

PROTOCOLO DE AULA PRÁTICA

CURSO: Biotecnologia

Unidade Curricular: Laboratório VB

DOCENTE: Natália Osório

TEMA: Fermentação alcoólica promovida por células de *Saccharomyces cerevisiae* em descontínuo

Introdução

Neste trabalho pretende-se explorar o processo de fermentação alcoólica levado a cabo por células da levedura *S. cerevisiae* na sua forma livre e imobilizada em esferas de alginato de cálcio. Durante o processo de fermentação alcoólica uma molécula de glucose é convertida em duas moléculas de piruvato que são posteriormente convertidas em etanol. Após o processo de fermentação o etanol formado irá ser determinado (numa das aulas que irão ter com a Prof. Cláudia Coelho).

1. Matérias-Primas

Formulação I:

- 200 mL de solução açucarada (esta solução é a vossa sugestão para levarmos a cabo a fermentação alcoólica)
- 10 g de sacarose
- Levedura imobilizada em esferas de alginato de cálcio (TP2 – atenção deve ser calculada a massa de levedura existente nas esferas formadas).
- Observe à lupa as esferas de alginato.

Formulação II:

- 200 mL de solução açucarada (esta solução é a vossa sugestão para levarmos a cabo a fermentação alcoólica)
- 10 g de sacarose
- 0,3 g de levedura de cerveja (*Saccharomyces cerevisiae*) livre hidratada em 10 mL de solução açucarada.
- Prepare um lamina com um esfregaço da suspensão de levedura e observe ao microscópio ótico a preparação.

2. Procedimento Experimental

- Medir o volume da solução açucarada
- Verificar o pH e a temperatura e registar os valores.
- Retire uma amostra de solução açucarada (2-3 gotas) para um vidro de relógio e adicione uma gota de tintura de iodo (registe o resultado da coloração da solução obtida).

Fermentação com levedura imobilizada

- Pese a quantidade de esferas de alginato de cálcio com leveduras imobilizadas que correspondam a 0,3 g de leveduras.
- Adicionar as leveduras imobilizadas à solução açucarada.
- Colocar num fermentador e registar o início de fermentação que se deve dar em lugar fresco.

Fermentação com levedura livre

- Hidratar a levedura (0,3 g) em 10 mL de solução açucarada à temperatura ambiente.
- Adicionar a levedura à solução açucarada.
- Colocar num fermentador e registar o início de fermentação que se deve dar em lugar fresco.

Monitorização do processo de fermentação das Formulações I e II:

- Registar duas ou três vezes por semana a temperatura do laboratório onde se está a dar o processo fermentativo
- Fotografar os reatores onde se está a dar o processo fermentativo 2 ou 3 vezes por semana.
- Registar alterações ao longo do processo fermentativo (formação de depósito, alterações de cheiro e de coloração da solução)