A média de produtividade de etanol por *Zymomonas mobilis* foi de 12,98°GL enquanto a de *Saccharomyces cerevisiae* foi de 15,32°GL. Apesar de inferior, a produtividade de etanol por *Zymomonas* mostra-se satisfatória considerando que este tipo de microrganismo não está adaptado ao processo de produção de etanol. Ainda assim, o processo de destilação não atingiu a eficiência máxima, o que mostra a necessidade de aprimoramento desta etapa em pesquisas futuras.

PALAVRAS-CHAVE: microbiologia; fermentação; rendimento; levedura; bactéria.

COMPARATION OF FERMENTATIVE EFFICIENCY BETWEEN *ZYMOMONAS MOBILIS* AND *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* IN PRODUCTION OF FIRST GENERATION ETHANOL

ABSTRACT: The objective of this project is to evaluate the ethanol yield of fermentations performed by *Z. mobilis* bacteria comparing it with the yield obtained by yeast *S. cerevisiae*. The methodology used was based on studies already carried out with the same microorganisms, performing fermentations in triplicate with cane juice as substrate under similar experimental conditions. The results showed that both microorganisms had similar behaviors during their fermentation processes about the substrate consumption and variation of the weight of the cell mass. The average productivity of ethanol by *Zymomonas mobilis* was 12.98°GL whereas that of *Saccharomyces cerevisiae* was 15.32°GL. Although lower, the productivity of ethanol by *Zymomonas* is satisfactory considering that this type of microorganism is not adapted to the process of ethanol production. Even so, the distillation process did not reach maximum efficiency, which shows the need to improve this stage in future research

KEYWORDS: microbiology; fermentation; yield; yeast; bacterium.

INTRODUÇÃO

O microrganismo amplamente utilizado para realizar a fermentação é a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que apresenta rendimento fermentativo de 0,511 gramas de etanol por grama de glicose, considerando um rendimento de 100%, que não pode ser alcançado uma vez que a levedura é

inviabilizada pelo próprio etanol produzido (FONSECA, 2014). A *Saccharomyces cerevisiae* é uma levedura aeróbia facultativa, não patogênica, tendo temperatura ideal para crescimento entre 20 e 30°C, sendo que a faixa de temperatura ideal para fermentação varia entre 26 e 35°C, e o pH entre 4,5 e 5,5 (COELHO, 2013).

A *Zymomonas mobilis*, bactéria Gram-negativa, anaeróbia facultativa, não patogênica, possui características interessantes para a produção de etanol, mostrando-se uma grande concorrente das leveduras originalmente empregadas no processo fermentativo, uma vez que essa possui grande potencial fermentativo em comparação com a levedura utilizada. Além disso, a bactéria apresenta resistência a altos teores de glicose e etanol (SANTOS, 2012), apresenta facilidades de cultivo excepcionalmente interessantes, como resistência a altas temperaturas e menor índice de produção de biomassa celular como resíduo (ERNANDES; GARCIA-CRUZ, 2009). Tais informações exemplificam a importância de se avaliar o potencial de *Zymomonas mobilis* na produção de etanol, a fim de otimizar o processo.

A partir disso, este projeto tem como objetivos avaliar o potencial fermentativo da bactéria *Zymomonas mobilis*, comparar resultados fermentativos da bactéria *Zymomonas mobilis* com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e testar a qualidade do etanol fermentado por *Zymomonas mobilis* e por *Saccharomyces cerevisiae*.

MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente foi necessário realizar a pré-fermentação para que houvesse a propagação dos inóculos antes do início da fermentação. O meio de pré-fermentação da bactéria *Z. mobilis* foi preparado seguindo a metodologia empregada no estudo de Lobato (2003), utilizando sacarose 100 g/L, extrato de levedura 2 g/L, KH_2PO_4 2 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g/L e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 g/L. A etapa foi realizada em triplicata, em três kitassatos (denominados A, B e C) com válvula air lock, incubados a 35°C por 24 horas. Para a pré-fermentação por *S. cerevisiae* foi preparada uma solução de leveduras de concentração 10 g/L. As células do microrganismo reidrataram por 6 horas. Em seguida, 1 mL dessa solução foi transferido para cada kitassato contendo 120 mL de caldo de cana, como na Figura 6. Os três kitassatos (denominados A, B e C) foram acoplados à válvula air lock e incubados a 30°C por 24 horas.

A fermentação também foi realizada em triplicata, sendo que os kitassatos utilizados foram nomeados como A, B e C a fim de diferenciá-los. Tais vidrarias previamente autoclavadas, acoplados a válvula air lock, sem agitação. O conteúdo total dos pés de cuba A, B e C foi transferido para kitassatos de 2 litros e estéreis, e cerca de 480 mL de caldo de cana (15,3° Brix para a bactéria e 14,5° Brix para a levedura; pH 5,5) foram adicionados aos kitassatos. Toda a manipulação do caldo e dos inóculos foi feita dentro de fluxo laminar e na presença de chama para evitar quaisquer tipos de contaminantes nos sistemas fermentativos. Os kitassatos A, B e C já com o substrato e o fermento foram incubados a 30°C por 48 horas. Durante a fermentação, foram feitas análises de variação de °Brix e de peso da massa celular de cada microrganismo nos tempos de 24 e 48 horas, a fim de acompanhar a evolução do processo.

Após a fermentação, é necessário que o etanol produzido seja extraído do vinho, por meio do processo de destilação. O equipamento utilizado neste processo foi o rotaevaporador que destila o vinho elevando a temperatura deste, volatilizando o etanol. Quando o etanol evapora, ele passa por um condensador que o retorna ao estado líquido, transferindo-o para o balão acoplado na saída do condensador. O diferencial deste equipamento é que o balão que contém o vinho rotaciona dentro do banho-maria, e o sistema todo é pressurizado por uma bomba de vácuo, que torna o processo mais rápido. Nesta etapa, aproximadamente 500 mL de vinho foram destilados ao longo de 1 hora em banho-maria à 85°C, sob rotação de 40 rpm e pressão de -400 mmHg. Tais condições foram experimentadas previamente, devido à insuficiência de dados teóricos a respeito do equipamento em questão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por motivos técnicos do laboratório em específico, a destilação não ocorreu de forma a atingir sua máxima eficiência pois o equipamento rotaevaporador utiliza muita energia elétrica, o que inviabiliza seu funcionamento por grandes períodos de tempo. A bomba de vácuo utilizada também não pode operar por muito tempo pois superaquece. Tais limitações fizeram com que nem todo o etanol fosse extraído do vinho, impossibilitando a quantificação do teor total de etanol no vinho. Os resultados obtidos no processo estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1. Resultados da fermentação

	<i>S. cerevisiae</i>		<i>Z. mobilis</i>	
	Volume de etanol	Teor alcoólico	Volume de etanol	Teor alcoólico
A	173 mL	14,48°GL	150 mL	12°GL
B	122 mL	8,73°GL	190 mL	14,69°GL
C	140 mL	22,77°GL	153 mL	12,25°GL

Uma vez que os valores obtidos apresentaram diferenças entre si, o cálculo do desvio padrão foi feito para avaliar a precisão dos resultados. O desvio padrão dos resultados dos teores alcoólicos obtidos pela levedura foi 7,058, enquanto o desvio dos resultados da bactéria foi de 1,48. Apesar da média dos resultados da levedura ter sido maior, 15,32°GL contra 12,98°GL da bactéria *Z. mobilis*, os valores do desvio padrão das análises mostra que os resultados obtidos pela bactéria se mostram mais consistentes. Os resultados da levedura *Saccharomyces cerevisiae* podem ter sido influenciados pelas limitações técnicas supracitadas. Para resultados mais consistentes, é necessário que o processo de destilação seja otimizado, utilizando equipamentos automáticos a fim de atingir a máxima eficiência do processo.

CONCLUSÕES

A partir da realização deste projeto, foi possível atestar o potencial fermentativo da bactéria *Zymomonas mobilis* em comparação com o apresentado pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* na produção de etanol de primeira geração, tendo como substrato o caldo de cana comumente utilizado pela indústria sucroalcooleira.

Apesar dos resultados do teor alcoólico do etanol produzido por *Zymomonas mobilis* terem apresentado média inferior em comparação ao teor do etanol produzido por *Saccharomyces cerevisiae*, é importante ressaltar que esta é uma bactéria não-adaptada ao processo produtivo do etanol e, mesmo assim, apresentou potencial fermentativo muito próximo ao da levedura. Ademais, a etapa de destilação pode e deve ser otimizada com o intuito de atingir a sua máxima eficiência, possibilitando assim, resultados cada vez mais precisos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela bolsa de iniciação tecnológica, à minha família pelo apoio incondicional, e a todos os técnicos do laboratório pelo suporte para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

COELHO, P. *Saccharomyces cerevisiae*. <http://www.engquimicasantosp.com.br/2013/09/saccharomyces-cerevisiae.html>, 2013. Acesso em 27/05/2017.

ERNANDES, F. P. G.; GARCIA-CRUZ, H. C. *Zymomonas mobilis*: um microrganismo promissor para a fermentação alcoólica. 2009. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 30, n. 2, p. 361-380. Acesso em: 04/06/2017.

FONSECA, G. C. Modelagem e simulação de uma destilaria autônoma de produção de etanol de primeira geração (E1G). 2014. 114 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) — Universidade Federal de São Carlos. Acesso em 04/06/2017.

LOBATO, A. V. Produção de oligossacarídeos por *Zymomonas mobilis*. 2003. 58 p. Dissertação (Mestrado em Produtos bioativos) — Universidade Federal de Pernambuco. Disponível em: <http://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/1339>. Acesso em 18/10/2017.

SANTOS, D. S. Produção de etanol de segunda geração por *Zymomonas mobilis* naturalmente ocorrente e recombinante, empregando biomassa lignocelulósica. 2012. 243 p. Tese (Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) — Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Acesso em 12/04/2017.