



INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL DE PRÉ-TRATAMENTO FÚNGICO COM *Trichoderma sp.* EM SUBSTRATO ORGÂNICO PARA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DE *Saccharomyces cerevisiae*

Thaysa M. R. Rodrigues¹; Camila de O. Gomes¹; Marlon C. M. Guimarães¹; Thaís de A. Alves¹; Fernanda Borges²

¹ alunos de curso técnico em química do Colégio Dom Feliciano, Gravataí –RS

² professora orientadora de curso técnico em química do Colégio Dom Feliciano, Gravataí –RS

INTRODUÇÃO

A busca por novas fontes renováveis para produção de combustíveis é um tema que vem sendo largamente estudado na comunidade acadêmica. Por isso, a fermentação de substratos ricos em celulose representa um grande avanço científico. Compostos orgânicos, como cascas de fruta, possuem uma grande reserva de monossacarídeos que estão presos em uma molécula, a celulose. Enquanto esses monossacarídeos estiverem conectados por ligações químicas não servem de alimento para a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em um processo de fermentação alcoólica. Por isso, são necessárias reações enzimáticas prévias para que possam ser separados e posteriormente transformados em álcool pela ação microbiana. Tendo em vista que, o fungo *Trichoderma sp.* é um organismo capaz de degradar a molécula de celulose, se executou análises com o objetivo de verificar se um tratamento fúngico do substrato escolhido seria capaz de liberar os açúcares simples para posterior fermentação por levedura *S. cerevisiae*, aumentando por consequência a quantidade de álcool produzido no processo. Porém, é esperado que o fungo *Trichoderma sp.* realize a quebra da celulose para a sua sobrevivência, pois absorve as moléculas de glicose liberadas no meio de cultura. Esse fato justifica o tema da pesquisa, pois é necessário comparar a velocidade da absorção dos monossacarídeos com a velocidade da quebra da celulose pelo fungo para se verificar se haverá aumento da disponibilidade de açúcares fermentescíveis para as leveduras.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para as presentes análises foram utilizadas cascas de banana, previamente trituradas e acrescidas de água, formando um líquido pastoso, como pode ser visto na figura 1. Afim de evitar a contaminação por outros de outros fungos, foi autoclavada a 127°C e 1,5kgf/cm². Após a esterilização, amostra foi imersa em um banho de gelo, para baixar a temperatura, pois a adição do fungo *Trichoderma sp.* O fungo *Trichoderma sp.* foi adicionado no substrato seguindo a orientação recomendada pelo fabricante, para cada quilograma de substrato deverão ser utilizadas cinco gramas do fungo. Parte do substrato preparado foi separado e fermentado por quatro dias com *S. cerevisiae* de alta fermentação, adicionada segundo especificações técnicas do fabricante, sem a presença do fungo *Trichoderma sp.* como agente a quebra celulósica. Essa análise gerou a amostra intitulada “amostra padrão”, que foi utilizada como comparativa para verificar se o pré-tratamento fúngico proposto contribui ou não para o aumento de álcool produzido na etapa de fermentação alcoólica.

Outra parte do substrato foi submetida ao pré-tratamento fúngico, conforme sequência de etapas da figura 2. Para isso, foi colocada dentro do biorreator, onde foi agitada quatro vezes ao dia por um período de até trinta minutos e oxigenada a cada duas horas. A amostra ficou sete dias em contato com o fungo, sendo recolhidas amostras para o teste de brix. A amostra presente no biorreator contaminada pelo fungo foi autoclavada para inativar o fungo *Trichoderma sp.* pois se acredita que sua presença pode inibir a atuação das leveduras. Após a autoclavagem, a amostra foi imersa em um banho de gelo, para baixar a temperatura até no máximo 35°C, pois a adição da levedura em temperaturas tão altas pode ocasionar a sua deterioração. A fermentação ocorreu em quatro dias. Após esse período, o substrato foi fermentado, gerando a amostra intitulada “1º amostra”, da mesma maneira que a amostra padrão já havia sido fermentada.



Figura 1. Substrato a base de casca de banana triturada e autoclavada.

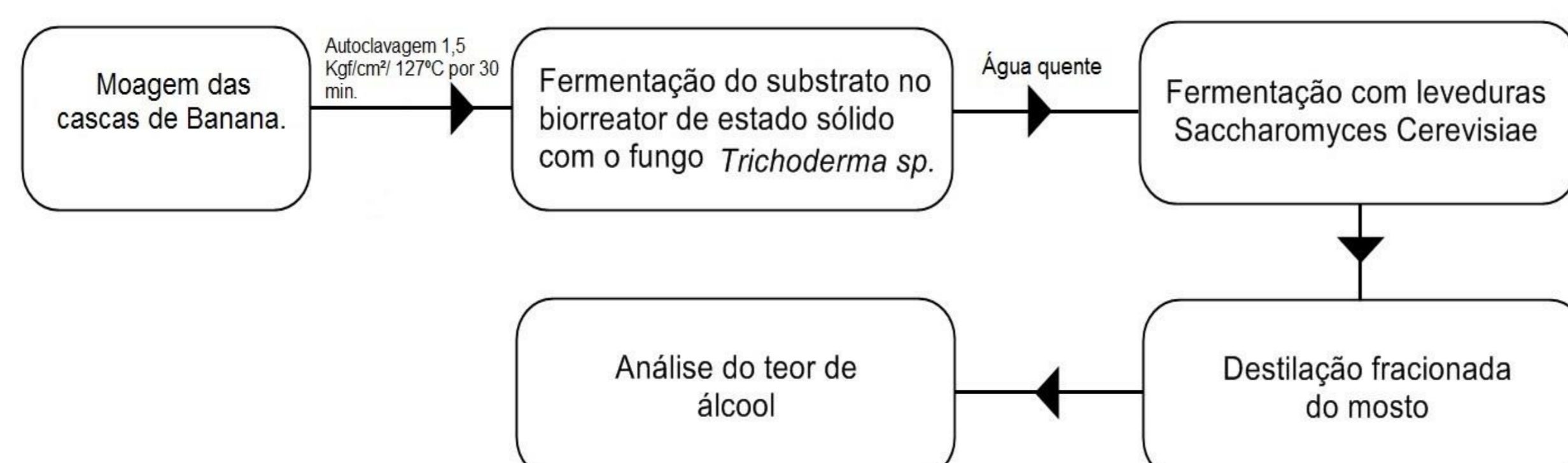


Figura 2. Diagrama de blocos das etapas de executadas para o substrato submetido ao pré-tratamento fúngico.



Figura 3. Fermentador alcoólico utilizado nos experimentos.



Figura 4. Biorreator de cultivo em estado sólido desenvolvido.

RESULTADOS E DICUSSÕES

As amostras de pasta de banana removidas durante a etapa de cultivo sólido em biorreator foram submetidas análise de Brix. No primeiro cultivo, substrato autoclavado a 127°C, a pasta de banana apresentou uma concentração de açúcar fermentável de 2g em 100g de substrato antes e depois da batelada de 7 dias. Devido a constância da quantidade de açúcar foi decidido realizar três análises na segunda batelada, substrato autoclavado a 100°C, no início, no meio e no final. Em 100g de substrato obteve-se o valor inicial de 2,5g, valor que chegou a zero na análise realizada em 2 dias de cultivo e voltou a aumentar no final da batelada para 2g. Essa variação na quantidade de açúcar no substrato sugere que o fungo *Trichoderma sp.* consumiu os açúcares simples do substrato quando foi posto em contato, porém, após o consumo total dos monossacarídeos o fungo iniciou a quebra enzimática da celulose. Esse fato, apesar de evidenciando em apenas uma batelada, é bastante promissor e motiva novas pesquisas que poderiam encontrar o ponto ideal de finalização do cultivo em meio sólido afim de atingir o maior índice de açúcares fermentescíveis. Aos valores alcoólicos obtidos de cada destilação tiveram baixa rentabilidade em função do baixo teor de açúcares, resultado já esperado na leitura do Brix, isso pode ser notado durante a destilação fracionada do mosto. Todas as amostras, inclusive na amostra padrão, ultrapassaram rapidamente o seu ponto de ebulição, não ficando mais do que um minuto estacionada em 78 a 85°C, que é ponto de ebulição do álcool etílico. Embora os valores sejam baixos, o segundo teste mostrou-se mais eficiente, a isso podemos atribuir algumas hipóteses positivas:

- Redução do tempo da amostra no biorreator.
- Autoclavagem abaixo de 100°C para degradação do fungo. A alta temperatura pode ocasionar a caramelização dos açúcares ali presentes, impedindo com que a levedura *S. cerevisiae* alimente-se e gere álcool.

O bagaço que sobra da filtragem do mosto mostrou-se um eficiente adubo, porém deve ser misturado a terra, pois as mudas de plantas que foram colocadas neste excedente puro, não resistiram já que após duas semanas, nesta amostra proliferaram-se fungos, fato este que não ocorreu na primeira amostra, com o bagaço misturado com a terra.

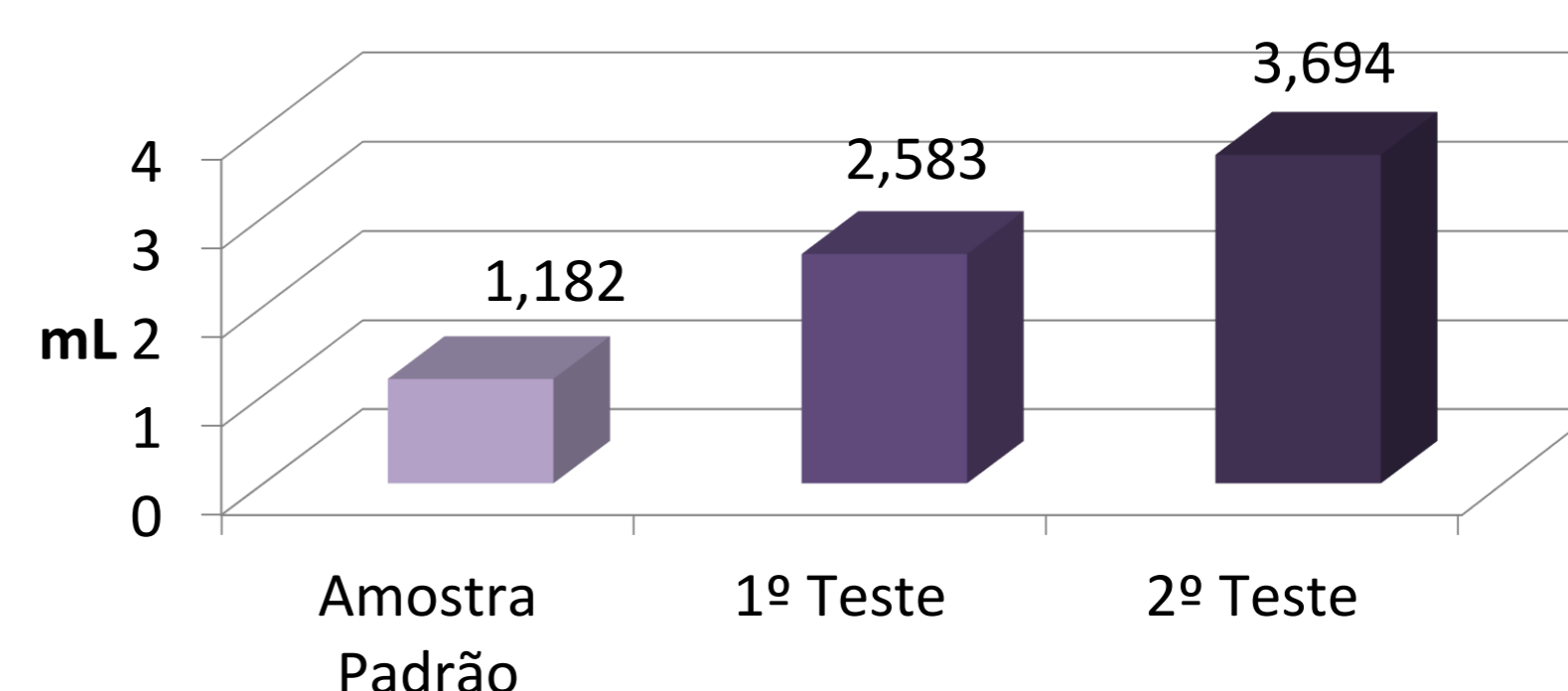


Figura 5. Quantidade de álcool obtido pela destilação fracionada do mosto fermentado.

CONCLUSÕES

Foi possível obter um acréscimo no teor de álcool final obtido no mosto fermentado de 0,10% da amostra de referência, sem pré-tratamento fúngico, para 0,31% para amostra com pré-tratamento fúngico. Portanto, o objetivo principal de produção alcoólica por fermentação da levedura *S. cerevisiae* através da implantação de tratamento com o fungo do gênero *Trichoderma sp.* foi atingido. Apesar de pequeno ganho de rendimento, o resultado obtido demonstra o potencial do método desenvolvido. O biorreator de cultivo em estado sólido de escala laboratorial utilizado no estudo foi idealizado e fabricado pelo próprio grupo de pesquisa, utilizando materiais de baixo custo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SOUZA O.; SCHULZ A. M.; FISHER A. A. G.; WAGNER M. T.;SELLIN N. Energia alternativa de biomassa: bioetanol a partir da casca e da polpa de banana. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 16, n. 8, p. 915-921, 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-43662012000800015&script=sci_arttext. Acesso em: 16 de jan. 2015.