

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS – UFGD
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS – FCBA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

AMANDA RIBEIRO VELOSO

UTILIZAÇÃO DO VINHOTO COMO SUBSTRATO PARA A GERAÇÃO DE
BIOMASSA MICROBIANA

Dourados/MS

2020

AMANDA RIBEIRO VELOSO

**UTILIZAÇÃO DO VINHOTO COMO SUBSTRATO PARA A GERAÇÃO DE
BIOMASSA MICROBIANA**

Trabalho de Conclusão de Curso na forma de artigo científico seguindo as normas da revista Ciência Rural apresentado à Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, para obtenção do Título de Bacharel em Biotecnologia, sob orientação da Prof.^a Dr.^a Danielle Marques Vilela.

Área de Concentração: Microbiologia Industrial e de Fermentação

Dourados/MS

2020

AMANDA RIBEIRO VELOSO

**UTILIZAÇÃO DO VINHOTO COMO SUBSTRATO PARA A GERAÇÃO DE
BIOMASSA MICROBIANA**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado
pela Banca Examinadora como requisito
parcial para obtenção do título de Bacharel
em Biotecnologia, da Universidade Federal
da Grande Dourados.

Área de Concentração: Microbiologia
Industrial e de Fermentação

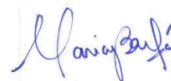
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Danielle Marques
Vilela

Aprovado em: 15 de setembro de 2020

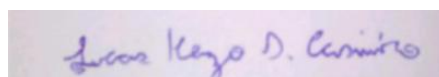
BANCA EXAMINADORA



Prof^ª. Dr^ª. Danielle Marques Vilela
Presidente



Prof^ª. Dr^ª. Maricy Raquel Lindenbah Bonfá
Membro



Mestrando Lucas Kenzo Shimabukuro Casimiro
Membro

*Dedico à minha mãe Angela, isso só
valeu a pena pois você esteve ao
meu lado em todos os momentos.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe, Angela, por sempre acreditar em meu potencial e seus sacrifícios para me dar a oportunidade de estudar na UFGD.

Às minhas amigas, Wênia, Mariana e Nathália, que sempre estiveram ao meu lado nos momentos de alegria e de tristeza durante a jornada acadêmica.

À professora Danielle, por ter me dado a oportunidade de trabalhar com uma profissional de tanto talento e sabedoria.

A todos os professores e colaboradores da UFGD, em especial os da Biotecnologia, que me passaram conhecimento e auxiliaram na minha formação.

A todos, obrigada.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Contagem populacional (UFC.mL ⁻¹) da levedura <i>R. mucilaginosa</i> nos tratamentos com melhores produtividades ao longo do cultivo.....	8
Figura 2. Contagem populacional (UFC.mL ⁻¹) da levedura <i>L. elongisporus</i> nos tratamentos com maiores produtividades ao longo do cultivo.....	10

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Níveis mínimos e máximos das variáveis testadas para o delineamento experimental Plackett-Burman.....	6
Tabela 2. Produção de biomassa microbiana e produtividade após 168 h de incubação da levedura <i>R. mucilaginosa</i> em diferentes tratamentos, utilizando o delineamento experimental Plackett-Burman.....	7
Tabela 3. Produção de biomassa microbiana e produtividade após 168 h de incubação das leveduras <i>L. elongisporus</i> em diferentes tratamentos utilizando o delineamento experimental Plackett-Burman.....	9
Tabela 4. Efeitos dos fatores considerados no delineamento Plackett-Burman na produção de biomassa (g.L^{-1}) pela levedura <i>L. elongisporus</i>	11

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUÇÃO.....	4
MATERIAIS E MÉTODOS.....	5
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	7
CONCLUSÃO.....	12
REFERÊNCIAS.....	13

1 **UTILIZAÇÃO DO VINHOTO COMO SUBSTRATO PARA A GERAÇÃO DE**
2 **BIOMASSA MICROBIANA**
3 **VINASSE AS A SUBSTRATE FOR MICROBIAL BIOMASS GENERATION**

4 Amanda Ribeiro Veloso, Danielle Marques Vilela*

5 **RESUMO**

6 O vinhoto é o resquício pastoso e malcheiroso da destilação fracionada do caldo de cana-de-
7 açúcar fermentado para a obtenção do etanol combustível e da cachaça. Possui abundância de
8 matéria orgânica, alta corrosividade por possuir baixo pH e elevada demanda bioquímica de
9 oxigênio, tornando-se altamente prejudicial tanto à fauna quanto à flora de águas doces e
10 marinhas. Apesar das desvantagens, o vinhoto é muito nutritivo para o cultivo de
11 microrganismos, para a produção de biomassa microbiana, com diferentes aplicações
12 agroindustriais, sendo uma delas o enriquecimento do valor nutricional de rações animais. O
13 objetivo deste trabalho foi quantificar a biomassa microbiana formada tendo como substrato o
14 vinhoto. Foram previamente selecionados dois isolados de leveduras pertencentes à coleção
15 de culturas iniciadoras do Grupo de Pesquisas em Fermentações (GEFER) da Faculdade de
16 Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados
17 (UFGD). Sendo eles um isolado de *Lodderomyces elongisporus* e um isolado de *Rhodotorula*
18 *mucilaginoso*. Os isolados foram anteriormente caracterizados como secretores de celulasas,
19 pectinases e amilases extracelulares. O vinhoto utilizado foi gerado no Laboratório de
20 Bioquímica da FCBA/UFGD durante a produção da cachaça de cana-de-açúcar. O desenho

*Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. Email: daniellevilela@ufgd.edu.br

1 experimental foi baseado no modelo proposto por Plackett e Burman. As variáveis testadas
2 foram concentração no meio de extrato de levedura, glicose, peptona e fosfato de potássio,
3 quantidade de vinhoto adicionado, pH do meio e temperatura de incubação. A contagem
4 populacional (UFC.mL⁻¹) nos cultivos foi determinada a cada 24 h pelo método de
5 espalhamento em superfície em meio YPD (Yeast, Peptone, Dextrose), sendo as placas
6 incubadas a 30° C, por 48 h. A biomassa produzida após 168 h foi mensurada pelo método de
7 secagem em estufa a 105 °C até peso constante. Para a levedura *R. mucilaginosa* a maior
8 quantidade de biomassa produzida foi para o tratamento 3 (1,002 g . L⁻¹) , neste tratamento
9 foram testadas as maiores concentrações de extrato de levedura e peptona, a menor
10 concentração de vinhoto (10 % v/v), pH 5 e temperatura de incubação de 28 °C. A levedura *L.*
11 *elongisporus* expressou resultados estatisticamente significativos, sendo o tratamento 8
12 (51,416 g . L⁻¹ de biomasa) o mais vantajoso, por apresentar em sua composição a maior
13 quantidade de vinhoto (50 % v/v) e não ser estatisticamente diferente do tratamento 10 (10 %
14 v/v de vinhoto), segundo melhor tratamento, e com rendimento de apenas 22,32 % inferior
15 que o melhor tratamento. As variáveis vinhoto, glicose e pH apresentaram efeitos
16 significativos para a produção de biomassa com a levedura *L. elongisporus*.

17 **Palavras-chave:** etanol, biotecnologia, resíduo.

18 **ABSTRACT**

19 Vinasse is the pasty and smelly remnant of the fractional distillation of fermented sugar cane
20 juice to obtain fuel ethanol and cachaça. It has an abundance of organic matter, high
21 corrosivity due to its low pH and high biochemical oxygen demand, making it highly harmful
22 to both fauna and flora in fresh and marine waters. Despite the disadvantages, vinhoto is very
23 nutritious for the cultivation of microorganisms, for the production of microbial biomass, with
24 different agro-industrial applications, one of which is the enrichment of the nutritional value
25 of animal feed. The objective of this work was to quantify the microbial biomass formed

1 using the vinasse as substrate. Two yeast isolates belonging to the collection of starter
2 cultures of the Fermentation Research Group (GEFER) of the Faculty of Biological and
3 Environmental Sciences (FCBA) of the Federal University of Grande Dourados (UFGD) were
4 previously selected. They are an isolate of *Lodderomyces elongisporus* and an isolate of
5 *Rhodotorula mucilaginosa*. The isolates were previously characterized as secretors of
6 cellulases, pectinases and extracellular amylases. The vinhoto used was generated at the
7 Biochemistry Laboratory of FCBA/UFGD during the production of sugarcane cachaça. The
8 experimental design was based on the model proposed by Plackett and Burman. The tested
9 variables were concentration in the medium of yeast extract, glucose, peptone and potassium
10 phosphate, amount of vinasse added, pH of the medium and incubation temperature. The
11 population count (UFC.mL⁻¹) in the cultures was determined every 24 h by the method of
12 surface spreading in YPD medium (Yeast, Peptone, Dextrose), the plates being incubated at
13 30 ° C for 48 h. The biomass produced after 168 h was measured using the drying method in
14 an oven at 105 ° C until constant weight. For *R. mucilaginosa* yeast the largest amount of
15 biomass produced was for treatment 3 (1.002 g. L⁻¹), in this treatment the highest
16 concentrations of yeast extract and peptone, the lowest concentration of vinasse (10 % v/v),
17 pH 5 and incubation temperature of 28 ° C. The yeast *L. elongisporus* expressed statistically
18 significant results, with treatment 8 (51.416 g. L⁻¹ of biomass) being the most advantageous,
19 as it contains the largest amount of vinasse (50 % v/v) and is not statistically different of
20 treatment 10 (10 % v/v of vinasse), second best treatment, and yielding only 22.32 % lower
21 than the best treatment. The variables vinasse, glucose and pH showed significant effects for
22 the production of biomass with the yeast *L. elongisporus*.

23 **Key words:** ethanol, biotechnology, residue.

1 INTRODUÇÃO

2 Na produção de etanol, o Brasil é o segundo maior produtor do mundo, sendo o
3 primeiro na produção de etanol a partir da cana-de-açúcar. A safra de 2019/20 gerou 34
4 bilhões de litros de etanol produzidos a partir da cana-de-açúcar, sendo 10,12 bilhões
5 corresponderam ao etanol anidro e 23,89 bilhões de litros de etanol hidratado. No Mato
6 Grosso do Sul, cerca de 88% da produção de cana-de-açúcar de 2019/20 foi direcionada para
7 a síntese de etanol, produzindo 3,3 bilhões de litros do biocombustível. No entanto,
8 dependendo da metodologia, a cada 1 litro de álcool produzido, na etapa de destilação são
9 gerados aproximadamente 12 litros de resíduos conhecido como vinhoto, vinhaça ou restilo
10 (Conab, 2020).

11 O vinhoto é o resquício pastoso e malcheiroso da destilação fracionada do caldo de
12 cana fermentado para a obtenção do etanol, e, por sua abundância de matéria orgânica, alta
13 corrosividade por possuir baixo pH (4,5-4,7) e elevada demanda bioquímica de oxigênio,
14 torna-se altamente prejudicial tanto à fauna quanto à flora de águas doces e marinhas (TASSO
15 et al, 2007).

16 Após a proibição do despejo do vinhoto nos fluxos aquáticos, foi possível observar
17 uma grande procura por novas alternativas de como reutilizar esse resíduo. Assim, a
18 fertirrigação ganhou espaço, dado que exigia pouco investimento e possibilitava a eliminação
19 de grandes quantidades do poluente (DE SOUZA; MESQUITA, 2015). Contudo, foi
20 detectado uma elevação nos teores de ferro e cobre a 0,20-0,40 m de profundidade do solo,
21 além de salinização de aquíferos subterrâneos (SILVA; GRIEBELER; BORGES, 2007).

22 O vinhoto possui em sua composição matéria orgânica, que é em sua maioria
23 composta por citrato, oxalato, acetato, galactose, sacarose, glicose, frutose, ácido acético,
24 ácido lático e glicerol, além de nitrogênio (1,2 kg/m³), carbono (21,7 kg/m³), cobre (3,9 mg.L⁻
25 ¹), zinco (3,9 mg.L⁻¹), cálcio (1,0 kg/m³), magnésio (1,1 kg/m³) e sulfato (6,4 kg/m³) (VITTI,

1 2019) que o torna muito nutritivo para o cultivo de microrganismos como leveduras, com um
2 baixo custo de produção e grande rendimento (SILVA et al, 2011).

3 O emprego de bactérias e leveduras para a reutilização desse resíduo tem sido eficaz
4 e, cada vez mais aumenta o interesse do produtor em novos métodos. Os microrganismos
5 utilizam o vinhoto como substrato para a formação de biomassa protéica e lipídica, que pode
6 ser usado como suplemento alimentar e enriquecimento de ração animal (MARQUES; ZIN,
7 2016).

8 O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do vinhoto como
9 substrato para a produção de biomassa microbiana. Para isso foram testados diferentes
10 formulações contendo concentrações de 10 % e 50 % de vinhoto (v/v), acrescidos de outras
11 fontes de nutrientes, através do delineamento experimental de Plackett-Burman (PLACKETT
12 e BURMAN, 1946).

13 **MATERIAIS E MÉTODOS**

14 O experimento foi realizado na FCBA/UFGD, Mato Grosso do Sul (MS), Brasil.

15 *Isolados*

16 Foram previamente selecionados dois isolados de leveduras pertencentes à coleção de
17 culturas iniciadoras do GEFER/FCBA/UFGD. Dentre eles, um isolado de *Lodderomyces*
18 *elongisporus* e um isolado de *Rhodotorula mucilaginosa*.

19 Ambas foram isoladas de uma bebida tradicional indígena (chicha) da região de Dourados,
20 MS (RESENDE et al, 2018) e foram caracterizadas pelo grupo de pesquisa como potenciais
21 secretoras de amilases, pectinases e celulases extracelulares.

22 *Vinhoto*

23 O vinhoto utilizado foi gerado no Laboratório de Bioquímica da FCBA/UFGD, através da
24 fermentação de caldo de cana-de-açúcar por *Saccharomyces cerevisiae* LNFCA11® e
25 destilada em alambique de cobre.

1 *Inoculação*

2 O pré-inóculo foi obtido a partir da escala padrão de MacFarland 0,5, que corresponde a
3 aproximadamente 10^7 UFC.mL⁻¹, segundo Lelliott e Stead (1987).

4 O desenho experimental foi baseado no modelo proposto por Plackett e Burman
5 (PLACKETT e BURMAN, 1946), gerando 12 tratamentos diferentes, no qual a quantidade de
6 cada variável avaliada é definida entre o mínimo e máximo, como mostrado na tabela 1. As
7 variáveis testadas foram concentração no meio de extrato de levedura, glicose, peptona e
8 fosfato de potássio, quantidade de vinhoto adicionado, pH do meio e temperatura de
9 incubação. A contagem populacional (UFC.mL⁻¹) nos cultivos foi determinado a cada 24 h
10 pelo método de espalhamento em superfície em meio YPD (Yeast 1 %, Peptone 2 %,
11 Dextrose 2 % e ágar 2 %), sendo as placas incubadas a 30°C, por 48 h. A biomassa produzida
12 após 168 h foi mensurada após centrifugação a 1400 rpm durante 5 minutos e seco em estufa
13 em estufa a 105 °C até peso constante.

14 Os dados foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA), análise de
15 regressão e teste Tuckey a 95 % de confiança pelo software Minitab 19 ® .

16 **Tabela 1.** Níveis mínimos e máximos das variáveis testadas para o delineamento
17 experimental Plackett-Burman.

Sigla	Variáveis	Nível mínimo (-)	Nível máximo (+)
YS	Extrato de levedura (%)	0,5	2,5
GL	Glicose (%)	1,0	3
PE	Peptona (%)	0,5	2,5
PP	Fosfato de potássio (%)	0,02	0,1
VI	Vinhoto (v/v)	10	50
pH	pH	3	5
TE	Temperatura (°C)	28	36

1 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2 Dois isolados de levedura (*L. elongisporus* e *R. mucilaginosa*) foram testados quanto à
3 produção de biomassa em diferentes formulações de meio de cultivo, contendo vinhoto como
4 principal fonte de carbono.

5 A quantidade de biomassa produzida variou de 0,033 g.L⁻¹ a 66,213 g.L⁻¹, dependendo do
6 isolado, seguindo o delineamento experimental proposto conforme mostra os resultados da
7 Tabela 2 e da Tabela 3;

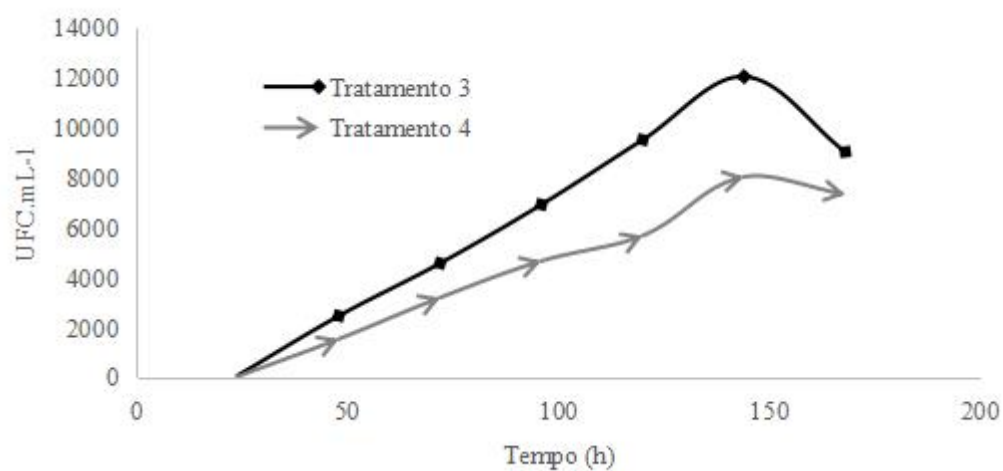
8 **Tabela 2.** Produção de biomassa microbiana e produtividade após 168 h de
9 incubação da levedura *R. mucilaginosa* em diferentes tratamentos, utilizando o delineamento
10 experimental Plackett-Burman.

Tratamento	Variáveis							Biomassa (B) Produtividade (P)		
	YS	GL	PE	PP	VI	pH	TE	<i>R. mucilaginosa</i> B (g.L ⁻¹) P (g.h ⁻¹)		
1	+	+	-	+	+	-	+	0,302	1,8x10 ⁻⁰³	e
2	+	-	-	-	+	+	+	0,065	4x10 ⁻⁰⁴	g
3	+	-	+	+	-	+	-	1,002	6x10 ⁻⁰³	a
4	+	+	-	+	-	-	-	0,745	4,4x10 ⁻⁰³	b
5	-	-	-	+	+	+	-	0,533	3,2x10 ⁻⁰³	c
6	+	-	+	-	-	-	+	0,054	3x10 ⁻⁰⁴	g
7	-	-	-	-	-	-	-	0,383	2,3x10 ⁻⁰³	d
8	-	+	+	-	+	-	-	0,221	1,3x10 ⁻⁰³	f
9	+	+	+	-	+	+	-	0,332	2x10 ⁻⁰³	de
10	-	+	-	-	-	+	+	0,033	2x10 ⁻⁰⁴	g
11	-	-	+	+	+	-	+	0,041	2x10 ⁻⁰⁴	g
12	-	+	+	+	-	+	+	0,058	3x10 ⁰⁴	g

11 YS= Extrato de levedura (%); GL= Glicose (%); PE= Peptona (%); PP= Fosfato de potássio (%); VI=Vinhoto
12 (v/v) pH= pH; TE= Temperatura (°C); Médias que não compartilham uma letra são estatisticamente diferentes

13 Na Tabela 2 foi avaliada a produção de biomassa microbiana por *R. mucilaginosa* nos
14 diferentes tratamentos. A maior quantidade de biomassa produzida e a produtividade (6x10⁻⁰³

1 g.h⁻¹) foi para o tratamento 3, neste tratamento foram avaliados as maiores concentrações de
2 extrato de levedura e peptona, a menor concentração de vinhoto (10 % v/v), pH 5 e
3 temperatura de incubação de 28 °C. A levedura apresentou melhor desempenho nos
4 tratamentos com menor temperatura de incubação (28 °C) já que nos tratamentos com a maior
5 temperatura de incubação (36 °C) foram os que apresentaram resultados inferiores, sendo o
6 menor deles o tratamento 10, com 0,033 g.L⁻¹ de biomassa produzida.



7 **Figura 1.** Contagem populacional (UFC.mL⁻¹) da levedura *R. mucilaginosa* nos
8 tratamentos com melhores produtividades ao longo do cultivo.

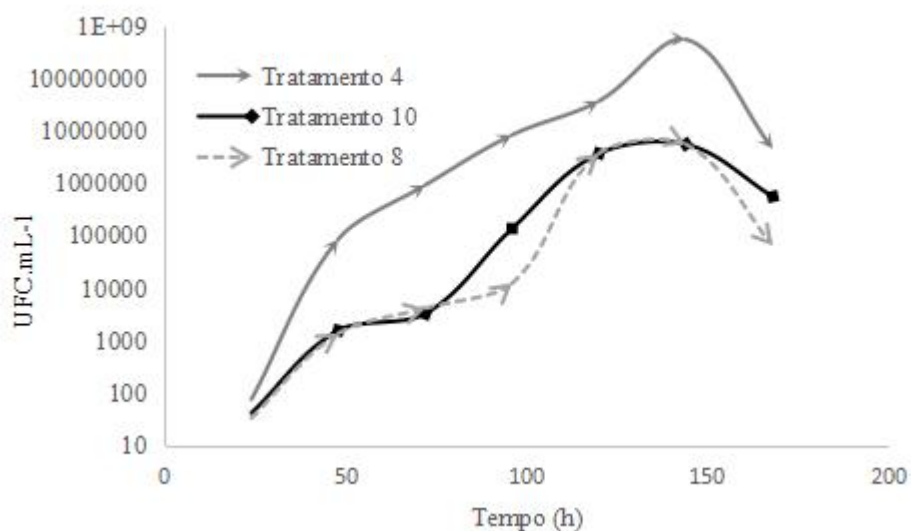
9 Para a levedura *R. mucilaginosa*, de acordo com a Figura 1, as análises de contagem
10 populacional mostram que o maior número de crescimento foi obtido após 144 h de incubação,
11 sendo o tratamento 3 o de maior contagem (1,2x10⁴ UFC.mL⁻¹). O baixo crescimento
12 populacional pode estar relacionado ao fato de que o tempo de duplicação da *R. mucilaginosa*
13 é maior que o usual para leveduras mesmo em meios favoráveis, produzindo menor número
14 de células e conseqüentemente apresentando uma menor produtividade de biomassa (DA
15 SILVA et al, 2018).

1 **Tabela 3.** Produção de biomassa microbiana e produtividade após 168 h de
 2 incubação das leveduras *L. elongisporus* em diferentes tratamentos utilizando o delineamento
 3 experimental Plackett-Burman.

Tratamento	Variáveis							Biomassa (B) Produtividade (P)		
	YS	GL	PE	PP	VI	pH	TE	<i>L. elongisporus</i>		
								B (g.L ⁻¹)	P (g.h ⁻¹)	
1	+	+	-	+	+	-	+	27,183	0,1618	e
2	+	-	-	-	+	+	+	26,95	0,1604	e
3	+	-	+	+	-	+	-	35,07	0,2088	d
4	+	+	-	+	-	-	-	66,213	0,3941	a
5	-	-	-	+	+	+	-	9,163	0,0545	g
6	+	-	+	-	-	-	+	34,073	0,2028	d
7	-	-	-	-	-	-	-	31,173	0,1856	de
8	-	+	+	-	+	-	-	51,416	0,3061	bc
9	+	+	+	-	+	+	-	15,183	0,0904	f
10	-	+	-	-	-	+	+	55,53	0,3305	b
11	-	-	+	+	+	-	+	50,033	0,2978	c
12	-	+	+	+	-	+	+	50,163	0,2986	c

4 YS= Extrato de levedura (%); GL= Glicose (%); PE= Peptona (%); PP= Fosfato de potássio (%); VI=Vinhoto
 5 (v/v) pH= pH; TE= Temperatura (°C); Médias que não compartilham uma letra são estatisticamente diferentes.

6 A levedura *L. elongisporus* obteve resultados superiores com relação a *R. mucilaginosa*
 7 em todos os tratamentos, sendo a produtividade da *L. elongisporus* 98,5 % maior que o
 8 melhor resultado da *R. mucilaginosa*.



1 **Figura 2.** Contagem populacional (UFC.mL⁻¹) da levedura *L. elongisporus* nos
 2 tratamentos com maiores produtividades ao longo do cultivo.

3 Para o isolado *L. elongisporus*, (Tabela 3), a maior quantidade de biomassa microbiana foi
 4 obtida com o tratamento 4, tendo 0,39 g.h⁻¹ de produtividade, sendo ele estatisticamente
 5 superior aos demais tratamentos. Em seguida, o tratamento 10 apresentou a segunda maior
 6 produtividade (0,33 g.h⁻¹). Contudo, tanto o tratamento 10 quanto o tratamento 4 têm em sua
 7 composição a mínima concentração de vinhoto (10 % v/v). Quando analisamos o tratamento 8,
 8 que não se difere estatisticamente do tratamento 10, podemos observar uma alta produtividade
 9 de biomassa (0,306 g.h⁻¹) em um meio com a máxima concentração de vinhoto (50 % v/v).

10 Por essa razão o tratamento 8 se mostra o mais promissor, pois a levedura consegue
 11 crescer e produzir alta quantidade de biomassa no máximo de vinhoto avaliado. Além disso,
 12 demonstrou necessitar da mínima concentração de extrato de levedura, como fonte de
 13 nitrogênio, além de crescer em uma temperatura semelhante a ambiente (28° C) e o
 14 rendimento foi somente 22,32 % inferior ao tratamento 4.

15 A levedura *L. elongisporus* se mostrou de fácil adaptabilidade, mesmo em meios menos
 16 favoráveis, corroborando com os resultados de Rehman (2008), no qual foi avaliado a

1 capacidade de crescimento da levedura em águas contaminadas por metais pesados, além do
 2 seu potencial em reduzir e tolerar íons (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Cr^{6+} , Pb^{2+} e Cd^{2+}). Tendo um
 3 tempo de duplicação menor do que da *R. mucilaginosa* nos tratamentos testados e
 4 consequentemente obtendo resultados superiores.

5 Em um trabalho semelhante no qual se avaliou a produção de biomassa microbiana
 6 utilizando o vinhoto como substrato, dois isolados de *S. cerevisiae* (VR1 e PE2) se
 7 destacaram como melhores resultados, apresentando produtividade de $0,1 \text{ g.L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, nos
 8 tratamentos contendo 50 % v/v de vinhoto em sua formulação (SILVA et al, 2011). Em
 9 comparação com Silva et al (2011), a levedura *L. elongisporus* expressou resultados mais
 10 promissores com o tratamento 8, já que ele também possui em sua formulação 50 % v/v de
 11 vinhoto e apresentou $0,3061 \text{ g.h}^{-1}$ de produtividade. O uso dos isolados de *S. cerevisiae* (VR1
 12 e PE2) para tratamento do vinhoto mostraram eficiência na redução de DBO (demanda
 13 bioquímica de oxigênio) em 51,56 %, DQO (demanda química de oxigênio) em 29,29 %, do
 14 nitrogênio em 66.70 %, além do nitrogênio amoniacal em 50 % (PIRES, 2016). Isso
 15 demonstra que a levedura *L. elongisporus* pode também apresentar essa mesma aplicação em
 16 estudos futuros.

17 **Tabela 4.** Efeitos dos fatores considerados no delineamento Plackett-Burman na
 18 produção de biomassa (g.L^{-1}) pela levedura *L. elongisporus*.

Termo	Efeito	Coef	EP de Coef	Valor-T	Valor-P
Constante		5,965	0,224	26,64	0
Extrato de levedura (%)	-0,531	-0,265	0,224	-1,19	0,253
Glicose (%)	1,053	0,526	0,224	2,35	0,032*
Peptona (%)	0,396	0,198	0,224	0,88	0,39
Fosfato de potássio (%)	0,221	0,111	0,224	0,49	0,628
Vinhoto (v/v)	-1,406	-0,703	0,224	-3,14	0,006*
pH	-1,074	-0,537	0,224	-2,4	0,029*
Temperatura	0,686	0,343	0,224	1,53	0,145

19 *significativo para $p < 0,05$

1 Na Tabela 4 são apresentados os efeitos das variáveis na produção de biomassa. As
2 variáveis vinhoto, glicose e pH possuem efeitos estatisticamente significativos ($p < 0,05$) para
3 a produção de biomassa. A variável vinhoto apresenta efeito negativo em relação a produção
4 de biomassa, sendo que a cada 1 % (v/v) de vinhoto adicionado, a produção de biomassa
5 diminuirá em 1,4 %. O mesmo ocorre com a variável pH, a cada 1 de pH elevado, a produção
6 de biomassa diminuirá em 1,07 %. Já a variável glicose apresenta efeito positivo, toda vez que
7 adicionado 1 % de glicose, a produção de biomassa aumentará em 1,05 %. Para a levedura *R.*
8 *mucilaginosa* nenhuma variável apresentou efeito significativo para a produção de biomassa.

9 CONCLUSÃO

10 O planejamento experimental proposto por Plackett e Burman possibilitou a verificação
11 dos efeitos das variáveis concentração no meio do extrato de levedura, glicose, peptona e
12 fosfato de potássio, quantidade de vinhoto adicionado, pH do meio e temperatura de
13 incubação, e três se mostraram significativas. As variáveis vinhoto e pH apresentaram efeitos
14 negativos e a variável glicose apresentou efeito positivo em relação a produção de biomassa
15 pela levedura *L. elongisporus*. Nenhuma das variáveis avaliadas apresentaram efeitos
16 significativos para a produção de biomassa para a levedura *R. mucilaginosa*.

17 A levedura *L. elongisporus* expressou resultados estatisticamente significativos, sendo o
18 tratamento 8 o mais vantajoso, por apresentar em sua composição a maior quantidade de
19 vinhoto (50 % v/v) e não ser estatisticamente diferente do tratamento 10 (10 % v/v de
20 vinhoto), segundo melhor tratamento, e com rendimento de apenas 22,32 % inferior que o
21 melhor tratamento. O tratamento que apresentou melhor resultado para a levedura *R.*
22 *mucilaginosa* foi o 3, no geral a levedura apresentou difícil adaptação em todos os
23 tratamentos.

1 Neste trabalho, a levedura *L. elongisporus* mostrou boa produtividade de biomassa em
2 meio contendo vinhoto como principal fonte de carbono. Sua produção de biomassa foi
3 considerável mesmo em alta concentração de vinhoto (50 % v/v), temperatura semelhante a
4 ambiente (28 °C), requerimento de mínima concentração de nitrogênio e sem necessidade de
5 agitação do meio de cultivo. Isso demonstra a viabilidade de uso desse isolado para produção
6 de biomassa a partir de vinhoto em maiores escalas.

7 Para trabalhos futuros, seria interessante avaliar a capacidade de tratamento da *L.*
8 *elongisporus* no vinhoto, e aumentar a escala, para verificar se o desempenho da levedura
9 continua o mesmo.

10 REFERÊNCIAS

- 11 Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-**
12 **açúcar.** v. 6 - Safra 2019/20, n. 4 - Quarto levantamento, Brasília, p. 1-58 abril de 2019.
13 Available from <[https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-](https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar)
14 [de-acucar](https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar)> access on 01 jul. 2020.
- 15 DA SILVA, J., DA SILVA, F. L. H., SANTOS, S. F. de M., et al. Produção de biomassa e
16 lipídios pela levedura *Rhodotorula mucilaginosa* utilizando a manipueira como substrato.
17 **Brazilian Journal. Food Technology.** Campinas, v. 21, e2017145, 2018. Available from
18 <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S198167232018000100461&lng=en
19 [&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S198167232018000100461&lng=en)>. access on 02 Sept. 2019.
- 20 DE SOUZA, J. K. C., MESQUITA, F. O., et al. Fertirrigação com vinhaça na produção de
21 cana-de-açúcar. **ACSA V.** 11, n. 2, p. 7-12, abr - jun, 2015.
- 22 LELLIOTT, R.A.; STEAD, D.E. **Methods for the diagnosis of bacterial plant disease.**
23 Oxford: Blackwell, 1987. 216p.

1 MARQUES, B. M., ZIN, G. B. **Desempenho ambiental de unidade industrial do setor**
2 **sucroalcooleiro: Proposta de tratamento anaeróbio de digestão da vinhaça.** 2016.
3 Trabalho de Formatura - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo Departamento de
4 Engenharia Hidráulica e Ambiental. 153p.

5 PIRES, J. F., FERREIRA, G., REIS, K. C., SCHWAN, R. F., SILVA, C. F. Mixed yeasts
6 inocula for simultaneous production of SCP and treatment of vinasse to reduce soil and fresh
7 water pollution. (2016). **Journal of environmental management**, 182, 455–463. Available
8 from<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479716305436?via%3Dihub>>
9 access on 10 jul. 2018.

10 PLACKETT, RL, BURMAN, JP, 1946. The design of optimum multifactorial experiments.
11 **Biometrika** 33 (4), 305-325.

12 REHMAN, A., FAROOQ, H., HASNAIN, S. Biosorption of copper by yeast, *Loddermyces*
13 *elongisporus*, isolated from industrial effluents: Its potential use in wastewater treatment.
14 (2008) **Journal of basic microbiology**. 48. 195-201. 10.1002/jobm.200700324. Available
15 from<https://www.researchgate.net/publication/5343847_Biosorption_of_copper_by_yeast_Loddermyces_elongisporus_isolated_from_industrial_effluents_Its_potential_use_in_wastewater_treatment>
16 access on 10 aug. 2020

18 RESENDE, L. V., PINHEIRO, L. K., MIGUEL, M. G., RAMOS, C. L., MARQUES, D. C. ,
19 SCHWAN, R. F. . Microbial community and physicochemical dynamics during the
20 production of `Chicha?', a traditional beverage of Indigenous people of Brazil. **WORLD**
21 **JOURNAL OF MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY**, v. 34, p. 46-55, 2018.

22 SILVA , F. C., ACURI L. S., CAMPOS, R. C, VILELA, M. D., et al. Using the residue of
23 spirit production and bio-ethanol for protein production by yeasts. *Lavras*, v. 31, n. 1, p. 108-
24 114, jan. 2011. **Waste Management** Available

1 from<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956053X1000440X?via%3Dihub>> access on 10 jul. 2018

3 SILVA, M. A. S. da; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C.. **Uso de vinhaça e impactos nas**
4 **propriedades do solo e lençol freático.** Rev. bras. eng. agríc. ambient., Campina Grande , v.
5 11, n. 1, p. 108-114, Feb. 2007 . Available from
6 <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141543662007000100014&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141543662007000100014&lng=en&nrm=iso)
7 &nrm=iso>. access on 31 Aug. 2019. [http://dx.doi.org/10.1590/S1415-](http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662007000100014)
8 43662007000100014.

9 TASSO J. L. C., MARQUES, O. M., FRANCO, A. et al. **Produtividade e qualidade de**
10 **cana-de-açúcar cultivada em solo tratado com lodo de esgoto, vinhaça e adubos minerais.**
11 Eng. Agríc., Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 276-283, abr. 2007. Available from
12 <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010069162007000100022&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010069162007000100022&lng=en&nrm=iso)
13 &nrm=iso>. access on 02 Sept. 2019.

14 VITTI, N. V. P. **Viabilização do uso da vinhaça concentrada com fertilizantes**
15 **nitrogenados: aspectos agronômicos e ambientais.** 2019. Tese (Doutorado em Química na
16 Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São
17 Paulo, Piracicaba, 2019. doi:10.11606/T.64.2020.tde-29012020-111418. access on 30, jul.
18 2019.