

ESTUDOS SÔBRE OBTENÇÃO DE LEVEDURA ALIMENTAR EM SUBSTRATOS DE VINHAÇA

A. SERZEDELLO, A. P. NUEVO MIGUEL,

I. J. BARSANTE DE CAMARGO e G. BARBIERI

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de R. Claro, S.P.

INTRODUÇÃO

Serão sempre louváveis os esforços que se fizerem no sentido de se conhecerem melhor as condições de obtenção de massas celulares de levedura alimentar, sobretudo aproveitando resíduos industriais ou substratos de baixo custo.

O aproveitamento da vinhaça como substrato para crescimento de leveduras já está se desenvolvendo entre nós, e, uma vez que os rendimentos são ainda baixos e as leveduras obtidas são pobres, planejamos a presente pesquisa para tentar uma maneira que possibilitasse melhor produção, e de levedura mais rica, usando o referido resíduo da indústria açucareira.

Países mais adiantados que o nosso estão explorando a proteína microbiana com bastante intensidade (WONNEBERGER, 1959) e há entre nós, além do aspecto tecnológico e científico da produção da proteína, o aspecto do modo como esse alimento poderia ser aceito e consumido, por animais e pelo homem.

Pelas informações de que dispomos, as poucas instalações existentes entre nós, capazes de produzirem levedura para rações não estão funcionando a toda capacidade, por falta de mercado para sua produção.

Quando consideramos a composição química das leveduras (HSU, 1961), tanto a chamada de cervejaria, como o grupo das torulas, desejamos enfatizar a necessidade de se buscarem maneiras tendentes a uma larga introdução desse alimento tanto para o homem como para os animais.

Ainda mais que, muita vinhaça é desprezada nos rios no momento, entendemos que nossos resultados parciais teriam já algum valor no estudo desse problema.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Pesquisa do melhor substrato

A levedura usada no presente experimento foi a *Torula utilis* — I. Z. 1166, mantida em meio de nutriente agar, sempre em cultura recente.

A vinhaça empregada procedeu da “Société des Sucreries Bresiliennes” de Piracicaba, amostra recém coletada e que no laboratório foi separada do seu resíduo de decantação.

Verificamos que o resíduo da vinhaça era rico de células de levedura e então fizemos um autolizado da maneira usual, autolizado êste que entrou na constituição dos substratos, isolado ou combinado com a parte sobrenadante da vinhaça.

Foram verificados os efeitos da adição de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ e glicose à vinhaça, isolada ou acompanhada do resíduo autolizado, conforme o quadro I.

Os ensaios de cultivo foram realizados em frascos Erlenmeyers de 500ml de capacidade, com 90ml de substrato, inoculados com 10ml do mesmo meio, onde a levedura foi pré-desenvolvida.

Uma vez inoculados, os frascos foram colocados em mesa rotativa para o desenvolvimento, durante 3 dias, à temperatura ambiente.

Uma vez esgotado o substrato, separava-se a massa celular por centrifugação, lavando-a com água destilada e secando-se a 100°C até peso constante.

Determinações de nitrogênio total foram realizadas, pelo método Kjeldahl semi-micro, em aparelho de destilação todo em vidro modificado, segundo Kirk.

2. Ensaio de adaptação da levedura a meios de concentração crescente de vinhaça

Partindo de uma cultura de *Torula utilis* — I. Z. 1166, em meio de peptona-glicose, a que chamamos meio completo para levedura, fomos fazendo transferências sucessivas para meios de vinhaça em concentração progressiva, diminuindo a proporção de meio de peptona-glicose, até atingir a vinhaça pura, conforme vemos no quadro II. logo mais adiante.

A composição do meio de peptona-glicose usado neste experimento foi a seguinte:

peptona	10 gramas
extrato de levedura	20 ml
fosfato monopotássico	5 gramas
glicose	20 gramas
água destilada q.s.p.	1000 ml

Igualmente, os substratos foram colocados em frascos Erlenmeyers de 500ml de capacidade, com 90ml de meio e, uma vez adicionado o inóculo de 10ml, os frascos eram colocados em mesa agitadora, durante 6 dias para o desenvolvimento, um prazo pouco maior portanto, que nos casos anteriores.

RESULTADOS

Procurando o melhor substrato, à base de vinhaça, para obtenção de massa celular de levedura encontramos os seguintes resultados, conforme quadro I, abaixo:

QUADRO I'

Meio de Cultura		Levedura obtida			
n.	Composição	Matéria seca gramas / litro	N. %	Proteína bruta	
				Total g	%
1	Vinhaça adicionada de: resíduo autolizado 10%	5,075	6,60	2,09	41,25
2	Vinhaça	3,300	5,90	1,22	36,88
3	Resíduo autolizado	5,322	4,70	1,56	29,38
4	Vinhaça adicionada de: resíduo autolizado 10%				
	(NH ₄) ₂ HPO ₄ 0,1%	5,555	8,10	2,81	50,63
5	Vinhaça adicionada de: resíduo autolizado 10%				
	glicose 1%	5,323	7,05	2,35	44,06
6	Vinhaça adicionada de: resíduo autolizado 10%				
	glicose 1%				
	(NH ₄) ₂ HPO ₄ 0,1%	4,577	7,15	2,05	44,69

O ensaio de adaptação da levedura para o crescimento em vinhaça foi feito em meio completo para levedura, que foi recebendo porcentagens crescentes de vinhaça, até total eliminação do meio completo, conforme quadro II, a seguir:

QUADRO II

N.º do melo	% de vinhaça no substrato	Levedura obtida			
		Matéria seca g. / l.	Nitrogênio total %	Proteína bruta	
				Total g.	%
7	0,0	6,020	6,70	2,52	41,68
8	5,0	3,677	8,00	1,87	50,00
9	10,0	5,199	7,90	2,47	49,32
10	15,0	5,398	6,60	2,23	41,30
11	20,0	5,577	6,20	2,17	38,30
12	25,0	5,825	7,20	2,61	45,00
13	30,0	7,015	6,40	2,80	40,00
14	35,0	6,662	6,30	2,59	39,30
15	40,0	5,710	5,00	1,77	31,30
16	45,0	5,975	5,25	1,96	32,80
17	50,0	6,309	5,35	2,11	33,40
18	55,0	6,460	4,50	1,82	28,20
19	60,0	6,980	4,70	2,05	29,40
20	65,0	6,345	3,65	1,45	22,81
21	70,0	6,318	4,60	1,82	28,80
22	75,0	5,173	4,50	1,46	28,20
23	80,0	4,905	4,85	1,49	30,30
24	85,0	4,476	4,35	1,21	27,20
25	90,0	3,921	*	*	*
26	95,0	4,683	*	*	*
27	100,0	0,519	*	*	*

(*) Não foi possível determinar, por se terem perdido as amostras.

QUADRO III

Comparação dos rendimentos, tomando o meio da vinhaça como de 100%

Meio de Cultura		Rendimentos comparativos		
n.	Composição	Nitrogênio	Proteína	Mátéria seca
1	Vinhaça adicionada de: resíduo autolizado 10%	111,2	112,0	151,5
2	Vinhaça	100,0	100,0	100,0
3	Resíduo de vinhaça autol.	79,6	79,5	160,5
4	Vinhaça adicionada de: resíduo autolizado 10% (NH ₄) ₂ HPO ₄ 0,1%	137,3	137,5	166,5
5	Vinhaça adicionada de: resíduo autolizado 10% glicose 1%	119,5	119,5	160,5
6	Vinhaça adicionada de: resíduo autolizado 10% glicose 1% (NH ₄) ₂ HPO ₄ 0,1%	121,0	121,0	139,5

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A observação dos quadros I e II permite concluir que a vinhaça isoladamente é um substrato pobre para a obtenção de massa celular de levedura. Com a simples adição do seu próprio resíduo autolizado, é possível melhorar em cerca de 50% sua capacidade alimentadora de *Torula* para fornecimento de massa celular e em cerca de 12% sua capacidade formadora de compostos nitrogenados (quadro III).

Nossos dados permitem também a interessante conclusão de que a adição de glicose à vinhaça não melhorou sua capacidade de fornecer proteína, mas sim sua capacidade de fornecer massa celular. Cumpre ainda ressaltar, que nossos experimentos comprovaram a nítida deficiência da vinhaça em nutrientes fosfatados e nitrogenados, uma vez que a adição de (NH₄)₂HPO₄ proporcionou aumento de cerca de 66% de matéria seca e cerca de 37% de compostos nitrogenados.

Ficou evidente também que novos experimentos devem ser feitos, com outras doses de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, devendo-se ainda testar outras combinações de meios, assim como outros sais fornecedores de P e de N.

SUMMARY

Submerged cultures of *Torula utilis* — I. Z. 1166 were carried out on peptone-glucose media. in comparison with substrates of vinasse with increasing concentrations.

Vinasse substrates were supplemented with $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, glucose or with the own autolised sediment.

The obtained celular material from each tested medium was weighted and total N determined. It was concluded that the yeast dry substance produced and its total protein on the vinasse medium enriched with $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ plus its own autolised sediment were the best one. This substrate produced dry celular material with 50, 63% of protein.

It was also concluded that addition of P and N in vinasse and not of glucose determined the best performance for yeast development.

LITERATURA CITADA

WONNEBERGER, W., 1959 — Instalação do sistema Le François para cultivo de leveduras para fins alimentar e de ração. *Die Branntweinwirtschaft* 81 (12), junho.

HSU, Wan-Chun, 1961 — Protein from sugar on Taiwan. *Sugar y azucar*, 56 (7): 33-36.