

## PROTOCOLO DE AULA PRÁTICA

**CURSO:** Biotecnologia

**UNIDADE CURRICULAR:** Laboratório VB

**DOCENTE:** Natália Osório

**TEMA TP1:** Fermentação Alcoólica: Produção de CO<sub>2</sub> durante o processo fermentativo

### Produção de CO<sub>2</sub> durante o processo fermentativo

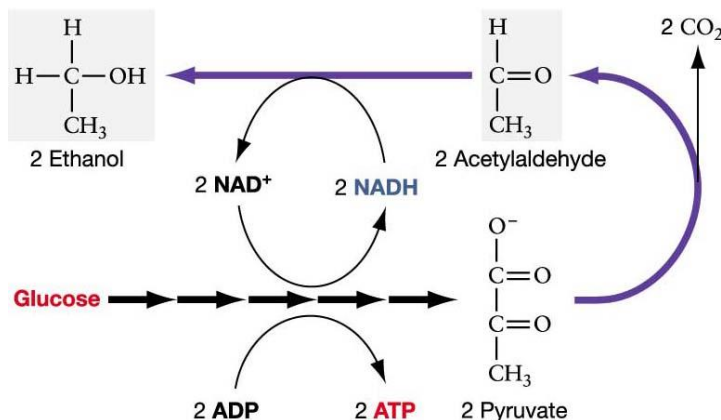
#### Objectivo:

Determinar a intensidade de fermentação tendo como substrato diferentes açúcares medindo a quantidade de dióxido carbono produzido.

#### Introdução

As leveduras (*e.g.*, *S. cerevisiae*) são de extrema importância para alguns processos da indústria alimentar. Os principais produtos resultantes da fermentação levada a cabo por estes organismos são o dióxido carbono e o etanol.

Neste trabalho pretende-se explorar o processo de fermentativo levado a cabo por células da levedura *S. cerevisiae*, também conhecida por levedura cervejeira ou levedura de padeiro. Durante o processo de fermentação alcoólica uma molécula de glucose é convertida em duas moléculas de piruvato que são posteriormente convertidas em etanol. Durante este processo são produzidas moléculas de CO<sub>2</sub>. Este processo é também o que está na base dos processos de vinificação em que os açúcares do mosto são convertidos em etanol e outros produtos.



#### Material

- Suporte para tubos de ensaio
- Tubos de ensaio largos (20x150mm)
- Tubos de ensaio estreitos (10x100mm)
- Pipetas de 10 mL
- Copos de precipitação 250 mL, 500mL
- Provetas 50mL, 100mL
- Glucose - 0,5%, 1%, 1,5% e 2%
- Amido - 0,5%, 1%, 1,5% e 2%
- Sacarose - 0,5%, 1%, 1,5% e 2%
- Suspensão de *S. cerevisiae* - 4g de Levedura/200ml água destilada

### Procedimento experimental

1- Preparar as seguintes suspensões:

- Suspensão A - 50 ml da solução de glucose a (0,5%, 1%, 1,5% e 2%) + 50 ml suspensão de *S. cerevisiae*
- Suspensão B - 50 ml da solução de amido a (0,5%, 1%, 1,5% e 2%) + 50 ml suspensão de *S. cerevisiae*
- Suspensão C - 50 ml da solução de sacarose (0,5%, 1%, 1,5% e 2%) + 50 ml suspensão de *S. cerevisiae*.

2- Numerar **9 tubos de ensaio largos** (20x150mm) com tubos estreitos invertidos no interior (10x100mm). **Exemplo:** A1\_0,5; A2\_0,5, A3\_0,5, B1\_0,5, B2\_0,5, B3\_0,5, C1\_0,5, C2\_0,5, C3\_0,5)

3- **Medir e registar a altura e o diâmetro interno** de todos os **tubos estreitos** em milímetros.

4- Em 3 tubos estreitos colocar a **suspensão A** (Atenção: registar o volume de líquido que coloca no tubo – inicia com um volume de 50mL de suspensão numa proveta e após encher o tubo estreito consegue calcular o volume vertido por diferença).

5- Em 3 tubos estreitos colocar a **suspensão B** (Atenção: registar o volume de líquido que coloca no tubo).

6- Em 3 tubos estreitos colocar a **suspensão C** (Atenção: registar o volume de líquido que coloca no tubo).

7- Tapar os 3 tubos com parafilme e inverter de forma que o tubo invertido fique cheio com a solução.

8- Colocar os tubos ensaio em banho - maria a 35º C (início da reação).

9- Fazer a leitura em milímetros do tamanho da bolha de ar formada no tubo invertido, de 15 em 15 minutos durante 1h:30.