



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS**

YASMIN NASCIMENTO DE SOUZA

**BIOPROSPECÇÃO DE LEVEDURAS SELVAGENS E IMOBILIZAÇÃO EM
ALGINATO DE CÁLCIO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL**

**SUMÉ – PB
2025**

YASMIN NASCIMENTO DE SOUZA

**BIOPROSPECÇÃO DE LEVEDURAS SELVAGENS E IMOBILIZAÇÃO EM
ALGINATO DE CÁLCIO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

Orientador: Professor Dr. Jean César Farias de Queiroz

**SUMÉ – PB
2025**



S279b Souza, Yasmin Nascimento de.
Bioprospecção de leveduras selvagens e
imobilização em alginato de cálcio para produção de
etanol. / Yasmin Nascimento de Souza. - 2025.

75f.

Orientador: Prof. Dr. Jean César Farias de
Queiroz.

Monografia - Universidade Federal de Campina
Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do
Semiárido; Curso de Engenharia de Biotecnologia e
Bioprocessos.

1. Produtividade fermentativa. 2. Tolerância ao
etanol. 3. Fermentação imobilizada. 4. Produção
sustentável de etanol. 5. Potencial biotecnológico.
6. Leveduras selvagens - bioprospecção. 7.
Fermentação alcoólica. 8. Alginato de cálcio+ I.
Queiroz, Jean César Farias de. II. Título.

CDU: 60(043.1)

Elaboração da Ficha Catalográfica:

Johnny Rodrigues Barbosa
Bibliotecário-Documentalista
CRB-15/626

YASMIN NASCIMENTO DE SOUZA

**BIOPROSPECÇÃO DE LEVEDURAS SELVAGENS E IMOBILIZAÇÃO
EM ALGINATO DE CÁLCIO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharela em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

BANCA EXAMINADORA:

Professor Dr. Jean César Farias de Queiroz
Orientador – UAEB/CDSA/UFCG

Professor Dr. Andreas Karoly Gombert
Examinador Externo – UNICAMP

Professor Dr. Bruno Rafael Pereira Nunes
Examinador Interno – UAEB /CDSA/UFCG

Trabalho aprovado em: 28 de abril de 2025.

SUMÉ - PB

“Estou certo de que aquele que começou boa obra em vocês há de completa-la até o dia de Cristo Jesus.”

Filipenses 1:6

“Nem tudo está perdido como parece... Sabe coisas extraordinárias só acontecem a pessoas extraordinárias, vai ver é um sinal que você tem um destino extraordinário, algum destino maior do que você pode ter imaginado.”

CS Lewis

AGRADECIMENTOS

Grandes coisas fez o SENHOR por nós, e, por isso, estamos alegres. Salmos 126.3

Aos meus pais Edilton e Elizabete, por todo amor incondicional, cuidado e apoio incansável, especialmente por sempre me encorajarem a seguir em frente e nunca desistir. Ao meu irmão Gui, por todas as ligações e por ser meu ombro amigo em todos os momentos.

Aos meus primos Leonardo, Maurício, Luíza e Andreia pelo incentivo e pelo investimento no meu crescimento. À minha Tia Lene pelo carinho e por suas orações que sempre me fortaleceram. Aos meus padrinhos, Paulo Lima e Maria do Socorro Alcântara (Côca) por nunca me deixarem desamparada.

À igreja Presbiteriana Betânia e ao Reverendo Valtenor Moraes, por acolherem a mim e à minha família nos momentos de dificuldade.

Aos meus colegas de curso, em especial Ana Kariny, João Gabriel e Joel, por sua amizade e apoio constantes; também a Vinicius, Igor e Damares pela força e boas companhias no RU; e a Alisson, Atiliane e Judieldo por estarem ao meu lado.

Aos colegas da turma 2020.1, especialmente a Joycy Samira e Valdisa Gabriela, junto com suas famílias, por não desistirem de mim, por todo cuidado, preocupação e acolhimento nos momentos longe de casa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jean Queiroz pelos ensinamentos, conselhos e por acreditar no meu potencial. Ao Técnico Adriano, pelo auxílio sempre prestativo e pela paciência. Às colegas de laboratório Larisse, Graciele e Jéssica, pela parceria e apoio.

A Prof.^a Dr.^a Glauciane Danusa e ao Laboratório de microbiologia do CDSA, pelo cuidado, ensinamentos e pela oportunidade de aprendizado.

Ao pessoal do Laboratório Certbio, pelos ensinamentos e aprendizados transmitidos, pela atenção e pelas risadas compartilhadas.

E por fim, agradeço a todos os servidores do CDSA e ao pessoal da UAEB por contribuírem para a minha formação acadêmica ao longo deste tempo valioso de curso.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo principal o isolamento e a caracterização de leveduras selvagens oriundas do caldo da cana-de-açúcar cultivada no município de Sumé, localizado no semiárido paraibano, dentro do bioma Caatinga. A proposta incluiu a criação de uma coleção microbiana e a seleção das linhagens com maior produtividade fermentativa e tolerância ao etanol, visando à comparação do desempenho entre sistemas fermentativos em configuração livre e imobilizada. Entre setembro de 2023 e julho de 2024, foram isoladas 30 linhagens de leveduras selvagens. Dentre estas, destacaram-se aquelas que apresentaram produção superior a 5% (v/v) de etanol em condições laboratoriais, sendo a linhagem L-SO2C a mais eficiente, com produção de etanol de 5,86%. As linhagens selecionadas foram submetidas a ensaios de tolerância ao etanol e tiveram seu desempenho comparado à linhagem industrial JP1. As análises estatísticas, conduzidas por meio de ANOVA e do teste de Tukey, indicaram desempenho superior da linhagem L-SP1 em determinados parâmetros. As linhagens L-SP1, L-SP2 e L-SO2C, juntamente com a linhagem JP1, foram submetidas a imobilização celular e caracterizadas por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura, com o intuito de avaliar propriedades físicas. Nos ensaios de rendimento e produtividade, observou-se que a linhagem JP1 apresentou maior eficiência na configuração livre após 96 horas de fermentação. Em contrapartida, as linhagens L-SO2C e L-SP2 demonstraram desempenho superior no sistema imobilizado. Destaca-se a L-SO2C, que apresentou a maior produtividade nas primeiras seis horas de fermentação (3,3 g/L·h), enquanto a L-SP2 manteve desempenho consistente em ambas as configurações, sendo mais eficiente na condição imobilizada. A utilização da configuração imobilizada demonstrou vantagens operacionais, como a facilidade de separação da biomassa do produto final, aspecto relevante para a redução de custos industriais. Além disso, essa abordagem proporciona maior proteção às células e minimiza problemas associados à difusão de substratos e à contaminação microbiana. Os resultados obtidos evidenciam o elevado potencial biotecnológico das leveduras selvagens isoladas da cana-de-açúcar cultivada na Caatinga para aplicação na produção sustentável de etanol. Tais achados contribuem para a valorização da biodiversidade regional como recurso estratégico em processos industriais e para o avanço da biotecnologia voltada à produção de biocombustíveis renováveis.

Palavras-chave: Produtividade fermentativa. Tolerância ao etanol. Fermentação imobilizada. Produção sustentável de etanol. Potencial biotecnológico.

ABSTRACT

The primary objective of the present study was the isolation and characterisation of wild yeast strains derived from sugarcane juice cultivated in the municipality of Sumé, located in the semi-arid region of Paraíba, within the Caatinga biome. The study aimed to establish a microbial collection and to select strains exhibiting high fermentative productivity and ethanol tolerance, with a view to comparing their performance in free and immobilised fermentation systems. Between September 2023 and July 2024, a total of 30 wild yeast strains were isolated. Among these, those capable of producing over 5% (v/v) ethanol under laboratory conditions were of particular interest, with strain L-SO2C emerging as the most efficient, achieving ethanol production of 5.86%. The selected strains were subjected to ethanol tolerance assays, and their performance was benchmarked against that of the industrial strain JP1. Statistical analyses, conducted via ANOVA and Tukey's test, revealed superior performance of strain L-SP1 in specific parameters. Strains L-SP1, L-SP2, and L-SO2C, along with strain JP1, were subsequently immobilised and physically characterised using Scanning Electron Microscopy (SEM). In terms of yield and productivity, strain JP1 demonstrated greater efficiency in the free-cell configuration after 96 hours of fermentation. Conversely, strains L-SO2C and L-SP2 outperformed in the immobilised system. Notably, L-SO2C exhibited the highest productivity within the initial six hours of fermentation (3.3 g/L·h), while L-SP2 showed consistent performance in both configurations, proving more effective under immobilised conditions. The use of immobilised configurations presented operational advantages, such as facilitating biomass separation from the final product—an aspect of industrial relevance due to its potential to reduce operational costs. Additionally, this approach offers enhanced protection to cells and mitigates issues related to substrate diffusion and microbial contamination. The findings underscore the high biotechnological potential of wild yeast strains isolated from sugarcane cultivated in the Caatinga for sustainable ethanol production. These results contribute to the valorisation of regional biodiversity as a strategic resource for industrial processes and to the advancement of biotechnology in the field of renewable biofuel production.

Keywords: Fermentative productivity. Ethanol tolerance. Immobilised fermentation. Sustainable ethanol production. Biotechnological potential.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma simplificado da fermentação alcoólica	16
Figura 2 – Fluxograma simplificado da produção industrial de etanol.....	21
Figura 3 – Estágios de desenvolvimento da cana-de-açúcar.....	22
Figura 4 – Mapa do bioma Caatinga	24
Figura 5 – Precipitação no município de Sumé no período do estudo	25
Figura 6 – Etapas fundamentais de um bioprocessos.	27
Figura 7 – Placa de Petri com inóculo proliferado.....	32
Figura 8 – Propagação de leveduras isoladas	34
Figura 9 – Fluxograma do teste fermentativo	35
Figura 10 – Produção de gás carbônico no tubo cônico	36
Figura 11 – Sistema de batelada aerada em erlenmeyers.....	38
Figura 12 – Fluxograma do teste de tolerância ao etanol	39
Figura 13 – Esquema dos reatores utilizados.	40
Figura 14 – Esquema de imobilização e esferas já imobilizadas.	41
Figura 15 – Esferas em solução de sacarose.	42
Figura 16 – Esferas após a fermentação.	43
Figura 17 – Plantio de cana-de-açúcar e venda de caldo de cana em Sumé.	47
Figura 18 – Cinética dos valores Experimentais e Calculados.....	49
Figura 19 – Tolerância ao etanol das leveduras indicadas pela biomassa.	55
Figura 20 – MEV da superfície das esferas em 1000x.....	58
Figura 21 – MEV do corte transversal das esferas em 1000x.....	59
Figura 22 – Cinética da fermentação das leveduras em configuração livre e imobilizada.	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Nomeação das leveduras selvagens isoladas referentes à coleção.	48
Tabela 2 – Caracterização das leveduras	57
Tabela 3 – Análise das esferas	57
Tabela 4 – Médias do pH do teste fermentativo	72
Tabela 5 – Médias do Brix do teste fermentativo	72
Tabela 6 – Médias da Biomassa do teste fermentativo	73
Tabela 7 – Médias do CO ₂ convertido em etanol por estequiometria	74
Tabela 8 – Médias de ABV calculado utilizando a densidade	75

LISTA DE SIGLAS

ADP:	Adenosina Difosfato;
ATP:	Adenosina Trifosfato;
$C_{12}H_{22}O_{11}$:	Fórmula química da glicose;
C_2H_6O :	Fórmula química do etanol;
$CaCl_2$:	Fórmula química do cloreto de cálcio;
CO_2 :	Fórmula química do dióxido de carbono (gás carbônico);
g:	Gramas;
h	Horas
H_2O :	Fórmula química da água;
L:	Litro;
mL:	Mililitro;
NAD:	Nicotinamida adenina dinucleotídeo;
NADH:	Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida;
$NaHCO_3$:	Fórmula química do bicarbonato de sódio;
P:	Concentração de produto final (g/L);
P_0 :	Concentração de produto inicial (g/L);
pH:	Potencial hidrogênio;
P_{rod} :	Produtividade (g/Lh).
R:	Rendimento do processo;
S:	Concentração de substrato final (g/L);
S_0 :	Concentração de substrato inicial (g/L);
t:	Tempo;
$Y_{P/S}$:	Fator de conversão de substrato em produto ($g_{etanol}/g_{sacarose}$);

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	OBJETIVOS	14
2.1.	OBJETIVO GERAL	14
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3.	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1.	FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	15
3.2.	LEVEDURAS	16
3.2.1.	Leveduras Selvagens	18
3.3.	ETANOL.....	19
3.3.1.	Cana de Açúcar	21
3.4.	CAATINGA.....	23
3.5.	BIOPROSPECÇÃO.....	25
3.6.	BIOPROCESSOS	27
3.7.	IMOBILIZAÇÃO CELULAR	28
4.	METODOLOGIA	31
4.1.	CONSTRUÇÃO DA COLEÇÃO DE LEVEDURAS SELVAGENS.....	31
4.1.1.	Cultivo das leveduras	31
4.1.2.	Isolamento e Armazenamento.....	32
4.2.	SELEÇÃO DE LEVEDURAS.....	33
4.2.1.	Propagação Celular	33
4.2.2.	Teste fermentativo	34
4.2.3.	Teste de tolerância ao álcool.....	38
4.3.	FERMENTAÇÃO COM IMOBILIZAÇÃO CELULAR.....	40
4.3.1.	Levedura Livre	40
4.3.2.	Imobilização celular	41
4.4.	CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO COM LEVEDURA IMOBILIZADA	44
4.4.1.	Avaliação cinética do pH	44
4.4.2.	Consumo de Substrato	44
4.4.3.	Formação de Produto	44
4.4.4.	Rendimento e Produtividade	45
4.5.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	46
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1.	COLEÇÃO DE LEVEDURAS SELVAGENS	47

5.2. SELEÇÃO DE LEVEDURAS.....	49
5.2.1. Teste fermentativo	49
5.2.2. Tolerância ao etanol	55
5.3. FERMENTAÇÃO COM IMOBILIZAÇÃO CELULAR.....	56
5.3.1. Caracterização das leveduras	56
5.3.2. Caracterização das esferas	57
5.3.3. Visualização das esferas em MEV	57
5.3.4. Fermentação com levedura imobilizada	59
6. CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS.....	65
APÊNDICE	72
Dados referentes à Figura 18	72

1. INTRODUÇÃO

A fermentação tem sido uma ferramenta poderosa para melhorar as condições de vida ao longo da história. Os sumérios foram os primeiros a aplicá-la, inicialmente de uma forma acidental, revelando seu impacto na sociedade. Tempos depois, os egípcios empregaram o mesmo processo fermentativo na produção de vinho (Verma *et al.*, 2011; Silva, 2023). Esse processo ocorre por meio de enzimas ou células, como leveduras, que transformam açúcares em etanol e gás carbônico (Conceição, 2023).

As leveduras, além de ser consideradas como os microrganismos mais antigos a serem explorados pela humanidade, são fungos unicelulares com potencial de desenvolvimento aeróbio ou anaeróbio (Conceição, 2023). Uma parte dessas leveduras é considerada como selvagens que se diferem das leveduras cultivadas e manipuladas em laboratório e das que possuem um fim comercial. Esses microrganismos tem aplicabilidade no meio industrial, por isso há o interesse em aprimorar os processos produtivos para aumentar a eficiência em contrapartida dos gastos (Brito, 2022; Menezes *et al.*, 2022).

Sucessivo ao crescimento da população mundial em consonância com a busca por sustentabilidade para facilitar a vida humana, os bioprocessos envolvendo leveduras têm ganhado destaque na produção de biocombustíveis, como etanol. Esse método alternativo e eficaz contribui significativamente para a redução da emissão de gases poluentes provenientes da queima de combustíveis fósseis (De Jesus, 2021; Vicente *et al.*, 2024). Visto que os Estados Unidos juntamente com o Brasil lideram a produção mundial de etanol, fontes naturais são utilizadas como matéria prima no meio industrial como cana-de-açúcar, beterraba, trigo, mandioca e milho (Vicente *et al.*, 2024; Vidal, 2024).

No Brasil, apesar da crescente utilização de milho, a cana-de-açúcar se destaca como principal matéria-prima para a fabricação de biocombustíveis, além de colocar o país como maior produtor dessa cultura agrícola (Conab, 2024; Vidal, 2024). Em meio à produção canavieira, alguns elementos climáticos são importantes quanto à maturação e crescimento da cana-de-açúcar. Neste contexto, o bioma da Caatinga caracterizado pelas altas temperaturas e regime pluviométrico irregular durante o ano pode oferecer condições favoráveis ao cultivo desde que o plantio

seja realizado em períodos chuvosos e o crescimento da planta ocorra após este período quando a umidade relativa do ar se mantém apropriada para tais necessidades da cana-de-açúcar (Silva, 2020; Silva *et al.*, 2022).

Além da sua relevância no cultivo, a produção de biocombustíveis no Brasil apresenta oportunidades inéditas ao explorar os recursos únicos da Caatinga como microrganismos, em especial as leveduras selvagens. Este bioma, exclusivo do semiárido brasileiro, ainda guarda mistérios científicos, com cerca de 99% da biodiversidade de leveduras permanecendo desconhecida (Silva, 2020).

A bioprospecção de microrganismos nessas áreas ricas em biodiversidade revela um enorme potencial para a identificação de novas linhagens de leveduras selvagens com aplicações promissoras nos bioprocessos industriais (Brandalise *et al.*, 2023). Apesar disso, os estudos sobre essa vasta biodiversidade de microrganismos a serem explorados ainda são escassos na literatura.

Visando o interesse industrial e a busca pelo aperfeiçoamento dos processos produtivos, algumas técnicas têm sido empregadas para evitar o desvio de rota metabólica, produzir o subproduto e proteger as células da levedura durante a fermentação (Ortiz, 2017). Tais estudos demonstraram que a imobilização celular não apenas aumenta a produtividade e o rendimento, como também contribui para o aumento da concentração celular e facilita o reciclo de células, visto que é uma forma de evitar o contato direto da célula com o etanol (De Jesus, 2021). Uma das maneiras de se obter essa proteção celular é a partir do encapsulamento em matriz porosa, como o alginato de cálcio, que ao envolver as células em esferas, podem ser utilizados em processos fermentativos mais longos (Nagashima *et al.*, 1984; Duarte *et al.*, 2013).

Dessa forma, o presente trabalho visa realizar uma coleção de leveduras selvagens da cana-de-açúcar por meio de cultivo e isolamento por diluição, selecionar as leveduras mais eficientes e resistentes ao etanol para que possam ser imobilizadas em alginato de cálcio e comparadas com a configuração livre nos processos fermentativos, utilizando como parâmetro a levedura industrial JP1, em termos de produtividade e rendimento.

2. OBJETIVOS

2.1.OBJETIVO GERAL

Realizar a bioprospecção de leveduras selvagens e a seleção dos isolados com maior produção e tolerância ao etanol, para análise cinética comparativa da fermentação alcoólica entre leveduras livres e imobilizadas.

2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar leveduras selvagens coletadas do caldo da cana-de-açúcar no município de Sumé-PB, situado no bioma da Caatinga.
- Selecionar leveduras selvagens com maior produção de etanol e testar tolerância ao etanol.
- Imobilizar leveduras selvagens selecionadas em Alginato de Cálcio e caracteriza-las.
- Realizar análise cinética comparativa das fermentações em batelada com leveduras em configuração livre e imobilizadas.
- Comparar rendimento e produtividade com a levedura industrial JP1.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

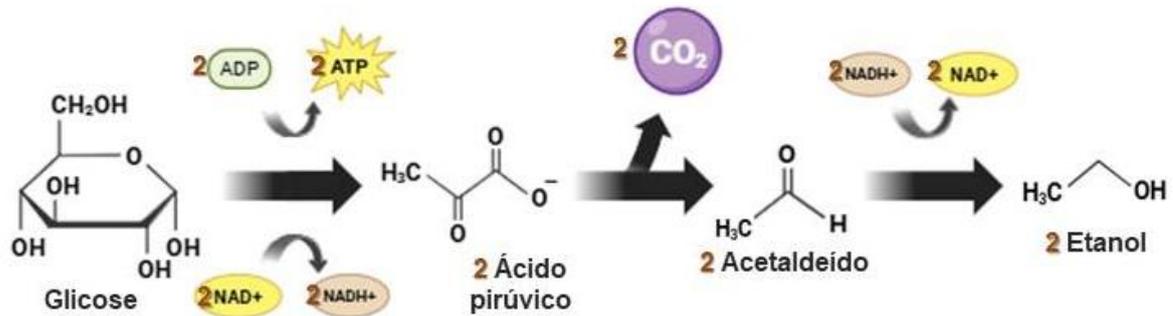
3.1. FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

O processo fermentativo é um dos bioprocessos mais antigos da humanidade, desenvolvido inicialmente como uma forma de conservar alimentos e bebidas. Em 1850, o cientista Louis Pasteur, a partir de estudos dos microrganismos, concluiu que a fermentação ocorria por meio da ação de células como leveduras que transformava açúcar em etanol. Desde então, os avanços científicos contribuíram para que a fermentação se tornasse um pilar importante para a biotecnologia moderna, permitindo a obtenção de produtos com valor econômico agregado (Coutinho, 2020).

A fermentação alcoólica ocorre por meio da atividade enzimática das leveduras que, em condições anaeróbias, metabolizam os açúcares provenientes do substrato presentes no mosto, resultando na produção de etanol e CO_2 (Alves *et al.*, 2020; Silva, 2022). Essas leveduras também têm a capacidade de se adaptar a condições aeróbias, utilizando oxigênio para gerar energia essencial à reprodução celular, por meio da quebra das ligações de carbono em uma cadeia transportadora de elétrons. Em contraste, na ausência de oxigênio, o consumo de açúcares é catabolizado durante um processo chamado glicólise no qual uma molécula de glicose é convertida em duas moléculas de CO_2 e duas moléculas de etanol (Jacob e Campos, 2022; Oliveira, 2022; Tenório, 2023).

A glicólise inicia-se com a degradação de uma molécula de glicose, resultando na formação de ácido pirúvico, ou piruvato, processo que utiliza a energia proveniente de duas moléculas de ADP, convertendo-as em ATP. Posteriormente, o piruvato é transformado em duas moléculas de CO_2 e duas moléculas de acetaldeído, por meio da ação do agente oxidante característico da fermentação alcoólica, durante a etapa de descarboxilação. Por fim, as moléculas de acetaldeído são reduzidas por duas moléculas de NADH, resultando na formação de duas moléculas de etanol (Bailey e Ollis, 1986; Bruice, 2006; Oliveira, 2022; Tortora *et al.*, 2024). Na Figura 1 encontra-se a esquematização do processo de fermentação de etanol.

Figura 1 – Fluxograma simplificado da fermentação alcoólica



Fonte: Acervo do autor, 2025 (Figura criada com o BioRender.com).

Legenda: O fluxograma acima ilustra os principais passos da glicólise, em que a molécula de glicose é convertida em piruvato, gerando energia na forma de ATP a partir de ADP. Posteriormente, ocorre a fermentação alcoólica, durante a qual o piruvato é convertido em etanol e CO₂, enquanto o NAD⁺ é regenerado para garantir a continuidade do ciclo metabólico.

O processo de fermentação alcoólica apresenta baixo rendimento energético, uma vez que grande parte da energia confinada na molécula inicial de glicose permanece armazenada no etanol, que é o produto final (Tortora *et al.*, 2024). Apesar do rendimento teórico da produção de etanol ser de 0,51 g/g, esse valor pode ser calculado por meio de estequiometria, mas não é plenamente alcançado na prática devido ao consumo de uma parte dos carboidratos fermentáveis na síntese de componentes essenciais ao material celular e na manutenção das funções fisiológicas das leveduras (Oura, 1977).

3.2. LEVEDURAS

Os microrganismos desempenham um papel essencial na história da humanidade por meio de processos fermentativos, dessa forma, sendo fungos e bactérias particularmente relevantes para a produção de bioprodutos (Brito, 2022). Esses processos, demonstrados por Pasteur, fora antes observados por Antonie van Leeuwenhoek em 1680 durante estudos com cerveja (Miller e Reed, 1982). Dentre esses microrganismos, as leveduras se destacam como organismos unicelulares eucarióticos não filamentosos, pertencentes ao reino dos fungos que se reproduzem de maneira assexuada por brotamento. Dependendo das condições de cultivo, esses microrganismos podem apresentar formatos esféricos ou ovais, com tamanhos que variam entre 1 a 5 micrômetros de diâmetro (Araujo *et al.*, 2023; Lima, 2023).

Por se desenvolverem por brotamento, o núcleo da célula parental se divide ao formar um broto em sua superfície, e conforme o desenvolver do broto um dos núcleos se desloca juntamente com o broto ao desmembrar-se (Araujo *et al.*, 2023). As leveduras podem se agrupar, assim como as bactérias, formando colônias, essas colônias são caracterizadas pela coloração branca, amarela, rosa, vermelha entre outras. Também podem apresentar diversas texturas e bordas regulares ou irregulares (Souza *et al.*, 2021).

Capazes de se adaptar a condições aeróbias e anaeróbias, as leveduras realizam a fermentação para metabolizar açúcares, gerando subprodutos que, apesar de serem resíduos metabólicos para esses microrganismos, possuem ampla utilidade para os seres humanos. Elas são amplamente empregadas em processos industriais, como a produção de bebidas alcoólicas, biocombustíveis e no crescimento da massa do pão (Brito, 2022; Lima, 2023; Tortora *et al.*, 2024). Do ponto de vista comercial, as leveduras destacam-se como de grande interesse industrial, devido às suas características favoráveis, como o rápido crescimento em variados substratos e o baixo risco de contaminação (Bellini *et al.*, 2023).

Com suas características favoráveis à indústria, as leveduras demandam estudos e pesquisas que ampliem sua disponibilidade e aprimorem suas aplicações em processos industriais. Nesse contexto, a biotecnologia industrial desempenha um papel crucial ao incentivar a bioprospecção e o isolamento de novos microrganismos provenientes de fontes naturais como solo, plantas, frutas, vegetais ou outros substratos orgânicos (Tortora *et al.*, 2024). O isolamento e caracterização de microrganismos necessitam de especificações em suas análises para que haja eficácia ao desempenhar determinadas funções em seus processos bioquímicos e depois possam ser produzidas em escala laboratorial e depois industrial (Bellini *et al.*, 2023).

A viabilidade das leveduras é fundamental para determinar o rendimento e a produtividade na formação de produtos. No entanto, quando esses microrganismos enfrentam estresse causado por contaminações ou por condições físico-químicas desfavoráveis, ocorre um declínio na produção de compostos como o etanol. O rendimento fermentativo de uma indústria pode ser calculado pela quantidade de produto formado na fermentação em consonância com a quantidade de substrato

consumida no processo. Já a produtividade pode ser calculada por meio da quantidade de produto em determinado tempo (Jacob e Campos, 2022).

3.2.1. Leveduras Selvagens

As leveduras que se desenvolvem em ambientes naturais são chamadas de leveduras selvagens. Elas se diferenciam das leveduras cultivadas em laboratório e das comerciais, que possuem aplicação específica em processos industriais. Essas leveduras possuem capacidade de adaptação e eficiência em processos fermentativos, caracterizando-se pela sua rapidez na fermentação e na multiplicação, devido à sua competitividade por nutrientes (Menezes *et al.*, 2022).

Embora não representem um risco intrínseco, sua presença em processos fermentativos controlados pode gerar impactos negativos, como a competição por recursos, redução no rendimento, aumento do tempo necessário para a fermentação e problemas operacionais. Além disso, algumas delas podem produzir substâncias que prejudicam a funcionalidade das leveduras selecionadas para o processo. Por isso, o isolamento adequado da levedura selecionada é fundamental para evitar interferências e garantir a eficiência e a qualidade do processo fermentativo (Kronka, 2021).

Entre 1993 e 2005 foi estabelecido um programa significativo de seleção de leveduras selvagens, impulsionado pela percepção do potencial dessas leveduras para aplicação de interesse industrial. Assim como a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, amplamente reconhecida como pioneira nesse campo, a levedura JP1 também foi isolada e, atualmente, desempenha um papel importante na produção de etanol, contribuindo para o aumento do rendimento nas usinas com sucesso (Rego-Costa *et al.*, 2023; Santos, 2023). Neste contexto, as leveduras selvagens apresentam características que proporcionam vantagens em fermentações naturais, especialmente pela elevada eficiência na competição por nutrientes.

Por sua elevada agilidade e potencial fermentativo, as leveduras selvagens apresentam grande relevância como biocatalisadores. No entanto, para que sejam aplicadas de forma eficiente em contextos industriais, é fundamental investir em pesquisas voltadas para a bioprospecção e o isolamento de novas linhagens que atendam às demandas específicas do setor.

3.3. ETANOL

A produção de etanol era inicialmente restrita à fermentação natural, destinada à fabricação de bebidas alcoólicas. Contudo, a descoberta da técnica de destilação ampliou consideravelmente suas aplicações. Com essa inovação, o etanol passou a ser utilizado como solvente químico em diversas áreas, incluindo a formação de cosméticos, fármacos e antissépticos na área da saúde (De Jesus, 2021). Mesmo com essas novas utilidades, o álcool não deixou de estar presente na indústria de bebidas.

Por volta de 1925, o Brasil conseguiu a sua primeira experiência com etanol combustível, devida a introdução das primeiras ações de matriz energética. Em 1933, a criação do Instituto do Açúcar e do Alcool (IAA) tornou obrigatória a mistura de etanol na gasolina. No entanto, foi apenas em 1975 com o lançamento do Programa Nacional do Alcool (Proálcool), que a produção de etanol passou a ser incentivada. A criação do programa foi uma resposta a Primeira Grande Crise Petrolífera, que elevou significativamente os preços do petróleo e impactou a economia brasileira. Com isso, buscou-se reduzir a dependência nacional do petróleo importado, promovendo alternativas energéticas mais sustentáveis (De Jesus, 2021; Vieira, 2021).

No início do Século XXI, o setor sucroalcooleiro do Brasil era competitivo devido à força do mercado interno e o grande estímulo do mercado de açúcar, sendo que em 2003 este setor ganhou um novo impulso com a chegada dos veículos *Flexfuel* (Vieira, 2021). A preocupação com o meio ambiente impulsionou significativamente o mercado de biocombustíveis. Neste contexto, o Brasil, devido à sua abundância de recursos naturais, pôde aproveitar oportunidades como a adesão ao Protocolo de Kyoto, fortalecendo sua posição nesse setor (Soares e Zukowski Junior, 2021).

Em 2017, foi criada a Política Nacional de Biocombustíveis, o RENOVABIO, com a finalidade de posicionar o Brasil como líder no mercado de biocombustíveis. Atualmente, o país ocupa o segundo lugar na produção mundial de etanol, o que contribui para a redução na importação de combustíveis fósseis (Soares e Zukowski Junior, 2021; Oliveira, 2023), e para minimizar as emissões de gases poluentes

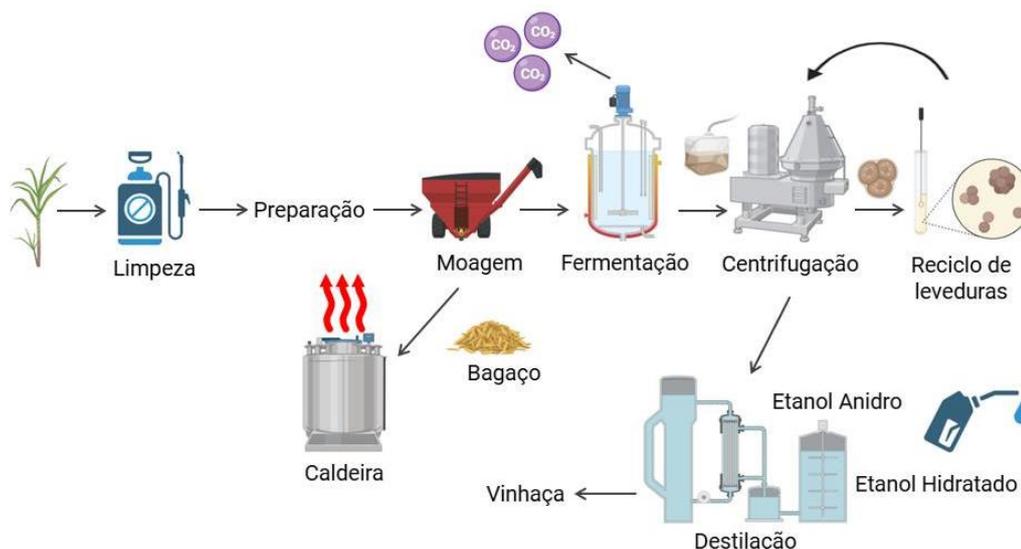
causadores do efeito estufa. Recentemente, foi testado o uso da gasolina com 30% de etanol no Brasil, demonstrando esforços contínuos em direção à sustentabilidade (Brasil, 2025). No entanto, apesar dessa constante preocupação ambiental, ainda persiste uma dependência significativa dos combustíveis fósseis, dificultando uma equivalência efetiva no mercado de matriz energética (Vidal, 2024).

O etanol, assim como os demais biocombustíveis, é classificado em três gerações, diferenciadas principalmente pela matéria-prima utilizada, embora todas dependam do processo de fermentação alcoólica. A primeira geração baseia-se no uso de açúcares e amido como fontes primárias, a segunda geração utiliza resíduos agroindustriais como o bagaço da cana-de-açúcar; e a terceira faz uso de plantas energéticas, como microalgas. No Brasil, a cana-de-açúcar destaca-se como a principal matéria-prima para a produção de etanol, sendo processada a partir do caldo ou melaço. Em contraste, países como Estados Unidos, China e França, aplicam o milho como fonte para sua produção (Ortiz, 2017).

O processamento do etanol é feito a partir do caldo extraído da matéria-prima que logo é filtrado para retirada de sólidos maiores indesejáveis como areia e fragmentos do bagaço, sendo este um processo importante para garantir um aumento da vida útil dos equipamentos. O material resultante da filtração, conhecido como torta de filtro, pode ser reaproveitado como adubo devido à sua riqueza em cálcio e fósforo. O caldo filtrado será o mosto a ser fermentado (De Jesus, 2021; Oliveira, 2022).

O processo fermentativo é realizado pela ação de leveduras como a mais comum *Saccharomyces cerevisiae* em condições anaeróbias. O líquido resultante do processo de fermentação, conhecido como vinho apresenta uma baixa concentração de etanol. Por isso, deve ser direcionado à destilaria, onde passa por etapas de purificação e desidratação para a obtenção de etanol anidro. A Figura 2 apresenta um diagrama sobre os processos de produção de etanol.

Figura 2 – Fluxograma simplificado da produção industrial de etanol.



Fonte: Acervo do autor, 2025 (Figura criada com o BioRender.com).

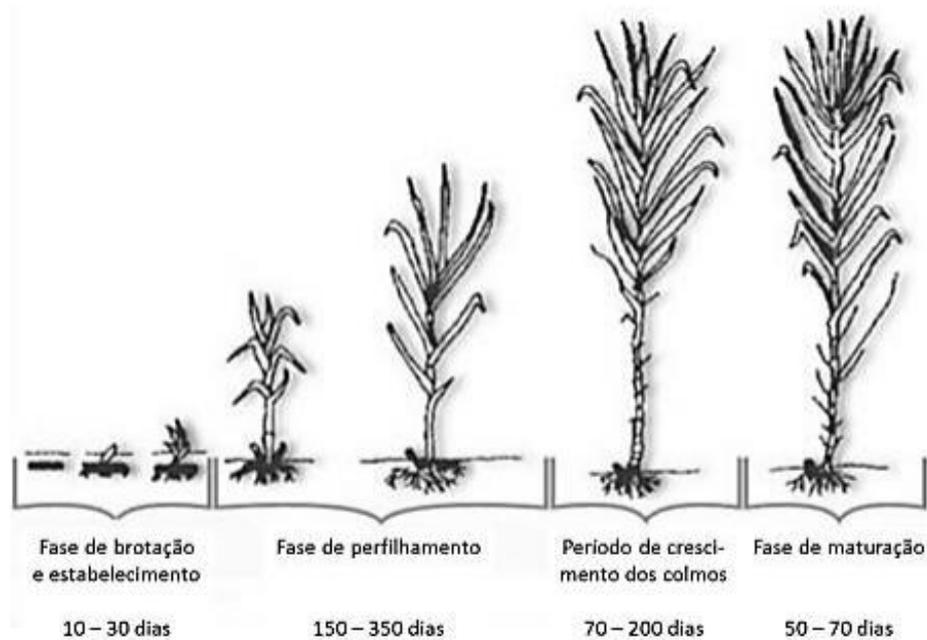
Legenda: O fluxograma ilustra as etapas da produção industrial de etanol, partindo da matéria-prima e seguindo para os processos de limpeza e preparação, moagem, fermentação, centrifugação e destilação, até obter o etanol pronto para o uso.

3.3.1. Cana de Açúcar

No Brasil, a cana-de-açúcar é a principal matéria-prima utilizada na produção de etanol, visto que esta planta chegou ao Brasil no período colonial e se transformou em uma das principais culturas econômicas. A cana-de-açúcar, *Saccharum officinarum*, é uma planta de origem asiática mais especificamente China e Índia, além de regiões da Oceania, como Nova Guiné. Já no Brasil, as variedades cultivadas atualmente são híbridas multiespecíficas (Jadoski *et al.*, 2010; Souza, 2022).

Em sua forma nativa, a cana-de-açúcar é perene, com caule em crescimento cilíndrico com folhas alternas presas em seus nós e entre nós dos colmos. É uma planta que se multiplica assexuadamente, mas quando cultivada para fins comerciais pode se reproduzir sexuadamente por meio de propagação vegetativa. A cana-de-açúcar é amplamente cultivada em regiões subtropicais e tropicais, abrangendo mais de 90 países. Cada ciclo vegetativo da planta requer precipitação pluviométrica entre 1500 a 2500 mm. Sendo uma planta perene, a cana-de-açúcar é capaz de suportar vários ciclos produtivos (Jadoski *et al.*, 2010; Silva, 2019; Souza, 2022). A Figura 3 apresenta o ciclo fenológico de desenvolvimento da cana-de-açúcar.

Figura 3 – Estágios de desenvolvimento da cana-de-açúcar.



Fonte: Gascho e Shih, 1983.

Legenda: Os estágios de desenvolvimento da cana-de-açúcar abrangem desde a brotação até a maturação, com destaque para o perfilhamento, crescimento dos colmos, formação das folhas e acúmulo de sacarose antes da colheita.

A região Centro-Oeste destacou-se na produção de matéria-prima voltada para a produção de etanol, expandindo não apenas o cultivo de cana-de-açúcar, mas também o de milho (De Jesus, 2021; Conab, 2024; Vidal, 2024). Embora a cana-de-açúcar apresente teores de sacarose entre 10% e 18% e alta produtividade por hectare, seu rendimento energético é considerado baixo. Por outro lado, o milho se destaca pela possibilidade de estocagem da matéria-prima, característica que viabiliza a produção de biocombustíveis durante o período de entressafra da cana (Souza, 2022; Vidal, 2024).

A cana-de-açúcar quando atinge o ápice de crescimento e maturação, por volta de 12 a 18 meses, é colhida e logo encaminhada à usina, onde será limpa das impurezas para realizar a extração do caldo (Figura 2). Entre a colheita e a chegada da usina, não se deve demorar mais de 24 horas para evitar perdas da qualidade e açúcares (Silva, 2019; De Jesus, 2021; Oliveira, 2022).

Com a expansão das usinas sucroalcooleiras, a produção de cana-de-açúcar no Estado da Paraíba apresentou um crescimento significativo, posicionando-o como o segundo maior produtor do Nordeste, ficando atrás apenas de Alagoas (Silva, 2019; Ibge, 2023; Wanderley, 2024). Neste contexto, o clima semiárido e o bioma da

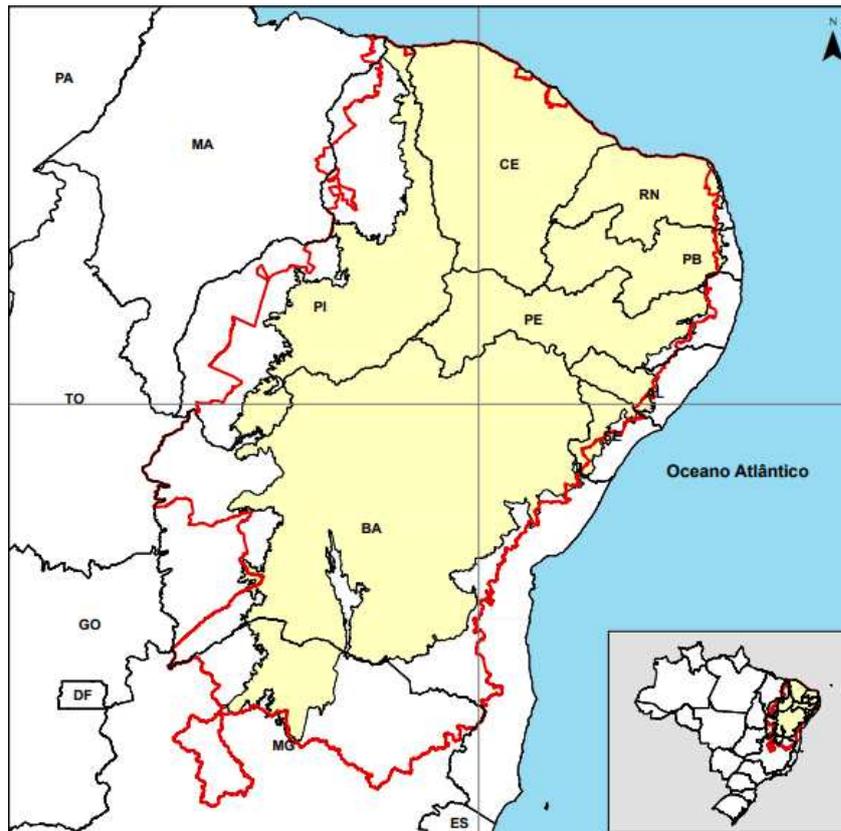
Caatinga têm desempenhado um papel relevante, contribuindo para a geração de matéria-prima destinada à produção de etanol.

No entanto, em regiões de clima mais seco, a irrigação torna-se essencial para garantir a produtividade da cultura, visto que a cana-de-açúcar requer um volume adequado de água para seu desenvolvimento (Resende *et al.*, 2021). Além disso, a variedade conhecida como cana caiana tem se destacado por sua adaptação a essas condições adversas, permitindo melhor aproveitamento em áreas menos úmidas (Miranda e Bispo, 2022). O período de safra na região também influencia diretamente na qualidade e rendimento da produção, sendo fundamental em planejamento eficiente para otimizar o cultivo e a colheita conforme as variações climáticas sazonais (Embrapa, 2022b).

3.4. CAATINGA

O Brasil é considerado como um dos países mais ricos em biodiversidade do mundo, abrigando uma ampla variedade de ecossistemas, como as áreas alagadas do Pantanal, as savanas do Cerrado, as florestas tropicais úmidas da Amazônia e da Mata Atlântica, as pastagens dos Pampas e as florestas tropicais sazonalmente secas da Caatinga (Melo *et al.*, 2023). Este último bioma, exclusivo do semiárido brasileiro, está localizado majoritariamente na região Nordeste e se destaca pelo clima tropical semiárido, com baixa disponibilidade hídrica, além de possuir grande relevância biológica e econômica (Silva *et al.*, 2022; Dos Reis *et al.*, 2023). O bioma da Caatinga ocupa uma área de aproximadamente 1.182.697 km², representando 14% do território brasileiro e 76% da região Nordeste conforme apresentado na Figura 4 (Macedo *et al.*, 2023).

Figura 4 – Mapa do bioma Caatinga



Fonte: Insa, 2021.

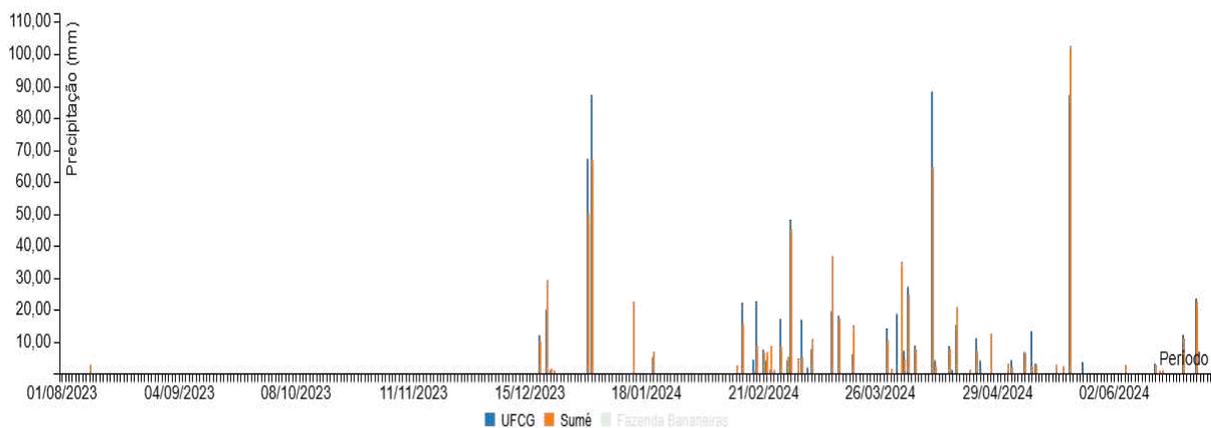
Legenda: A imagem ilustra por meio de um recorte do mapa do Brasil, o semiárido marcado pela linha vermelha e o bioma da Caatinga colorido em bege.

A Caatinga caracteriza-se como um ambiente sujeito a longos períodos de seca, práticas de extrativismo vegetal, agricultura rudimentar e processos erosivos decorrentes da intensificação da pecuária. O nome “Caatinga” tem origem na língua Tupi-Guarani e significa “mata ou floresta branca” em referência à queda das folhas que ocorre durante a estação de seca (Silva, 2020). Devido a essas características únicas e exclusivas, o bioma abriga uma biodiversidade rica e peculiar, incluindo espécies endêmicas. Além disso, muitos microrganismos presentes na Caatinga possuem potencial para atender as necessidades humanas em diversas áreas (Dos Reis *et al.*, 2023).

Em contraste com a Caatinga, a produção de cana-de-açúcar no Nordeste tem registrado crescimento devido à crescente demanda de biocombustíveis (Almeida, 2024). Contudo, o cultivo da cana enfrenta desafios relacionados ao clima, uma vez que essa cultura necessita de aproximadamente 1500 a 2500 mm de água por ano, enquanto a média anual de precipitação na região Nordeste é inferior a 1000 mm (Silva, 2019). No entanto, a irregularidade das chuvas ao longo do ano

pode ser aproveitada para suprir parte dessa necessidade hídrica. Especificamente na Paraíba, no município de Sumé os meses de Fevereiro e Março concentram maior incidência de chuvas como mostra a Figura 5, favorecendo o plantio de cana-de-açúcar e a colheita entre os meses de Novembro e Abril (Embrapa, 2022a). Além disso, o período pós-chuvas apresenta condições ideais de umidade relativa do ar para o desenvolvimento adequado da cultura (Silva, 2019).

Figura 5 – Precipitação no município de Sumé no período do estudo



Fonte: (Aesa, 2024).

Legenda: Gráfico da precipitação no município de Sumé durante o período de construção da coleção de leveduras por meio de coleta, correspondendo a Agosto de 2023 até Julho de 2024.

Embora a Caatinga seja conhecida por sua vegetação exclusiva, o bioma também abriga uma significativa diversidade de microrganismos, como leveduras, cujo potencial biotecnológico permanece quase inexplorado (Macêdo, 2022; Rosa *et al.*, 2023). Além dos fatores climáticos e das características da região, a presença de cana-de-açúcar, rica em sacarose, proporciona um ambiente favorável para o desenvolvimento dessas leveduras. Estima-se que cerca de 99% da biodiversidade de leveduras na América Latina ainda seja desconhecida, o que destaca a necessidade de estudos mais aprofundados. A dispersão desses microrganismos no solo e nas plantas pode ser facilitada por insetos, por meio do vento e também por aves, fortalecendo as perspectivas de bioprospecção de novas leveduras no bioma da Caatinga (Silva, 2020; Rosa *et al.*, 2023).

3.5. BIOPROSPECÇÃO

A bioprospecção pode ser considerada como busca sistemática, classificação e investigação de novos materiais biológicos ou compostos orgânicos presentes em microrganismos, planta e animais que possam ter potencial e valor econômico

(Sousa *et al.*, 2013; Marques *et al.*, 2022). A humanidade tem explorado os recursos naturais desde os primórdios da civilização, portanto, a bioprospecção não é um conceito atual (Cavalcante *et al.*, 2022).

A partir da biodiversidade, a bioprospecção consegue recorrer aos recursos naturais e desenvolver produtos que sejam úteis para a humanidade (Marques *et al.*, 2022). Várias áreas conseguem ser beneficiadas pela bioprospecção como a química, saúde, indústria cosmética, farmacêutica, agricultura, entre outras. Bioprocessos como biorremediação, biomonitoramento e fermentação podem ser destacados como participantes de bioprospecção, pois se enquadra em um fundamento dos bioprocessos, a busca pelo microrganismo ideal (Cavalcante *et al.*, 2022).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a identificação de leveduras baseia-se principalmente em características fisiológicas, uma vez que sua morfologia é limitada e não oferece distinção significativa entre gêneros. Além disso, muitos fenótipos biológicos ainda carecem de uma descrição detalhada de seus componentes genéticos (Silva *et al.*, 2022). Neste contexto, abordagens baseadas no cultivo revelam-se mais eficientes do que métodos exclusivamente quando combinadas com testes fermentativos e de tolerância ao etanol para explorar e identificar novas características dessas leveduras.

As leveduras selvagens, por sua vez, têm recebido pouca atenção em estudos de bioprospecção, com grande parte das pesquisas focadas na produção de bebidas alcoólicas. Assim, a bioprospecção de leveduras selvagens destaca-se como uma área promissora para a descoberta de novos microrganismos com potencial interesse industrial, ampliando as possibilidades de aplicação biotecnológica.

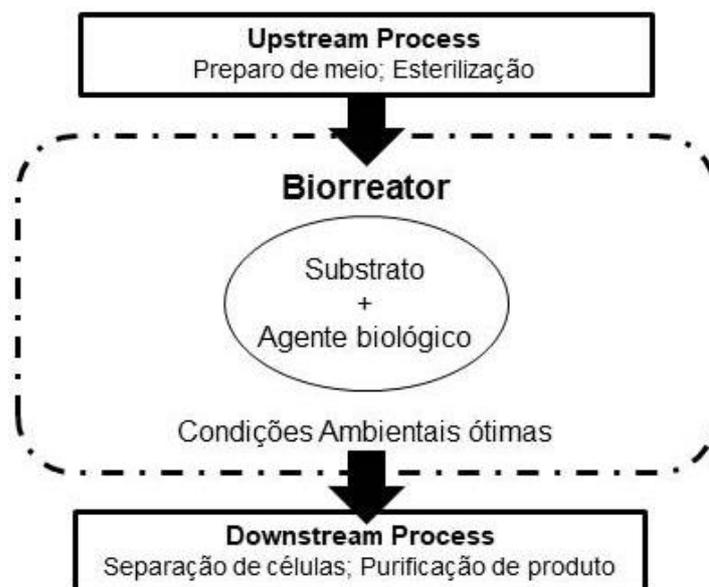
Sob a ótica da Engenharia de Bioprocessos, o processo fermentativo está intrinsecamente ligado ao desenvolvimento de estratégias que otimizem a produção. Essa busca por eficiência fundamenta-se nos quatro pilares da fermentação: microrganismos, substrato, condições operacionais e recuperação do produto, elementos essenciais para alcançar maior rendimento e viabilidade industrial (Alves *et al.*, 2020). Dessa forma, a bioprospecção de leveduras emerge como um passo estratégico no avanço do setor biotecnológico.

3.6. BIOPROCESSOS

Os bioprocessos são operações realizadas por agentes biológicos que emergiram como uma tecnologia promissora, destacando-se como uma alternativa sustentável e inovadora para diversas aplicações industriais e científicas (Sousa *et al.*, 2013; Cardozo, 2023). Uma grande parte dos estudos na área de bioprocessos envolve a compreensão do mecanismo de produção, para se escolher o biocatalizador ideal, as condições ambientais mais adequadas para se obter um rendimento melhor e a busca por recursos mais favoráveis economicamente (Alves *et al.*, 2020).

Os bioprocessos podem-se ser divididos em três estágios, como apresentado na Figura 6. O primeiro estágio consiste nas etapas de preparação da matéria-prima (substrato) antes de sua transformação, caracterizando os processos como *upstream*. O segundo estágio envolve a conversão do substrato em produto final, geralmente realizada em um biorreator. Por fim, o terceiro estágio corresponde às etapas subsequentes a transformação, denominadas processos *downstream* (Silva, 2022). Diversos resíduos industriais têm sido utilizados como substrato em diferentes bioprocessos, resultando na produção de moléculas com elevado valor econômico como o etanol (Sousa *et al.*, 2013).

Figura 6 – Etapas fundamentais de um bioprocessos.



Fonte: Pereira Jr *et al.*, 2008.

Legenda: O bioprocessos ocorre em três estágios principais: o *Upstream Process* que prepara para a transformação; o biorreator, onde a transformação acontece e *Downstream Process* que realiza os procedimentos após a transformação.

Segundo Pereira Jr *et al.* (2008), existem algumas “peças-chaves” na otimização de Bioprocessos como Modelagem e Simulação, Instrumentação e Controle, assim como a Engenharia Bioquímica que auxilia na compreensão do biocatalizador. Dessa forma, a Engenharia, quando unida aos Bioprocessos, encaminha as ideias biotecnológicas executadas por meio de bioprocessos a um nível comercial. Assim a Engenharia de Bioprocessos se apresenta como uma área de grande potencial para os avanços tecnológicos visando à sustentabilidade em meio ao setor produtivo (Cardozo, 2023).

Para poder desenvolver um bioprocessos é necessário seguir alguns passos como seleção e melhoramento de linhagens de microrganismos, aprimoramento de meio de cultura, experimentos em biorreatores de níveis laboratoriais, avaliação em escala piloto e conseqüentemente, pesquisas e aplicações do aumento de escala. Alguns estudos complementam neste desenvolvimento como Engenharia Metabólica, fenômenos de indução, inativação de determinadas células e enzimas por meio de técnicas de imobilização que reduz o uso de aparelhos de custo elevado (Pereira Jr *et al.*, 2008). Deste modo, os bioprocessos precisam ser reavaliados com certa constância para aperfeiçoar o desempenho lucrativo e as inovações tecnológicas (Alves *et al.*, 2020).

3.7. IMOBILIZAÇÃO CELULAR

De acordo com a 1ª Conferência em Engenharia de Enzimas, realizada em 1971 na cidade de Henniker, nos Estados Unidos, os biocatalisadores imobilizados são catalisadores, como enzimas ou células vivas, confinados fisicamente em uma região específicas. Essa característica permite a retenção de suas atividades catalíticas, possibilitando seu uso repetitivo ou a aplicação em processos contínuos tanto em escala laboratorial quanto industrial. Imobilização, de modo geral, pode ser compreendida como aprisionamento de um microrganismo ou enzima em uma matriz selecionada com função de suporte e que possua certa porosidade como géis, pectina, crisólita, resíduos agroindustriais, materiais cerâmicos entre outros (Covizzi *et al.*, 2007; Lima, 2019).

O procedimento de imobilização apresenta potencial para redução de custos, possibilitando processos mais econômicos devido ao reaproveitamento dos microrganismos e à diminuição na geração de resíduos (Kovaleski *et al.*, 2020). Outro aspecto relevante é que o revestimento celular pode melhorar o rendimento do

processo fermentativo, fornecendo proteção às células contra altas concentrações de substrato, metabólitos tóxicos produzidos por bactérias contaminantes e o próprio etanol (De Jesus, 2021).

A utilização de biocatalisadores específicos caracteriza os processos como bioprocessos industriais. Desse modo, a imobilização tem ganhado destaque como uma técnica inovadora e amplamente estudada, demonstrando grande potencial para atender às demandas industriais e aumentar a produtividade (Coutinho, 2020; Rosa *et al.*, 2021). Este sistema oferece vantagens significativas, como a proteção das células contra forças de cisalhamento e a simplificação da separação da biomassa do produto final, eliminando a necessidade do uso de centrífugas (Coutinho, 2020). Além disso, a imobilização minimiza a difusão celular, o que torna possível a aplicação de biorreatores de leito fluidizado de maneira eficiente (Oliveira, 2021).

A célula imobilizada tende a realizar o mesmo processo que ocorre na configuração livre (Ortiz, 2017). As células podem ser revestidas por meios naturais ou artificiais, a matriz imobilizante impede o movimento das células independente do meio ao seu redor (Kovaleski *et al.*, 2020). Esta matriz deve conter uma ampla área superficial para que as células se reproduzam, realize trocas gasosas, adsorva o substrato e libere o produto. Também é importante que a matriz não degrade e possua uma boa estabilidade econômica para que seja eficaz ao realizar bioprocessos (De Jesus, 2021).

Existem duas maneiras de se imobilizar uma célula, a natural e a artificial. A imobilização natural ocorre por meio de interações eletrostáticas de adsorção microbiana em matriz natural. Já o método artificial ocorre por meio da fixação das células por encapsulamento em matriz porosa (Covizzi *et al.*, 2007). Um dos suportes mais utilizados na imobilização celular é o alginato. Este é um copolímero linear que pertence a um grupo de polissacarídeos que pode ser extraído da parede celular de algas marinhas (Ortiz, 2017).

O alginato de cálcio é um material de baixo custo, simples e não tóxico, além de apresentar uma metodologia simples como relatada pelo grupo de pesquisa (Duarte *et al.*, 2013), no qual o alginato de sódio é misturado com as células de leveduras e gotejado em cloreto de cálcio. A polimerização do alginato de cálcio

ocorre por meio de ligações iônicas nas quais o íon sódio do alginato é trocado pelo íon cálcio do carbonato sem precisar de alterações de temperatura, pH e pressão osmótica, permitindo a viabilidade celular ao formar matriz porosa e homogênea (De Jesus, 2021; Rosa *et al.*, 2021).

4. METODOLOGIA

Os procedimentos descritos foram conduzidos sob condições de assepsia, utilizando Cabine de Segurança Biológica. Os experimentos foram realizados no laboratório de Biotecnologia da UFCG, localizado no Campus CDSA situado no município de Sumé – PB com coordenadas 7° 40' 19" S, 36° 52' 54" W, distante 264 km da capital da Paraíba, João Pessoa.

4.1. CONSTRUÇÃO DA COLEÇÃO DE LEVEDURAS SELVAGENS

Foram realizadas coletas de caldo de cana no período entre setembro de 2023 a julho de 2024 em pontos de venda no município de Sumé – PB. Os locais de venda de caldo de cana identificados foram limitados, mas ainda assim foi possível coletar amostras diferentes, devido à variedade de produtores de cana-de-açúcar disponíveis. Observou-se que os vendedores de caldo de cana frequentemente alternam seus fornecedores a cada compra, uma vez que os produtores comercializam suas safras em períodos específicos. Durante os intervalos entre as safras, os vendedores necessitam buscar novos fornecedores para atender à demanda por cana.

A troca frequente de fornecedores de cana-de-açúcar contribuiu para a diversificação na coleta de caldo de cana. Mesmo nos casos em que os fornecedores se repetiram, os diferentes fatores climáticos ao longo do ano permitiram a análise da influência das variações climáticas, incluindo o impacto das condições específicas do clima da Caatinga tanto no cultivo cana-de-açúcar quanto no desenvolvimento das leveduras.

4.1.1. Cultivo das leveduras

Após as coletas de caldo de cana, foi separada uma alíquota de cada caldo e colocadas em erlenmeyer por 24 horas. O restante do caldo foi autoclavado nas condições de 121°C a 1atm por 15 minutos e depois filtrado para retirada de células mortas e por fim ser utilizado no meio de cultura com 0,6 % de ágar e novamente autoclavado nas mesmas condições. Este caldo possui os nutrientes necessários para o cultivo das leveduras (Jacob e Campos, 2022).

Cada alíquota foi centrifugada a 1300 rpm por 5 minutos e depois levada ao fluxo laminar juntamente com o meio de cultura e as placas de Petri também previamente autoclavadas. Foram adicionadas 500 mg de amoxicilina ao meio de

cultura. Em seguida, foram transferidos 20 mL em placas para que endureça. O inóculo foi preparado após a remoção do sobrenadante, sendo suspenso em solução salina 0,9 %. Posteriormente, com auxílio de alças de inoculação descartáveis, foi cuidadosamente transferido para o meio previamente solidificado.

As placas com o inóculo foram vedadas com plástico filme e identificadas conforme a coleta e a sequência de placas para ser levada a estufa a 37°C por 24 horas ou até que fosse realizada a visualização microscópica das leveduras por meio do preparo de lâminas.

4.1.2. Isolamento e Armazenamento

Para que fosse possível realizar o isolamento das leveduras selvagens, as colônias proliferadas (Figura 7) foram transferidas a cabine de segurança biológica, para serem lavadas com 500 µL de caldo de cana autoclavado e auxílio de um bastão de vidro. Após a lavagem, foram retiradas 500 µL da suspensão e transferidas a um tubo de polipropileno com capacidade de 1,5 mL contendo mais 500 µL de solução salina 0,9 %, garantindo a preservação celular.

Figura 7 – Placa de Petri com inóculo proliferado.



Fonte: Autor, 2024.

Legenda: Placa de Petri contendo meio de cultura preparado com caldo de cana filtrado e autoclavado, suplementado com 0,6% de ágar, sobre o qual foi inoculada uma população de leveduras.

Após 24 horas, lâminas foram preparadas no fluxo laminar para a visualização microscópica das leveduras. A solução foi então diluída na proporção de 1:10 e incubada por mais 24 horas para uma nova análise. Em seguida, as colônias foram transferidas para uma nova placa com meio de cultura, permitindo o isolamento das leveduras. Devido à diversidade de leveduras na placa, mais de uma levedura foi isolada por coleta.

Depois de realizado o isolamento, em um tubo cônico de 1,5 mL, foi adicionado 1 mL de levedura isolada acrescida de 300 µL de glicerol e levadas ao refrigerador a -10° C. O glicerol é um crioprotetor que ajuda a estabelecer condições apropriadas de congelamento para as células (Peres *et al.*, 2005).

4.2. SELEÇÃO DE LEVEDURAS

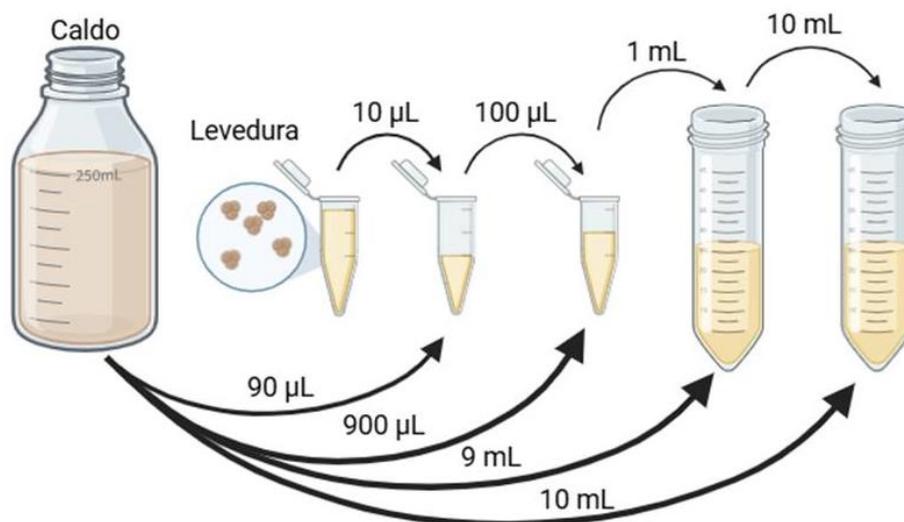
Para determinar as leveduras com maior potencial fermentativo, foram realizados testes específicos, com o objetivo de avaliar a capacidade de produção de etanol das leveduras isoladas. Esses testes permitiram selecionar as leveduras mais eficientes para o processo fermentativo.

4.2.1. Propagação Celular

A seleção de leveduras foi iniciada por meio da propagação dos isolados, permitindo a continuidade dos testes fermentativos. Para cada isolado, foram utilizados 10 µL de levedura combinados com 90 µL de caldo de cana autoclavado, sendo essa mistura transferida para tubos de 1,5 mL onde permaneceram por 24 horas. Após o período de incubação, foram adicionados 900 µL de caldo de cana autoclavado, totalizando 1 mL de solução em cada tubo.

Após 24 horas, 1 mL de levedura propagada foi transferido para um tubo cônico de polipropileno com capacidade de 50 mL, ao qual foram adicionados 9 mL de caldo de cana autoclavado. Após mais 24 horas de incubação, foram acrescentados 10 mL do mesmo caldo, totalizando o volume necessário para o preparo do inóculo destinado aos testes fermentativos, realizados 24 horas depois. O esquema detalhado da propagação está ilustrado na Figura 8.

Figura 8 – Propagação de leveduras isoladas



Fonte: Acervo do autor, 2025 (Figura criada com o BioRender.com).

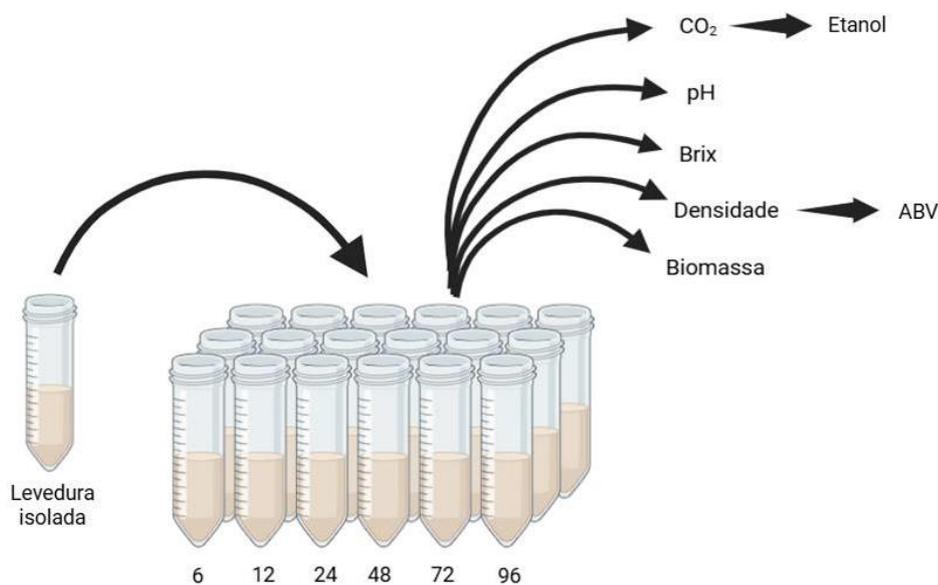
Legenda: Propagação de leveduras isoladas esquematizada a partir de 10 µL até 20 mL utilizando caldo de cana autoclavado como meio de cultivo, durante 72 horas.

4.2.2. Teste fermentativo

Para a realização deste teste, foram utilizados 18 tubos cônicos de 50 mL, permitindo a análise cinética em triplicata para cada levedura isolada, avaliadas em seis intervalos de tempo distintos. A fermentação foi conduzida utilizando caldo de cana autoclavado, com sólidos solúveis ajustados a um Grau Brix de 16, por meio de um refratômetro analógico, e o pH ajustado para 6,0 utilizando NaHCO_3 .

Em cada tubo foram adicionados 19 mL de caldo de cana autoclavado e 1 mL de levedura propagada. Este procedimento foi realizado para cada levedura isolada para que fosse possível analisar CO_2 , pH, Brix, Densidade e Biomassa em 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas e assim avaliar a cinética da produção de etanol pela via de CO_2 e pela densidade. O esquema do teste fermentativo está apresentado na figura 9.

Figura 9 – Fluxograma do teste fermentativo



Fonte: Acervo do autor, 2025 (Figura criada com o BioRender.com).

Legenda: Esquema de teste fermentativo com 20 mL de levedura isolada, distribuída em 18 erlenmeyers (1 mL) e analisada em triplicata em 6 períodos para CO₂, pH, Brix, Densidade e Biomassa.

4.2.2.1. Análise indireta da produção de etanol via CO₂

Os tubos cônicos foram mantidos em condições aeróbias, com a adição de 20 mL de amostra em tubos cônicos de 50 mL, o que permitiu a análise do CO₂ liberado durante o processo (Figura 10). Inicialmente, os tubos foram pesados individualmente e, em seguida, abertos para possibilitar a liberação do gás acumulado. Após essa etapa, os tubos foram fechados novamente e submetidos a uma nova pesagem, garantindo a precisão das medições realizadas.

Figura 10 – Produção de gás carbônico no tubo cônico



Fonte: Autor, 2024.

Legenda: (a) Tubo cônico com 20 mL de caldo antes da fermentação. (b) O mesmo tubo cônico horas depois de fermentado mostrando a produção de gás carbônico.

O valor de CO₂ foi obtido a partir da subtração de massas e depois convertido em etanol conforme o balanço molar segundo a reação global apresentada na Equação 1:



No qual:

C₁₂H₂₂O₁₁(aq) = Sacarose dissolvida em água

H₂O(l) = Água em estado líquido

4C₂H₆O(aq) = Etanol dissolvido em água

4CO₂(g) = gás carbônico

A conversão de massa foi realizada a partir do cálculo estequiométrico em que um grama de sacarose resulta na formação de 0,51 gramas de gás carbônico e 0,54 gramas de etanol (Papp *et al.*, 2016). Os valores encontrados foram convertidos em porcentagem para que as duas vias de etanol fossem avaliadas na mesma escala.

4.2.2.2. Análise cinética da variação de pH

Para avaliar o pH do caldo fermentado, foi retirada uma alíquota de cada tubo e transferida para um béquer. O pH foi medido individualmente utilizando um pHmetro portátil previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0.

4.2.2.3. Análise cinética de sólidos solúveis

A avaliação de sólidos solúveis (açúcares) foi realizada a partir de um refratômetro analógico utilizando uma gota do caldo fermentado colocada na lente que focaliza luz e um espelho que reflete esta mesma luz em escala de Grau Brix (Junior, 2022).

4.2.2.4. Análise cinética do teor alcoólico por ABV (*Alcohol By Avalue*)

A densidade foi determinada utilizando um tubo cônico de 1,5 mL. Inicialmente, o tubo foi pesado vazio e, em seguida, recebeu 1 mL de caldo fermentado, transferido com auxílio de uma micropipeta. Após essa etapa, o tubo foi novamente pesado, e a densidade foi calculada subtraindo a massa inicial do tubo. O valor obtido da densidade (OF) foi convertido em teor de ABV, ao aplicar a Equação 2 (Oura, 1977), sendo OG referente à densidade do caldo anterior ao processo de fermentação.

$$ABV = 131,25 \times (OG - OF) \quad (\text{Equação 2})$$

No qual:

Constante 131, 25 = Razão entre a massa de etanol produzida e a massa de CO₂ liberada durante a fermentação

OG = Densidade relativa antes de iniciar a fermentação

OF = Densidade relativa no momento de análise

O cálculo baseia-se na relação entre as densidades medidas no início e no final do processo, com a redução da densidade indicando um aumento do teor alcoólico. Esse fenômeno ocorre porque o consumo da glicose reduz a massa do caldo, enquanto o etanol formado apresenta uma densidade inferior à do caldo inicial (Lima, 2023). As densidades foram determinadas em g/mL, enquanto os valores de ABV foram expressos em escala percentual.

4.2.2.5. Análise cinética de Biomassa de leveduras em meio líquido

Para a análise de biomassa, inicialmente, foi pesado papel filtro qualitativo após ser previamente seco em estufa a 60°C por 24 horas. Em seguida, foi filtrado 1

mL do caldo fermentado, e o papel filtro contendo o resíduo foi novamente levado à estufa, mantendo a mesma temperatura e período de secagem. O valor da biomassa foi determinado subtraindo-se a massa do papel filtro inicial da massa do papel filtro com o resíduo seco após a filtração.

4.2.3. Teste de tolerância ao álcool

Do ponto de vista industrial é de grande interesse que as leveduras tenham capacidade de resistir concentrações de etanol acima de 10%, por isso, durante o processo de fermentação, a alta tolerância não limita o seu rendimento e produtividade (Del Rio, 2004). As leveduras com maior produção de etanol foram selecionadas para realizarem o teste de tolerância ao álcool a 0%, 10% e 15 % de etanol e como comparativo foi utilizada a levedura industrial JP1, disponibilizado pela usina Agroindustrial Japungú.

Os testes foram realizados utilizando caldo de cana autoclavado, padronizado com pH ajustado para 6,0, mediante o uso de NaHCO_3 e Grau Brix ajustado para 11 com auxílio de um refratômetro analógico. Foram preparadas amostras das leveduras selecionadas, bem como de seus respectivos controles, todas realizadas em triplicada. As leveduras selecionadas foram propagadas conforme o item 4.2.1, mas até um volume de 10 mL, sendo 1 mL transferido para cada erlenmeyer, juntamente com 19 mL de caldo autoclavado, totalizando um volume de 20 mL em um sistema de batelada aerada conforme apresenta a Figura 11.

Figura 11 – Sistema de batelada aerada em erlenmeyers.



Fonte: Autor, 2024.

Legenda: O sistema de batelada em erlenmeyers com 20 mL de caldo e leveduras, tampados com rolha de algodão hidrofóbico e cobertos de TNT e elásticos para manter a aeração em mesa agitadora.

Os erlenmeyers foram tampados com rolhas de algodão hidrofóbico e encaminhados a mesa agitadora a 90 rpm por 48 horas. Após o tempo estipulado, uma alíquota de 5 mL do caldo fermentado foi colhida de cada erlenmeyer para ser analisado em termos de Brix, pH e biomassa. O restante do caldo foi centrifugado a 1300 rpm por 5 minutos e depois retirado o sobrenadante para que as leveduras pudessem receber um novo caldo com a concentração de 10% de etanol, com exceção dos controles que receberam um novo caldo sem concentração de etanol. Novamente os erlenmeyers foram encaminhados à mesa agitadora nas mesmas condições citadas anteriormente. O esquema apresentado se encontra ilustrado na Figura 12.

Figura 12 – Fluxograma do teste de tolerância ao etanol



Fonte: Acervo do autor, 2025 (Figura criada com o BioRender.com).

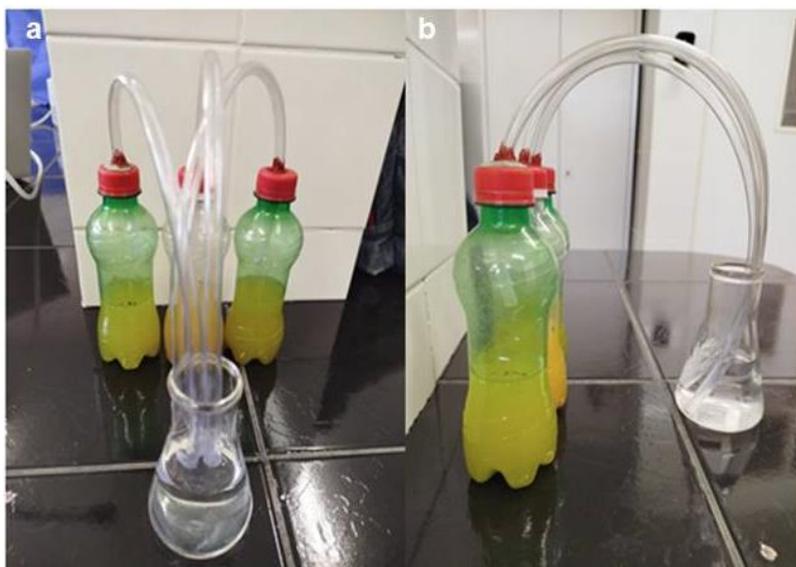
Legenda: Esquema do teste de tolerância ao etanol, representando as etapas de análise e a substituição do caldo com diferentes concentrações de etanol: x, na primeira troca, igual a 10 e x, na segunda troca, igual a 15.

Os procedimentos de análises foram repetidos e dessa vez foi adicionado 15% de etanol e retornados a mesa agitadora. Após 48 horas, as mesmas análises foram realizadas para finalizar o procedimento.

4.3. FERMENTAÇÃO COM IMOBILIZAÇÃO CELULAR

A fermentação deste processo foi realizada utilizando a levedura com maior produção de etanol e com maior tolerância ao álcool, utilizando reatores formados a partir de garrafas de politereftalato de etileno de 250 mL ligadas a erlenmeyers como forma de *airlock*, ou seja, para permitir a saída do gás e evitar contaminação. As tampas das garrafas foram furadas para que fosse possível encaixar 35 cm de mangueira de nível com 8 mm de diâmetro vedada com cola de silicone, sendo 3 reatores ligados a 1 erlenmeyer como forma de triplicata (Figura 13). As análises cinéticas do processo fermentativo foram analisadas em triplicata em 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas.

Figura 13 – Esquema dos reatores utilizados.



Fonte: Autor, 2024.

Legenda: Esquema dos reatores propostos utilizando garrafas de 250 mL com 150 mL de caldo, conectadas em triplicata a um erlenmeyer com água por meio de mangueiras de nível. (a) Vista frontal (b) Vista lateral.

4.3.1. Levedura Livre

As leveduras a serem utilizadas foram propagadas em até 300 mL para que fosse possível adicionar 15 mL de leveduras em 135 mL de caldo de cana autoclavado, formando ao todo 150 mL de caldo em uma proporção de 10% de levedura. Uma alíquota de 20 mL foi colhida e depois filtrada para que fosse realizada a quantificação da biomassa inicial em gramas por mL.

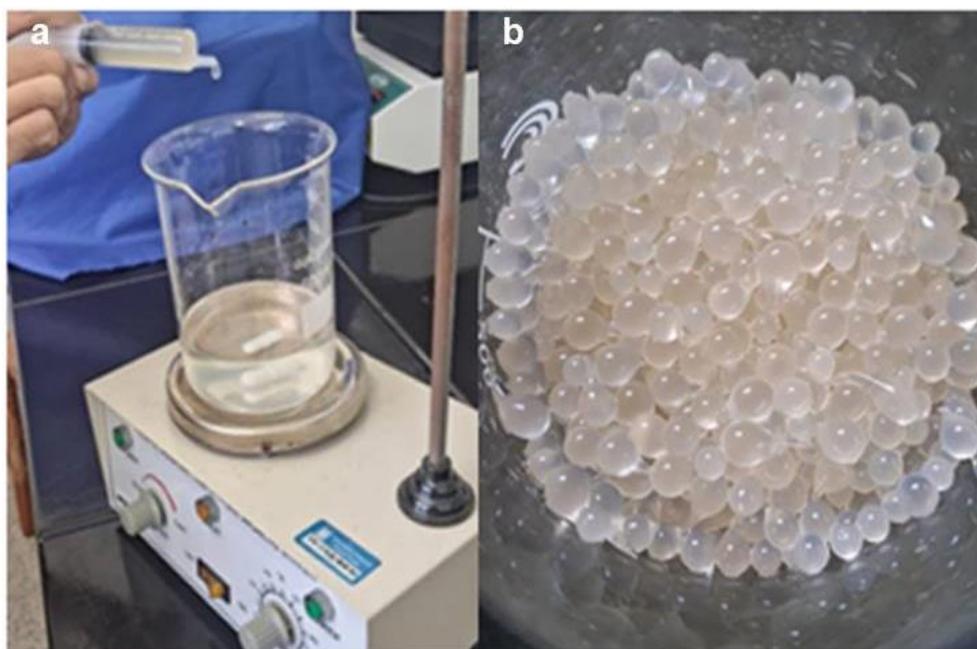
4.3.1.1. Contagem de Leveduras

As leveduras propagadas foram centrifugadas a 1500 rpm por 10 minutos para a retirada do sobrenadante. O precipitado contendo leveduras foi diluído em solução salina 0,9 % entre 5 e 15 vezes de acordo com a necessidade da concentração. Feita a diluição, uma alíquota foi colhida para ser inserido na câmara de Neubauer e com auxílio de um contador manual numérico, foi realizada a contagem do quadrante escolhido.

4.3.2. Imobilização celular

Para preparar o gel, utilizou-se alginato de sódio a 3%, que foi misturado manualmente com o auxílio de uma espátula até atingir uma textura homogênea. Com o gel solubilizado, este permaneceu em repouso por cerca de duas horas, ou até que não houvesse bolhas visíveis. Paralelamente, a solução de CaCl_2 a 2% foi preparada em um béquer, mantido sob agitação magnética suave utilizando um bastão magnético (Duarte *et al.*, 2013). Após a remoção das bolhas do gel, foram adicionadas leveduras, previamente separadas do caldo por centrifugação, com concentrações próximas a 7×10^7 células por L. O gel foi, então, gotejado com auxílio de uma seringa 10 mL na solução de CaCl_2 (Figura 14) e logo depois, as esferas formadas foram transferidas para uma solução de sacarose a 20% para garantir sua hidratação (Figura 15).

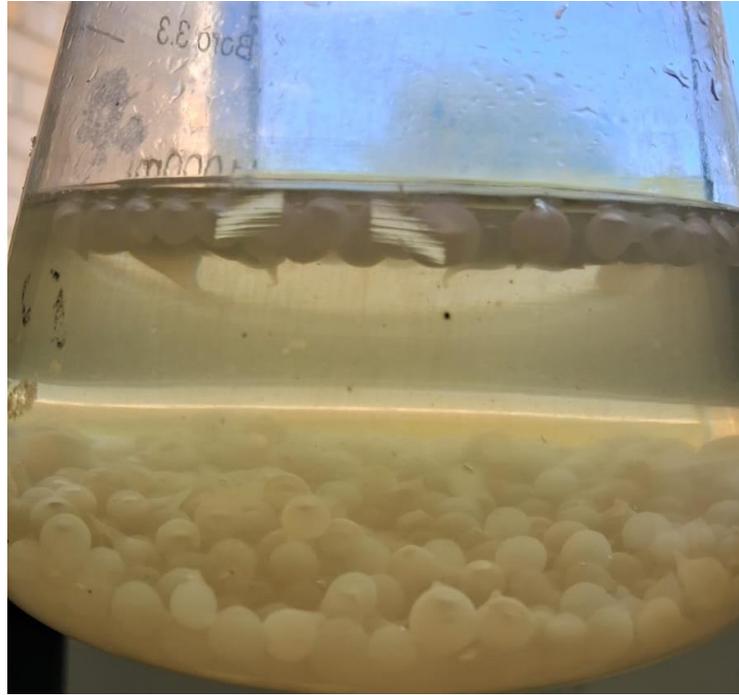
Figura 14 – Esquema de imobilização e esferas já imobilizadas.



Fonte: Autora, 2024.

Legenda: (a) esquema de imobilização a partir do gotejamento manual do gel de alginato de sódio com leveduras na solução de CaCl_2 em agitação mecânica. (a) esferas formadas após o processo descrito anteriormente.

Figura 15 – Esferas em solução de sacarose.



Fonte: Autor, 2024.

Legenda: Erlenmeyer com as esferas de leveduras formadas após imobilização mantidas hidratadas em solução de sacarose.

O inóculo foi realizado a partir da distribuição equitativa das esferas nos reatores esquematizados anteriormente com 135 mL de caldo de cana autoclavado. Após a fermentação, as esferas foram pesadas para que fosse possível obter o valor médio de esferas nos reatores (Figura 16).

Figura 16 – Esferas após a fermentação.



Fonte: Autor, 2024.

Legenda: Esferas separadas do caldo após o período de fermentação com auxílio de uma peneira.

4.3.2.1. Caracterização física

Um total de 100 esferas foi selecionado para caracterização física, realizando-se medições de diâmetro e peso. Para as medidas de diâmetro foi utilizado um paquímetro para aferição individualmente e depois obtida as médias, mediana, máximo e mínimo como parâmetros estatísticos. Depois as mesmas esferas foram pesadas e divididas por 100 para que estes valores fossem avaliados como média de peso de cada esfera.

4.3.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O MEV das esferas foi realizado no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste CERTBIO – UFCG em colaboração com o Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook e a técnica de microscopia Maria do Socorro Lima.

As amostras foram primeiramente desidratadas em estufa a 37°C até alcançarem a completa remoção de água. Em seguida, foi realizado o corte transversal por meio de criofratura com nitrogênio líquido, utilizando pinça e bisturi, garantindo a preparação ideal do suporte. Após a etapa de metalização, as amostras foram encaminhadas para análise microscópica.

4.4. CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO COM LEVEDURA IMOBILIZADA

Para o acompanhamento do processo fermentativo e determinação dos parâmetros cinéticos de pH, substrato, produto, rendimento e produtividade foi colhida uma alíquota de 20 mL de cada reator nos tempos estipulados. A cinética da biomassa não foi utilizada, pois só seria necessário para meios comparativos entre as leveduras livres.

4.4.1. Avaliação cinética do pH

A análise de pH é importante para que a indústria possa realizar o controle bacteriano e obtenha resultados positivos em relação ao processo fermentativo para a formação do produto final, uma vez que a proliferação de células diminui o pH do meio (Leite, 2011). A análise cinética do pH foi realizada conforme apresentado no item 4.2.2.2.

4.4.2. Consumo de Substrato

Os parâmetros de substrato foram determinados a partir da análise de sólidos solúveis por meio do Brix conforme o item 4.2.2.3 que depois foi convertido para g/L a partir da Equação 3 (Torres Neto *et al.*, 2006) para determinar o valor estimado da sacarose (Fontan *et al.*, 2011).

$$S = \text{Grau Brix} \times 10,13 + 1,445 \quad (\text{Equação 3})$$

No qual:

S = Sólidos solúveis ou valor estimado de sacarose (sólidos solúveis) em g/L.
Grau Brix = Valor aferido de Brix no momento da análise.

4.4.3. Formação de Produto

Para a cinética do etanol foram utilizados os mesmos parâmetros descritos no item 4.2.2.4. Assim como no procedimento mencionado anteriormente, os valores obtidos foram convertidos para g/L, permitindo determinar a formação de produto. Essa conversão foi realizada conforme a Equação 4, utilizando a regra de três e a conversão de ml para L.

$$P = \frac{ABV \times OG \times 1000}{100} \quad (\text{Equação 4})$$

No qual:

P = Produto formado em g/L.
ABV = Valor calculado a partir das densidades aferidas em percentual.

OG = Densidade do caldo aferido antes da fermentação em g/mL.

4.4.4. Rendimento e Produtividade

Para que fosse possível encontrar os valores de rendimento, primeiramente foi calculado o fator de conversão $Y_{P/S}$ que relaciona o consumo de substrato e a formação de produto como apresentado na Equação 5 (Schmidell *et al.*, 2011).

$$Y_{P/S} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (\text{Equação 5})$$

No qual:

$Y_{P/S}$ = Fator de conversão do consumo de substrato em produto

P = Concentração final de produto em g/L.

P_0 = Concentração inicial de produto em g/L.

S_0 = Concentração inicial de substrato em g/L.

S = Concentração final de substrato em g/L.

O rendimento foi calculado utilizando o valor teórico para conversão da sacarose em etanol, sendo este 0,54 conforme a Equação 6:

$$R = \frac{Y_{P/S} \text{ experimental}}{Y_{P/S} \text{ teórico}} \quad (\text{Equação 6})$$

No qual:

R = Rendimento em percentual

$Y_{P/S}$ Experimental = Fator de conversão adquirido pela Equação 5.

$Y_{P/S}$ Teórico = Fator de conversão teórico da sacarose (0,54g).

Para realizar o cálculo da produtividade foi utilizado o valor da quantidade de produto formado dividido pelo tempo do processo como apresentado na Equação 7, sendo o valor de P_0 equivalente a zero (Lopes *et al.*, 2017).

$$P_{\text{rod}} = \frac{P_0 - P}{t} \quad (\text{Equação 7})$$

No qual:

P_{rod} = Produtividade em g/Lh.

P_0 = Concentração de produto no início da fermentação em g/L.

P = Concentração de produto ao final da fermentação em g/L.

t = Tempo de fermentação em horas

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estatísticos de média e desvio padrão foram calculados utilizando o software Excel 2013. A análise de variância (ANOVA) *one-way*, acompanhada do teste de *Tukey* para múltiplas comparações, foi aplicado ao teste de tolerância ao etanol por meio do software *Statistica* 8.1. Para os testes fermentativos, incluindo a seleção de leveduras e a comparação entre configurações livres e imobilizadas, as médias e os desvios padrão foram apresentados em gráficos plotados no software *OriginPro*, versão 2024b.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. COLEÇÃO DE LEVEDURAS SELVAGENS

Ao longo do processo de construção da coleção de leveduras selvagens, foram obtidas 9 amostras de caldo de cana, provenientes de agricultores de cana-de-açúcar. Entre essas, 3 amostras coletadas no mesmo local, porém em períodos diferentes, enquanto as outras 6 amostras vieram de locais distintos, totalizando 7 diferentes pontos de coleta no município de Sumé-PB, como apresentado na Figura 17.

Figura 17 – Plantio de cana-de-açúcar e venda de caldo de cana em Sumé.



Fonte: Google Maps, 2024.

Legenda: Município de Sumé marcado pela linha vermelha pontilhada. Pontos de venda de caldo de cana representados pelas marcações em vermelho e os locais de plantio de cana-de-açúcar em azul.

Houve crescimento de leveduras no meio de cultura que também foram isoladas. As coletas 2, 7 e 9 são provenientes do mesmo local, mas em diferentes épocas do ano e foram distinguidos com A, B e C. De cada coleta foi possível isolar de 2 a 4 leveduras totalizando 30 isolados como apresentado na Tabela 1. As leveduras isoladas foram nomeadas com a letra L, representando leveduras, seguido pela sigla do local da coleta e depois pela numeração de isolamento identificada no tubo cônico que foi armazenado no congelador.

Tabela 1 – Nomeação das leveduras selvagens isoladas referentes à coleção.

Isolado	Coleta		Sequência	Data
	Sigla	Localização		
L-BM1	BM	Bairro Mandacaru	1	Setembro/2023
L-BM2	BM	Bairro Mandacaru	2	Setembro/2023
L-BM3	BM	Bairro Mandacaru	3	Setembro/2023
L-SO1A	SO	Sítio Oitis	1A	Setembro/2023
L-SO2A	SO	Sítio Oitis	2A	Setembro/2023
L-SO3A	SO	Sítio Oitis	3A	Setembro/2023
L-SF1	SF	Sítio Feijão	1	Outubro/2023
L-SF2	SF	Sítio Feijão	2	Outubro/2023
L-SF2	SF	Sítio Feijão	3	Outubro/2023
L-AM1	AM	Assentamento Mandacaru	1	Novembro/2023
L-AM2	AM	Assentamento Mandacaru	2	Novembro/2023
L-AM3	AM	Assentamento Mandacaru	3	Novembro/2023
L-PX1	PX	Distrito Pio X	1	Janeiro/2024
L-PX2	PX	Distrito Pio X	2	Janeiro/2024
L-PX3	PX	Distrito Pio X	3	Janeiro/2024
L-PX4	PX	Distrito Pio X	4	Janeiro/2024
L-AC1	AC	Bairro Alto da Caixa d'água	1	Fevereiro/2024
L-AC2	AC	Bairro Alto da Caixa d'água	2	Fevereiro/2024
L-AC3	AC	Bairro Alto da Caixa d'água	3	Fevereiro/2024
L-AC4	AC	Bairro Alto da Caixa d'água	4	Fevereiro/2024
L-SO1B	SO	Sítio Oitis	1B	Março/2024
L-SO2B	SO	Sítio Oitis	2B	Março/2024
L-SO3B	SO	Sítio Oitis	3B	Março/2024
L-SO4B	SO	Sítio Oitis	4B	Março/2024
L-SP1	SP	Sítio Pitombeira	1	Maiio/2024
L-SP2	SP	Sítio Pitombeira	2	Maiio/2024
L-SO1C	SO	Sítio Oitis	1C	Julho/2024
L-SO2C	SO	Sítio Oitis	2C	Julho/2024
L-MC1	MC	Meio de Cultura	1	Junho/2024
L-MC2	MC	Meio de Cultura	2	Junho/2024

Fonte: Dados do autor, 2024.

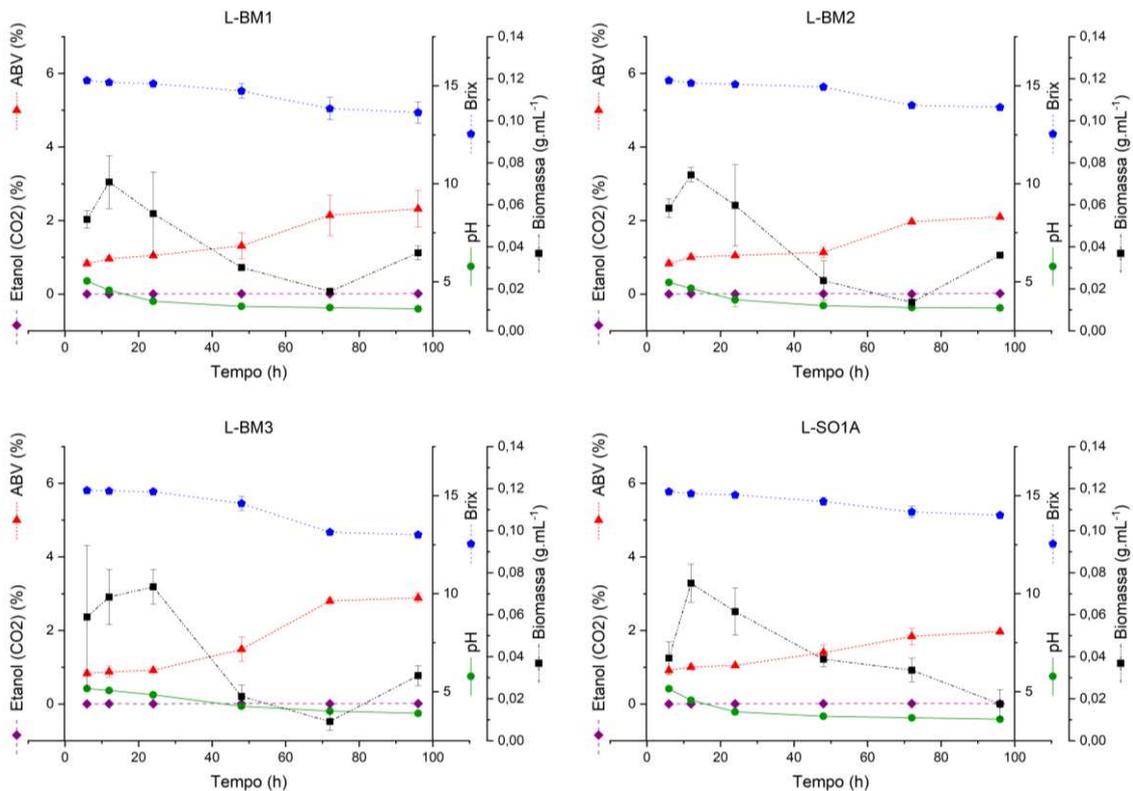
5.2. SELEÇÃO DE LEVEDURAS

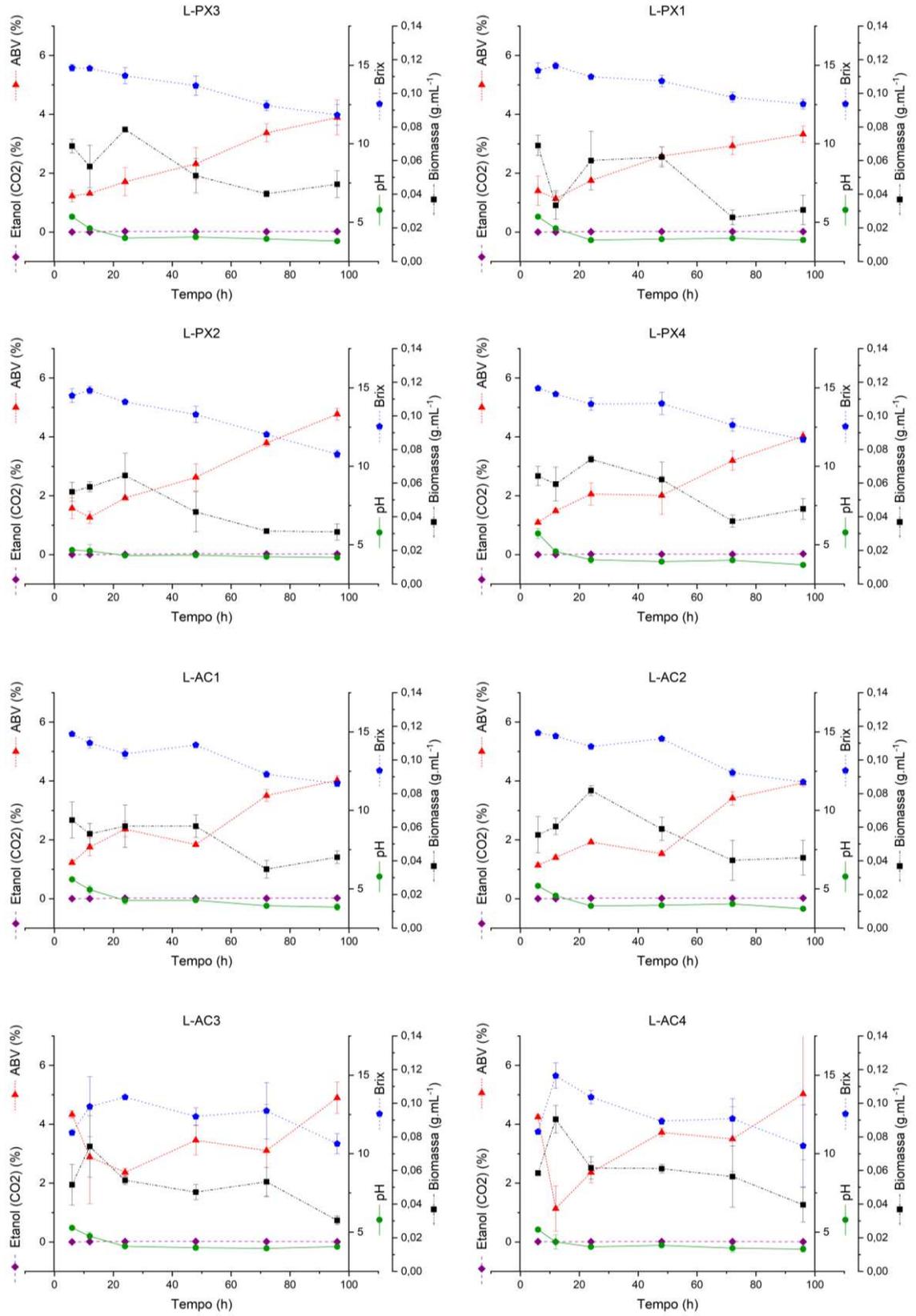
5.2.1. Teste fermentativo

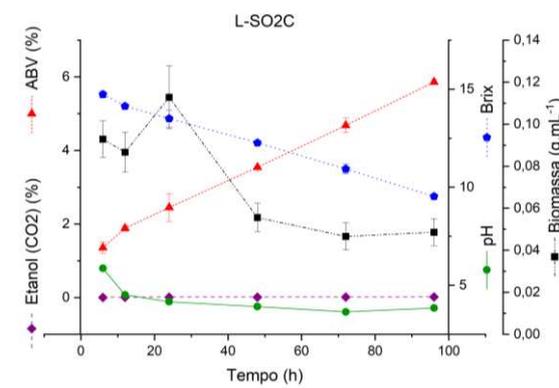
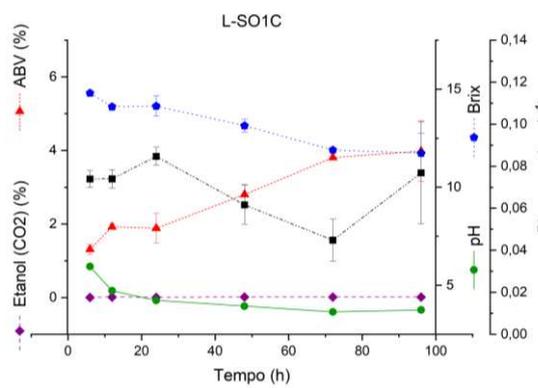
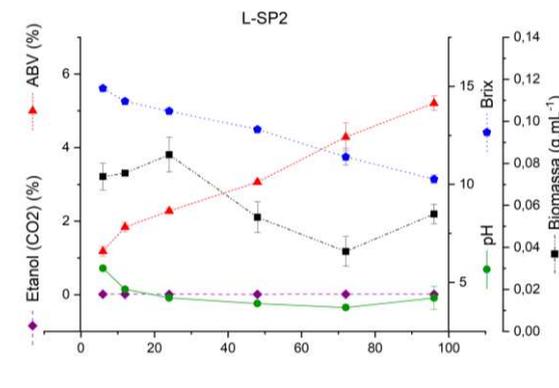
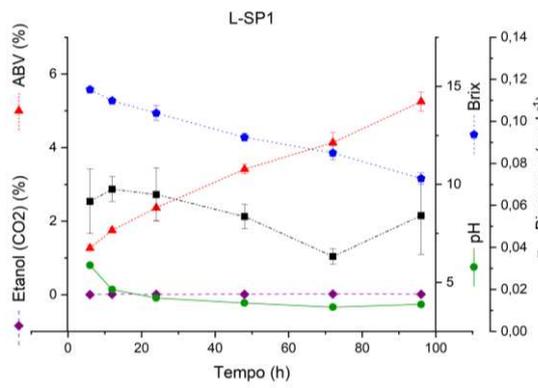
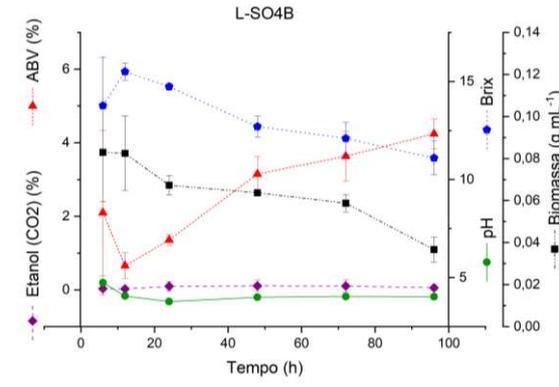
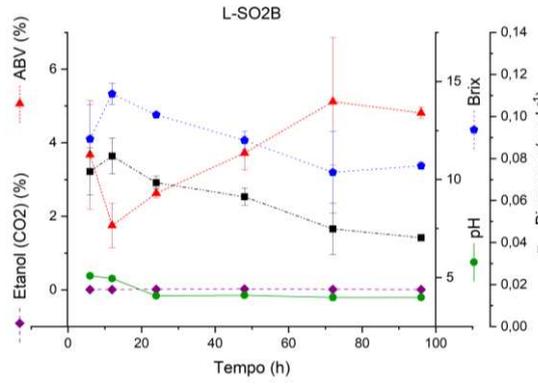
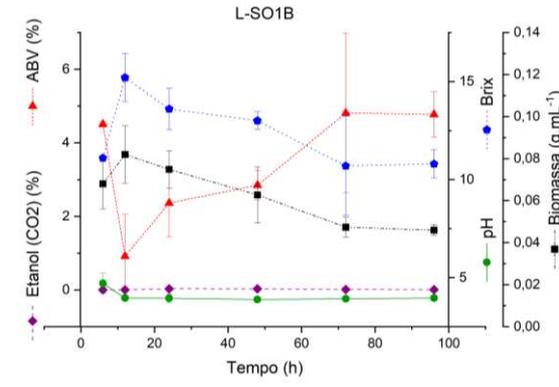
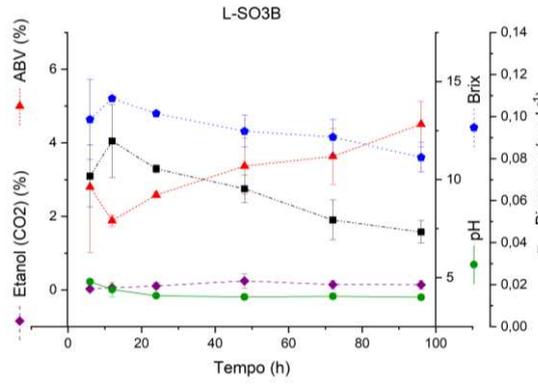
O processo de fermentação e análise cinética foram divididos em 5 partes, sendo 6 leveduras isoladas por vez. Esta etapa durou cerca de 30 dias devido a grande quantidade de tubos cônicos a serem analisados, totalizando 540 ensaios e aproximadamente 16 L de caldo de cana.

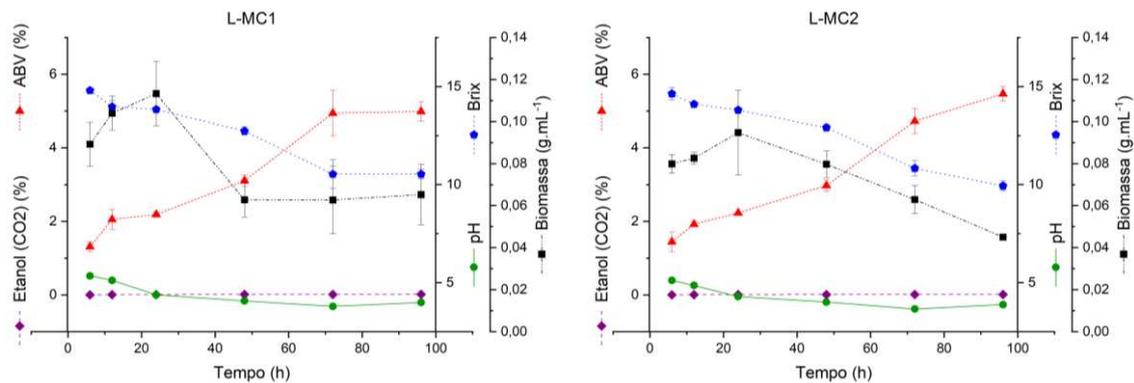
Os valores médios dos parâmetros monitorados, sendo pH, Brix e Biomassa (Experimentais) e as duas vias de etanol (Calculados) durante a avaliação da cinética de fermentação para cada levedura isolada, juntamente com seus respectivos desvios padrão, estão apresentados na figura 18.

Figura 18 – Cinética dos valores Experimentais e Calculados.









Fonte: Autora, 2024.

Legenda: Gráficos das médias e desvios padrão referente à avaliação cinética de cada levedura isolada ao longo de 96 horas de fermentação, considerando pH representado linhas com círculos verdes, Brix pelas linhas com pentágonos azuis, Biomassa (g/mL) pelas linhas com quadrados pretos, Etanol via CO₂ (%) pelas linhas com quadrados invertidos roxos e Etanol via Brix (%) pelas linhas com triângulos vermelhos.

Com base nos gráficos da Figura 18, verifica-se que, após 96 horas, não foi possível confirmar se as leveduras pertencem à espécie *Saccharomyces cerevisiae*, devido ao baixo consumo de substrato ao longo do processo, indicando baixa eficiência fermentativa. A produção final de etanol pelas leveduras isoladas, segundo a via CO₂ variou entre 0,0066% a 0,3%. Já a produção de etanol pela via ABV, no mesmo período, apresentou variações significativas, entre 1,49 a 5,86%. Essa diferença decorre da impressão da via CO₂, que é influenciada por fatores externos, como temperatura, pressão, teor de açúcar e quantidade de oxigênio no ambiente.

Segundo Tenório (2023) a quantidade de CO₂ liberada determina a eficiência da transformação dos açúcares em álcool e a qualidade do produto final, não a qualidade fermentativa, pois o valor calculado não consegue ser alcançado devido a necessidade das leveduras de consumo de carboidratos para seu funcionamento (Oura, 1977). Portanto a cinética da produção de etanol via CO₂ não foi levada adiante por motivo de imprecisão e alto diferencial quando comparada com a produção de etanol via ABV.

A cinética do pH destacou a levedura L-SP2 por apresentar a menor variação, com um valor final de 4,21, enquanto a levedura L-SO1A apresentou a maior variação, atingindo um pH final de 3,6. Em relação à produção final de biomassa, a levedura L-SO1A obteve o menor valor, com 0,0175 g/mL, enquanto a levedura L-SO1C alcançou a maior biomassa final, com 0,0768 g/mL.

Os picos de biomassa e as quedas acentuadas de pH ocorrem simultaneamente ao longo de um período de 12 horas, em razão da intensa atividade metabólica das leveduras neste intervalo. Diversos fatores podem influenciar o metabolismo das leveduras, contribuindo para a redução do pH durante o processo de fermentação. Além disso, as leveduras apresentam baixa tolerância a ambientes com pH alcalino, o que reforça a relação entre o metabolismo e as alterações no pH (Dias, 2024).

As leveduras isoladas destacadas em redução de sólidos solúveis e produção de etanol via ABV coincidiram sendo L-AM3 apresentando Brix final de 14,5 e 1,49% de produção de etanol, sendo esta a levedura com menor consumo de substrato e formação de produto. Já a levedura L-SO2C apresentou Brix final de 9,5 e 5,86% de produção de etanol, sendo esta a levedura com maior consumo de substrato e formação de produto.

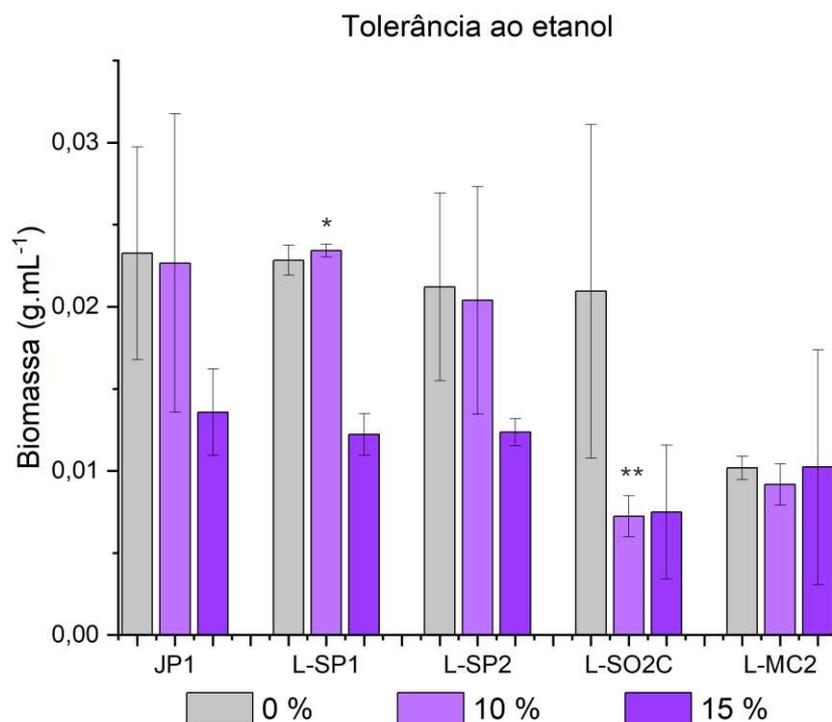
Apenas 4 leveduras produziram acima de 5% de etanol ficando L-SP1 com 5,25%, L-SP2 com 5,21%, L-SO2C com 5,86 e L-MC2 com 5,47%. Estas leveduras foram coletadas entre maio e julho de 2024. Segundo (Medeiros *et al.*, 2023) a estação chuvosa registrada na região do Cariri paraibano é entre fevereiro e abril, logo o período de coleta das leveduras com maior produção de etanol foi após a estação chuvosa sendo que a cana-de-açúcar necessita de alta demanda hídrica (Silva, 2019) e os meses com maiores precipitações na cidade Sumé foram março e abril (Aesa, 2024).

De acordo com Silva (2019), o período registrado pelas melhores leveduras foi marcado pela umidade relativa do ar adequada para a maturação da cana-de-açúcar, variando entre 45% e 65%. Em contraste, as leveduras com menor produção de etanol foram obtidas em períodos de seca, evidenciando o impacto das condições climáticas na eficiência fermentativa. No período mais chuvoso, a levedura teria melhores condições de desenvolvimento e, conseqüentemente, maior produção de etanol, devido ao estágio de maturação da cana. A levedura isolada L-SO2C, maior produtora de etanol, foi resultado da terceira coleta do mesmo local, reforçando a influência do clima na adaptação e no desenvolvimento fermentativo das leveduras.

5.2.2. Tolerância ao etanol

Para o teste de tolerância ao etanol, apenas as leveduras com produção acima de 5% foram avaliadas. Apenas os dados de biomassa foram utilizados como parâmetro, pois com a troca de caldo o pH e o Brix se mantiveram constantes. Os resultados estão presentes abaixo na Figura 19.

Figura 19 – Tolerância ao etanol das leveduras indicadas pela biomassa.



Fonte: Acervo do autor, 2024.

Legenda: Gráfico das médias e desvios padrão da Biomassa das leveduras, considerando concentrações de etanol de 0%, 10% e 15% com trocas sequenciais a cada 48 horas ao longo de 6 dias. Os asteriscos indicam a significância estatística * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ quando comparada com levedura JP1 conforme suas concentrações.

Conforme o gráfico apresentado na Figura 18, as leveduras L-SP1 e L-SP2 apresentaram comportamento semelhante ao da levedura industrial JP1, sendo a L-SP1 mais estável como mostra a linha de desvio padrão. L-SP2 apresentou valor próximo, mas com instabilidade semelhante a JP1. Já a levedura L-SO2C, apesar de sua alta produção de etanol, não suportou altas concentrações de etanol e L-MC2 não se mostrou eficiente durante o processo de batelada aeróbia, pois sua produção de biomassa se manteve abaixo até mesmo quando não havia concentração de etanol.

Ao comparar as leveduras com a JP1, apenas as concentrações de 10% de etanol apresentaram diferenças estatisticamente significativas, com níveis de confiança de 90% e 95%. As leveduras L-SP1 e L-SO2C mostraram diferenças significativas com $p < 0,05$, sendo que L-SO2C apresentou maior significado com $p < 0,01$, indicando que suas biomassas foram significativamente menores em relação à JP1 e, assim, uma diferença estatisticamente negativa. Já a levedura L-SP2, apresentou valores elevados de biomassa, enquanto L-MC2 não demonstrou diferenças estatísticas significativas em nenhuma das análises, ou seja, seus resultados não se diferenciam de maneira confiável do padrão JP1 nos tratamentos avaliados. Neste contexto, as biomassas que apresentaram diferenças estatísticas foram inferiores à da JP1, enquanto os tratamentos sem variação não mostraram distinções relevantes.

De acordo com os resultados obtidos, as leveduras L-SP1 e L-SP2, provenientes da coleta realizada no Sítio Pitombeira, destacaram-se como as melhores da coleção, indicando que esse local possui as condições mais favoráveis para a produção de cana-de-açúcar. Embora, sítio Oitis também apresente potencial como um bom local de coleta, sua eficiência depende das condições climáticas. No Sítio Pitombeira, não foram realizadas coletas em outras épocas do ano para avaliar a influência das variações climáticas no desempenho das leveduras.

5.3. FERMENTAÇÃO COM IMOBILIZAÇÃO CELULAR

As leveduras selecionadas para esta etapa foram L-SO2C por apresentar maior produção de etanol, apesar de não resistir a maiores concentrações de etanol, e L-SP1 e L-SP2 por apresentarem maior tolerância ao etanol. A levedura L-MC2 não foi selecionada devida a resposta negativa ao teste de tolerância ao etanol quando comparada com a JP1. Este processo teve duração de aproximadamente 5 semanas e utilizando um total de 20 Litros de caldo de cana na propagação e nos reatores.

5.3.1. Caracterização das leveduras

Antes do processo de imobilização, as leveduras foram previamente caracterizadas e os resultados referentes ao número de células e à biomassa estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Caracterização das leveduras

Levedura	Nº de células por L	Biomassa (g/L)
JP1	$6,94 \times 10^7$	4,75
L-SP1	$6,75 \times 10^7$	5,51
L-SP2	$6,97 \times 10^7$	3,44
L-SO2C	$6,87 \times 10^7$	6,47

Fonte: Acervo do autor, 2025.

5.3.2. Caracterização das esferas

Na Tabela 3 encontram-se as medidas do diâmetro das esferas, incluindo estatísticas como média, mediana, valor máximo e valor mínimo, como também a média das massas de esferas por reator, que foram pesadas após a fermentação.

Tabela 3 – Análise das esferas

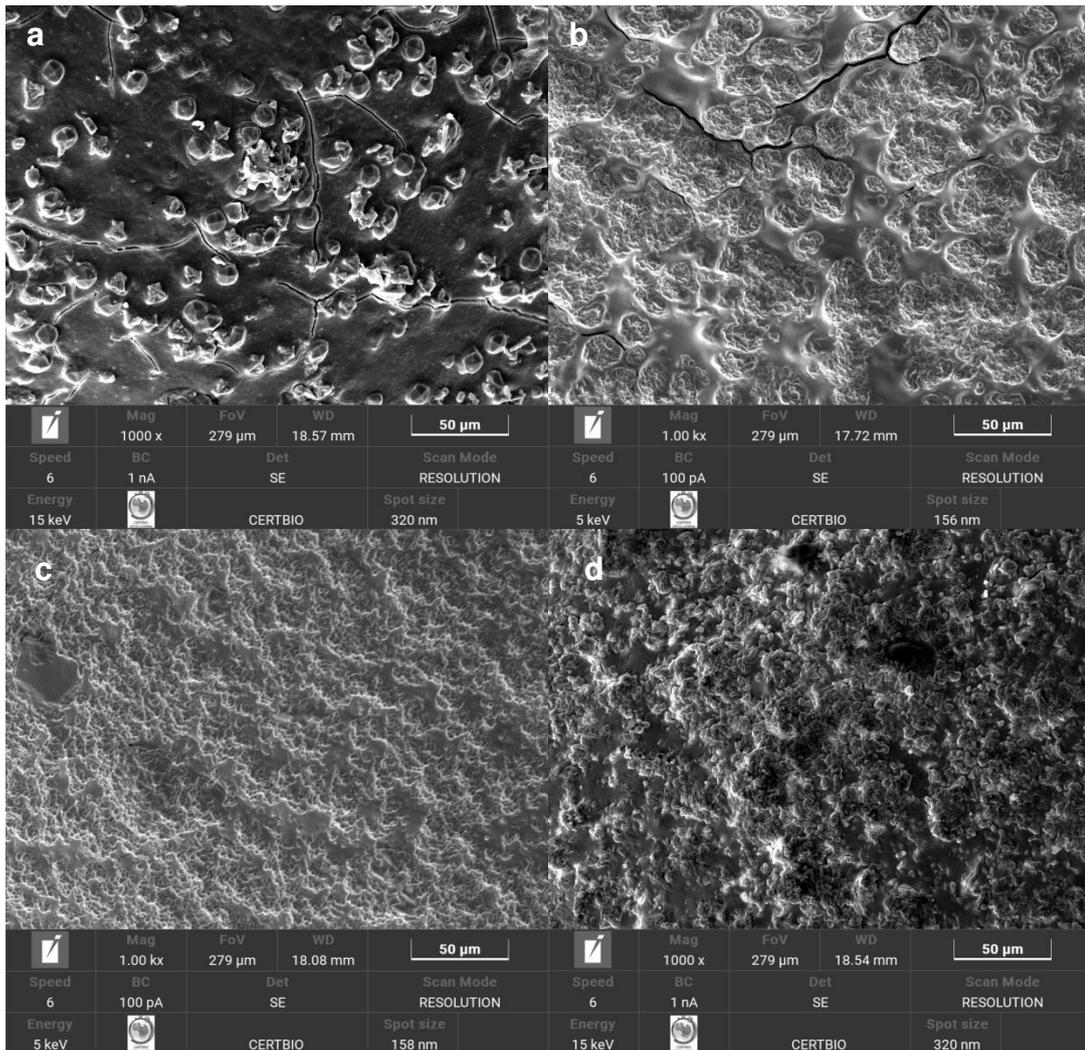
Levedura	Diâmetro (mm)				Média de massa por reator (g)
	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	
JP1	3,72	3,6	2,9	5,1	6,79
L-SP1	3,47	3,7	2,7	5,3	8,13
L-SP2	3,51	3,4	2,4	4,6	6,88
L-SO2C	4,07	4,1	3,0	5,3	8,61

Fonte: Acervo do autor, 2025.

5.3.3. Visualização das esferas em MEV

A partir da Microscopia Eletrônica de Varredura foi possível observar algumas estruturas como das leveduras ou agrupamento das leveduras aprisionadas na matriz de alginato de cálcio (Figura 19) e até mesmo no corte transversal das esferas (Figura 20).

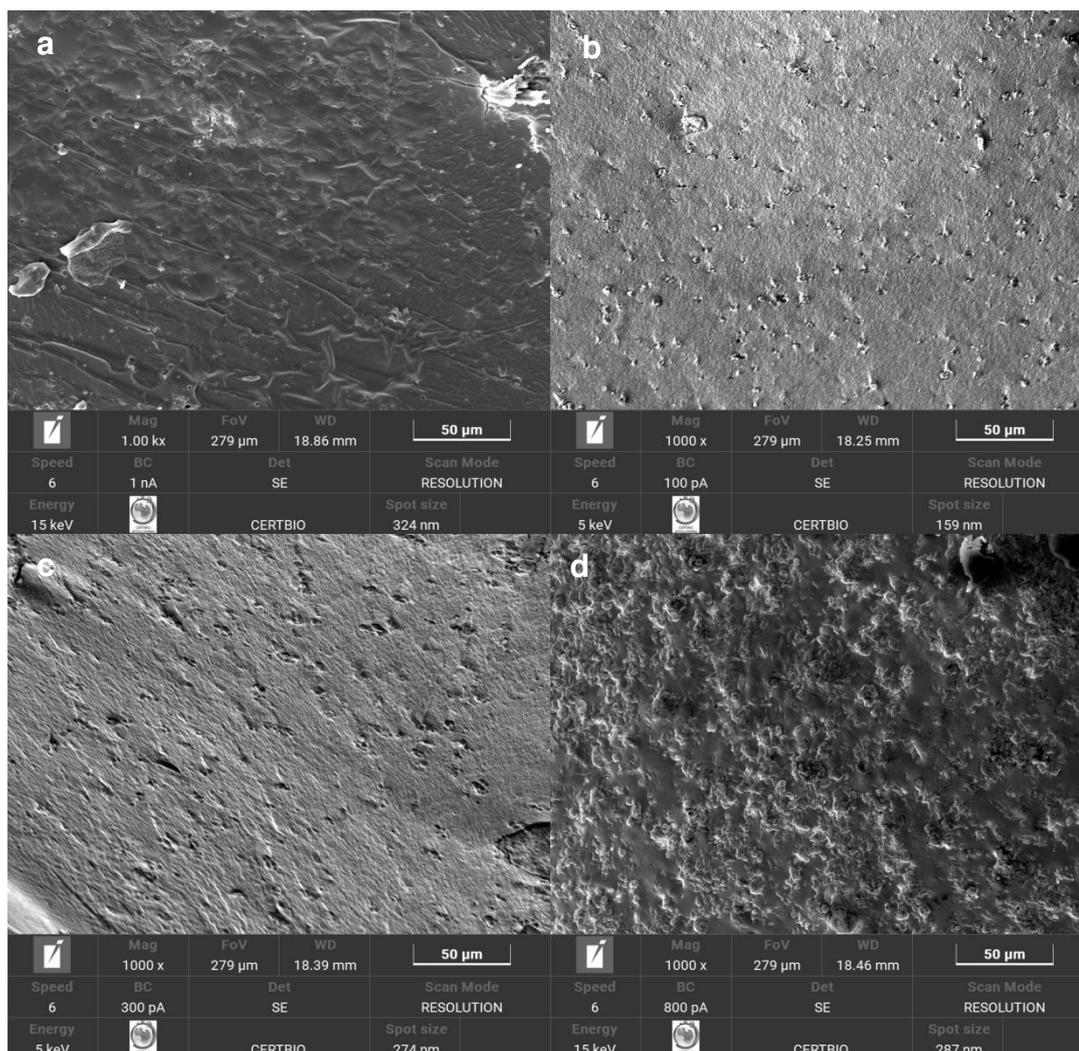
Figura 20 – MEV da superfície das esferas em 1000x



Fonte: Certbio, 2025.

Legenda: Imagens da Microscopia Eletrônica de Varredura das esferas resultantes da imobilização em alginato de cálcio das leveduras JP1 (a), L-SP1 (b), L-SP2 (c) e L-SO2C (d) ampliadas em 1000x.

Figura 21 – MEV do corte transversal das esferas em 1000x



Fonte: Certbio, 2025.

Legenda: Imagens da Microscopia Eletrônica de Varredura do corte transversal das esferas imobilizadas das leveduras JP1 (a), L-SP1 (b), L-SP2 (c) e L-SO2C (d) ampliadas em 1000x.

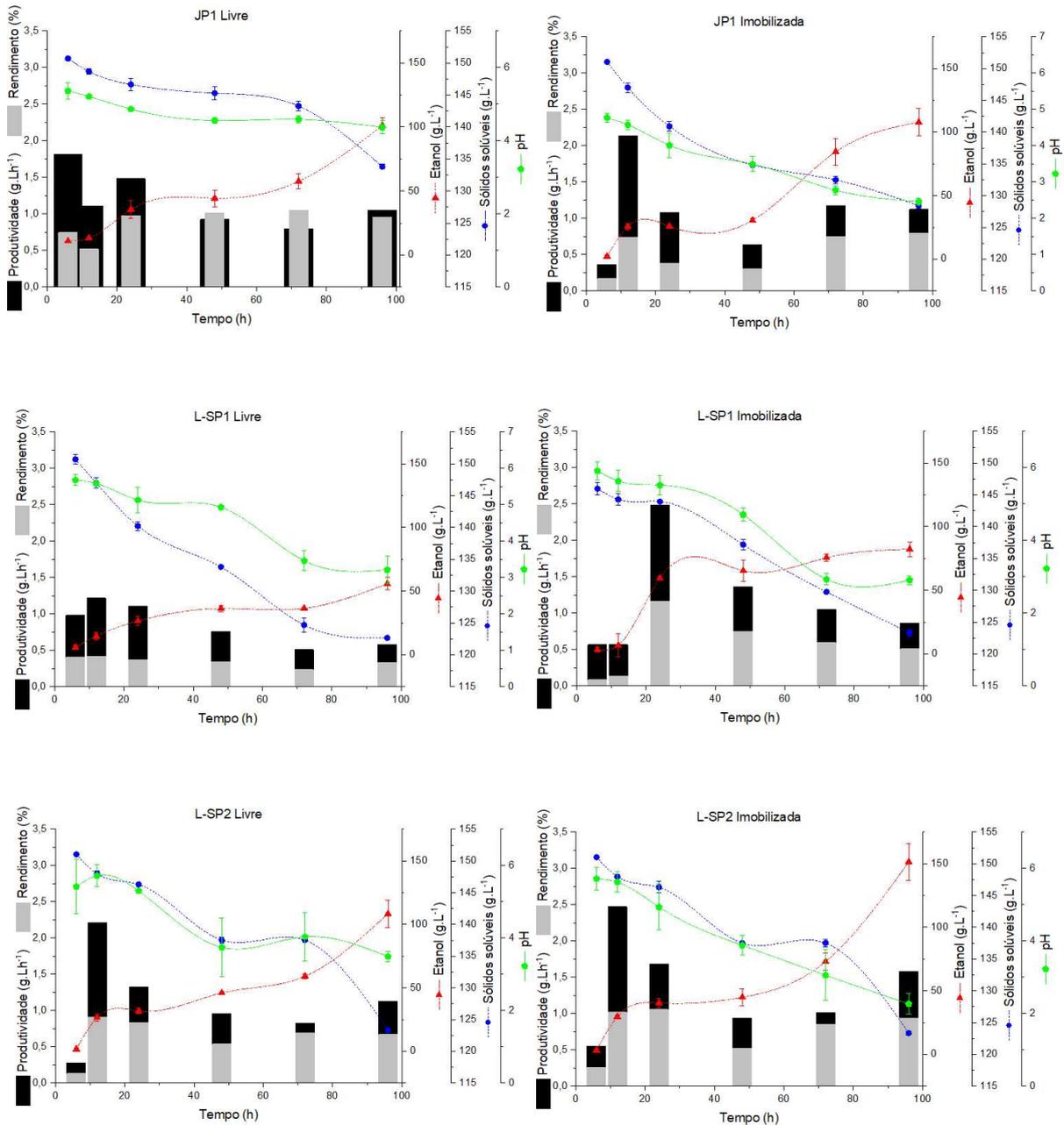
Com base nas imagens analisadas, observa-se que no corte transversal da esfera JP1 não foram identificadas leveduras, e a superfície apresenta estruturas semelhantes a cristais. A esfera L-SP1 exibiu estruturas granuladas maiores em comparação as demais, e alguns pontos de levedura foram visíveis em seu corte. Na esfera L-SP2, os grânulos na superfície são menores do que os grânulos da L-SP1, embora o corte tenha apresentado características semelhantes. Já a esfera L-SO2C apresentou grânulos menores, em maior quantidade, e o corte apresentou aspectos bastante similares à sua superfície.

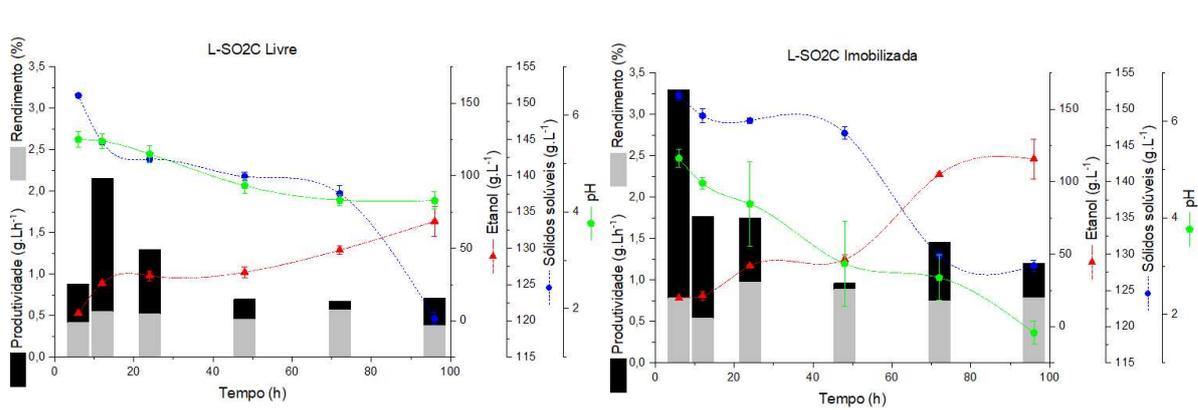
5.3.4. Fermentação com levedura imobilizada

A quantidade de substrato, representada por sólidos solúveis, aumentou os resultados de rendimento devido à ausência da quantificação individual dos

carboidratos do caldo, como sacarose ou glicose. Assim, os valores do fator de conversão ficaram mais elevados, o que também impactou os cálculos de rendimento. Os valores iniciais foram definidos como 153,39 g/L para substrato, o pH ajustado em 6,0. Os gráficos da cinética referente ao consumo de substrato e formação de produto e os valores calculados de rendimento e produtividade estão representados na Figura 22.

Figura 22 – Cinética da fermentação das leveduras em configuração livre e imobilizada.





Fonte: Acervo do autor, 2025.

Legenda: Gráficos de médias e desvios padrão, comparando a cinética de cada levedura em configurações livre (à esquerda) e imobilizada (à direita). O rendimento é representado pelas barras cinza, a produtividade (g/Lh) pelas barras pretas, o consumo de açúcar (g/L) pelas linhas com curvas suavizadas e círculos azuis, a produção de etanol (g/L) pelas linhas com curvas suavizadas e triângulos vermelhos e a diminuição do pH com curvas suavizadas e pentágonos verdes.

Após 96 horas de fermentação a levedura industrial JP1 foi a única a apresentar maior rendimento na configuração livre. Isso ocorreu porque o consumo de substrato (sólidos solúveis) foi menor e a produção de etanol foi maior. Em contraste, as outras leveduras mostraram rendimentos superiores na configuração imobilizada. A JP1, na configuração livre apresentou valores constantes, além de menor consumo de substrato, atingindo 133,81 g/L, além de exibir menor variação de pH chegando a 4,37 e 2,46 na configuração imobilizada. Após 6 horas, a produtividade foi de 1,82 g/Lh, enquanto na configuração imobilizada foi de 0,36 g/Lh. Após 12 horas, esse cenário se inverteu, com a configuração livre registrando 1,104 g/Lh e a imobilizada alcançando 2,135 g/Lh.

Já a levedura L-SP1 apresentou os menores valores de rendimento e produtividade, principalmente na configuração livre, no qual a produção de etanol ao final das 96 horas foi a mais baixa, alcançando apenas 55,837 g/L, apesar do consumo de açúcar não ter sido menor. Na configuração imobilizada, após 24 horas, houve um pico de rendimento e produtividade, com valores de 116,66% e 2,48 g/Lh respectivamente. Em contraste, a configuração livre manteve-se mais constante ao longo do tempo. Quanto ao pH, exibiu menor diferencial entre as configurações livre e imobilizada, entretanto, na configuração livre atingiu um pH de 3,21, o menor entre todas as leveduras livres.

Já a levedura L-SP2 mostrou-se mais eficiente na configuração imobilizada, apresentando valores de rendimento e produtividade levemente superiores, embora

semelhantes aos da configuração livre, com picos equivalentes. Essa configuração exibiu um pH de 2,27, valor semelhante a JP1 sob mesma condição além de alcançar a maior produção de etanol, atingindo 151,5 g/L e uma produtividade de 1,58 g/Lh ao final das 96 horas.

A levedura L-SO2C demonstrou maior eficiência na configuração imobilizada, destacando-se principalmente nas primeiras 6 horas, durante as quais alcançou a maior produtividade entre todas as leveduras e configurações, atingindo 3,3 g/Lh. Nesse período, a produção de etanol foi de 19,78 g/L, enquanto ao final das 96 horas, sua produção totalizou 115,63 g/L. Além disso, a configuração livre apresentou um pico de produtividade de 2,15 g/Lh em 12 horas. Após esse pico, os valores mantiveram-se próximos a um nível constante. Esta levedura exibiu o maior diferencial de pH final entre as duas configurações, com valores na configuração livre 4,24 e 1,62 na imobilizada.

Ao comparar as caracterizações físicas das esferas na configuração imobilizada, observa-se que a biomassa e a massa das esferas por reator das leveduras L-SP1 e L-SO2C foram similares e superiores às da JP1 e L-SP2. Contudo, apesar das caracterizações físicas semelhantes, a levedura L-SO2C foi eficiente, enquanto a L-SP1 não apresentou o mesmo desempenho. Já a levedura L-SP2, mesmo com esferas de menor massa, demonstrou eficiência no processo fermentativo, o que mediante aos resultados deste trabalho, o tamanho das esferas e sua biomassa, não interferiram nos resultados quando se utiliza as concentrações de células apresentadas na Tabela 2.

Sabe-se que o caldo de cana é rico em sacarose e que a levedura JP1 é resultado de isolamento da cana-de-açúcar, assim como foi apresentado neste trabalho, o que significa que o metabolismo fermentativo é sua única opção, devido ao excesso de sacarose (Rodrigues, 2021; Rego-Costa *et al.*, 2023). No entanto, não foram encontrados registros de estudos em sua configuração imobilizada para compreender melhores parâmetros de comparação, o que pode ser proposto em trabalhos futuros.

Com base na literatura, Pires (2024) obteve resultados de produtividade similares, alcançando 3,83 g/Lh em 12 horas, um valor próximo ao da levedura L-SO2C na configuração imobilizada em 6 horas mostrando a eficiência fermentativa

desta configuração. O mosto utilizado foi preparado a partir de hidrólise de milho e caldo de cana, com quantificação dos carboidratos, que possibilitou o cálculo do rendimento considerando exclusivamente o valor da sacarose.

Cadiz *et al.* (2023) observaram que as leveduras na configuração imobilizada apresentam maior produção de etanol e análise de sólidos solúveis por Grau Brix, sem realizar a quantificação direta dos carboidratos, assim como neste trabalho. No entanto, o mosto utilizado foi derivado de sorgo de milho, apresentando consumo mais elevado de substratos, o que acabou reduzindo o rendimento global.

Já Agu e Oduola (2021) investigaram o processo fermentativo com leveduras na configuração imobilizada em caldo de cana, com duração semelhante. Apesar de não haver comparado com a configuração livre, os autores destacaram a eficiência do processo, reforçando o potencial dessa abordagem na produção de etanol.

De forma geral, a levedura JP1 se mostrou mais eficiente na configuração livre, sendo adequada para a condição atual da Usina Agroindustrial Japungú, que opera com sistema de reciclo de células. Por outro lado, as leveduras L-SP2 e L-SO2C apresentaram excelentes resultados na configuração imobilizada, destacando-se a L-SO2C por alcançar as maiores produtividades em menor tempo. Essa configuração representa uma solução promissora para novas indústrias, dispensando a necessidade de equipamentos como centrífugas para separação de biomassa, o que reduz custos e facilita a extração do etanol.

6. CONCLUSÕES

- A bioprospecção de leveduras selvagens isoladas a partir do caldo da cana-de-açúcar proveniente da Caatinga se mostra promissora. Foi possível encontrar espécimes com potencial para bioprocessos, criando expectativas para a ampliação dessa pesquisa.
- Apenas 4 das 30 leveduras isoladas apresentaram produção de etanol acima de 5%, confirmando a importância dos fatores climáticos no período da coleta.
- As leveduras L-SP1 e L-SP2 isoladas do Sítio Pitombeiras suportaram maiores concentrações de etanol, semelhantes à levedura industrial JP1.
- As leveduras L-SP2 e L-SO2C em configuração imobilizada aumentaram o rendimento e a produtividade quando comparadas com a configuração livre.
- A JP1 alcançou rendimentos maiores na configuração livre do que na imobilizada, se mostrando ideal em seu processo de aplicação atual.
- A L-SP1 não se mostrou eficiente mesmo com as caracterizações físicas das esferas semelhantes a L-SO2C.
- Tanto L-SP2 como L-SO2C apresentam-se como opções apropriadas para projeção de novas indústrias de fermentação com uso de leveduras imobilizadas, devido o rendimento e a produtividade do processo.

REFERÊNCIAS

AESA. **Climatologia**. Patos, PB 2024.

AGU, K. C.; ODUOLA, M. K. Kinetic modeling of ethanol production by batch fermentation of sugarcane juice using immobilized yeast. **Glob. J. Eng. Technol. Adv**, v. 7, n. 1, p. 124-136, 2021.

ALMEIDA, R. F. C. D. A. **Participação e potencial da agricultura na oferta de energias alternativas no Brasil**. 2024. 38. Monografia (Graduação em Engenharia Agrônoma). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

ALVES, E. H.; DOS SANTOS, S. F. B.; CARVALHO, P. H.; WIENDL, V. B. Otimização de processo biotecnológico utilizando resíduo da indústria cervejeira na produção da enzima Tanase. **J Revista Univap**, v. 26, n. 52, p. 1-15, 2020.

ANVISA. **Microbiologia Clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde**. Brasília, DF: Brasil. 8: 46 p. 2017.

ARAUJO, A. S. D.; MARQUES FILHO, A. C.; PEREIRA, A. M.; LIMA, A. H. F. D.; SANTOS, A. F. R.; MARTINS, A. V. **Ciências agrárias**. Debates emblemáticos e situação perene. ATENA: 204 p. 2023.

BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical Engineering Fundamentals**. Michigan: McGraw-Hill, 1986.984 ISBN 9780070032125. Disponível em: <
<https://books.google.com.br/books?id=KM9TAAAAMAAJ> >.

BELLINI, J.; SHERRING, N. R.; SANTOS, S. E. B.; NOMA, C.; DA SILVA, R. O. Perfil de Assimilação e Fermentação de Diferentes Fontes de Carbono por Leveduras Isoladas em Barra do Bugres MT e Perspectivas de Utilização em Pesquisas Biotecnológicas. **J Ensaios e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 27, n. 3, p. 261-266, 2023.

BRANDALISE, E. F.; GARCIA, L.; DUARTE-BRANDAO, L. T.; DE ALMEIDA, J. R. M. **Seleção de linhagens de leveduras multicompetentes em produção de ácido indolacético e biossolubilização de fósforo**. VII Encontro de Pesquisa e Inovação. Biotecnologia Industrial. EMBRAPA: 189-193 p. 2023.

BRASIL. **Mistura de 30% de etanol anidro à gasolina foi cientificamente testada**. SOCIAL, S. D. C. Brasília, DF 2025.

BRITO, L. M. P. D. **Isolamento e potencial de leveduras selvagens para a produção de bebida fermentada de morango**. 2022. Dissertação (Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia), Universidade Estadual da Bahia, Juazeiro, BA.

BRUICE, P. Y. **Química Orgânica**.4ª. Pearson Universidades, 2006.704.

CADIZ, J. P. R.; AGCAOILI, R. P.; MAMUAD, R. Y.; CHOI, A. E. Fermentation of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) using immobilized yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) entrapped in calcium alginate beads. **Fermentation**, v. 9, n. 3, p. 272, 2023.

CARDOZO, M. H. A. D. L. **A engenharia de bioprocessos na promoção da sustentabilidade: Uma análise das produções recentes.** Sustentare & Wipis: Universidade Federal de São João del-Rei 2023.

CAVALCANTE, Y. P.; AMARO, B. O.; ARTUR, F. Bioprospecção dos constituintes voláteis de espécies do gênero *Croton* L. do Delta do Parnaíba. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e3011729639-e3011729639, 2022.

CONAB. **Produção de cana-de-açúcar na safra 2023/24 chega a 713,2 milhões de toneladas, a maior da série histórica.** Brasília, DF 2024.

CONCEIÇÃO, C. I. D. **Elaboração de caderno temático sobre fermentação alcoólica da cachaça: aprimoramento do ensino-aprendizagem de nível técnico.** 2023. Dissertação (Graduação em Ciências Biológicas). Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG.

COUTINHO, Ú. T. C. **Capacidade fermentativa da *Saccharomyces cerevisiae* imobilizada em alginato de cálcio para produção de cerveja.** 2020. 87. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Departamento de Ciências Domésticas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

COVIZZI, L. G.; GIESE, E. C.; GOMES, E.; DEKKER, R. F.; SILVA, R. D. Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 28, n. 2, p. 143-160, 2007.

DE JESUS, T. D. S. B. ***Saccharomyces cerevisiae* imobilizada em alginato de cálcio e revestidas com quitosana para a produção de bioetanol.** 2021. 102. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

DEL RIO, D. T. **Biossorção de cádmio por leveduras *Saccharomyces cerevisiae*.** 2004. 66. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

DIAS, G. S. **Estudo dos metabólitos voláteis em cervejas ales: uma análise comparativa entre uma levedura produzida no Brasil e uma tradicional Americana.** 2024. 43. Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Araraquara, SP.

DOS REIS, H. S.; DA PAZ, C. D.; COCOZZA, F. D. M.; DE OLIVEIRA, J. G. A.; SILVA, M. A. V. Plantas medicinais da caatinga: uma revisão integrativa dos saberes etnobotânicos no semiárido nordestino. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 27, n. 2, p. 874-900, 2023.

DUARTE, J. C.; RODRIGUES, J. A. R.; MORAN, P. J. S.; VALENÇA, G. P.; NUNHEZ, J. R. Effect of immobilized cells in calcium alginate beads in alcoholic fermentation. **AMB express**, v. 3, p. 1-8, 2013.

EMBRAPA. **Planejamento da colheita.** AGEITEC. Brasília, DF: Raffaella Rossetto 2022a.

EMBRAPA. **Plantio.** AGEITEC. Brasília-DF: Rossetto, Raffaella; Santiago, Antonio Dias 2022b.

FONTAN, R. D. C. I.; VERÍSSIMO, L. A. A.; SILVA, W. S.; BONOMO, R. C. F.; VELOSO, C. M. Cinética da fermentação alcoólica na elaboração de vinho de melancia. **B. CEPPA**, v. 29, n. 2, p. 203-210, 2011.

GASCHO, G.; SHIH, S. Sugarcane. **Crop water relations**, n. ED., p. 445-479, 1983.

IBGE. **Produção agropecuária**. Rio de Janeiro, RJ 2023.

INSA. **Mapa do Recorte do Semiárido Brasileiro e do Bioma Caatinga**. MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, T. E. I. Campina Grande, PB 2021.

JACOB, A. B. F.; CAMPOS, R. T. Estudo sobre a viabilidade celular da levedura no processo de fermentação em uma usina de álcool e açúcar. **Environmental Science Technology Innovation**, v. 1, n. 02, 2022.

JADOSKI, C. J.; TOPPA, E. V. B.; JULIANETTI, A.; HULSHOF, T.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Fisiologia do desenvolvimento do estágio vegetativo da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 3, n. 2, p. 169-176, 2010.

JUNIOR, H. P. I. **Controle de qualidade: Análise do brix para padronização de doces brasileiros**. 2022. 52. Dissertação (Graduação em Engenharia de Produção). Departamento de Engenharia de Produção, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.

KOVALESKI, G.; BITTENCOURT, J. V. M.; RODRIGUES, S. A. **Estudo da imobilização celular de *Saccharomyces cerevisiae* em alginato de cálcio**. Ponta Grossa, PR: AYA Editora, 2020.70 ISBN 6588580037.

KRONKA, A. M. **Estudo de antimicrobianos naturais sobre bactérias Gram+(*Lactobacillus*) usados para controle e descontaminação da fermentação alcoólica**. 2021. 55. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP.

LEITE, I. R. **Avaliação da ação de antibiótico natural na fermentação alcoólica contaminada por cultura mista**. 2011. 105. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

LIMA, J. D. M. **Produção de cerveja artesanal com adição de goiaba vermelha e flocos de aveia**. 2023. 59. Dissertação (Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos). Unidade Acadêmica de Engenharia de Biotecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Sumé, PB.

LIMA, M. N. D. **Estudo da imobilização de células *Saccharomyces cerevisiae* em bagaço de caju—Avaliação de diferentes tratamentos**. 2019. 49. Dissertação (Bacharel em Engenharia Química). Departamento de Engenharia e Tecnologia, Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró, RN.

LOPES, C. H.; GABRIEL, A. V. M. D.; BORGES, M. T. M. R. **Produção de etanol a partir da cana-de-açúcar: tecnologia de produção de etanol**. São Carlos: EDUFSCAR, 2017.133.

MACÊDO, E. D. L. C. **Potencial biotecnológico de leveduras isoladas de frutas da caatinga fermentadas**. 2022. 137. Tese (Doutorado em Ciências da Nutrição). Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da PARAÍBA, João Pessoa, PB.

MACEDO, R. S.; MORO, L.; LAMBAIS, É. O.; LAMBAIS, G. R.; BAKKER, A. P. D. Efeitos da degradação nos atributos de solos sob caatinga no semiárido brasileiro. **Revista Árvore**, v. 47, p. e4702, 2023.

MARQUES, L. G. A.; NETO, J. D. B. V.; SALES, S. L. A.; DA SILVA COSTA, P. M.; DE JESUS GUIMARÃES, C.; MANSO, M. P.; DE MELO PEREIRA, J. V.; DO Ó PESSOA, C. O impacto da bioprospecção para o descobrimento de novas moléculas terapêuticas. **Fitos**, v. 16, n. Supl. 2, p. 293-314, 2022.

MEDEIROS, E. D. A.; SOUZA, E. P. D.; SILVA, D. R. R. D.; PRADO JUNIOR, L. S. D.; SOUSA, A. P. D.; MEDEIROS, A. C. D.; RIBEIRO, G. D. N.; MARACAJÁ, P. B. Variabilidade ou mudança climática? Uma análise histórica da precipitação no Cariri Paraibano. **Revista Brasileira de Filosofia e História**, v. 13, n. 4, p. 1570-1589, 2023.

MELO, J. D. O.; DANTAS-MEDEIROS, R.; MOREIRA, L. G. L.; GIORDANI, R. B.; ZUCOLOTTI, S. M. A Caatinga: Um bioma exclusivamente brasileiro. **Ciência e Cultura**, v. 75, n. 4, p. 01-09, 2023.

MENEZES, L. H. Q.; CASTRO, R. B. R. D.; ROCHA, E. M. F. Identificação de leveduras selvagens de um fermento de levedo

industrial durante a produção de Bioetanol – um biocombustível renovável. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 1, p. 5260-5267, 2022.

MILLER, M. W.; REED, R. **Yeasts**. In “**Prescott and Dunn's Industrial Microbiology**,” AVI Publishing Westport, CT: 15-43 p. 1982.

MIRANDA, E. D. J.; BISPO, J. A. C. Modelagem e otimização do processo fermentativo para a produção de cachaça a partir de cana caiana (*Saccharum officinarum*). **Anais dos Seminários de Iniciação Científica**, n. 26, 2022.

NAGASHIMA, M.; AZUMA, M.; NOGUCHI, S.; INUZUKA, K.; SAMEJIMA, H. Continuous ethanol fermentation using immobilized yeast cells. **Biotechnology bioengineering**, v. 26, n. 8, p. 992-997, 1984.

OLIVEIRA, L. S. B. L. D. **Produção integrada de etanol de cana-de-açúcar e milho em usinas flex: simulação e análises tecno-econômica e ambiental**. 2022. 298. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

OLIVEIRA, R. M. D. S. C. D. **Produção de ácido propiônico por propionibacterium acidipropionici imobilizada em alginato de cálcio-resultados obtidos e bibliometria**. 2021. 61. Monografia (Graduação em Engenharia de Bioprocessos). Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

OLIVEIRA, V. M. C. D. **Avaliação do RenovaBio como indutor da eficiência energética ambiental no processo produtivo do etanol**. 2023. 74. Dissertação

(Mestrado em Administração), . Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

ORTIZ, S. **Imobilização de Saccharomyces cerevisiae em alginato de cálcio com nanopartículas magnéticas**. 2017. 99. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

OURA, E. Reaction products of yeast fermentations. **Process Biochemistry**, v. 12, n. 3, p. 19-21, 1977.

PAPP, G. H.; MOHR, G.; PEDRO, C.; NALI, P. R.; VELÁZQUEZ, S. M. S. G. J. R. M. D. E. E. C. Captura e armazenamento de dióxido de carbono em usinas de cana-de-açúcar. **Revista Mackenzie de Engenharia e Computação**, v. 16, n. 1, 2016.

PEREIRA JR, N.; BON, E. P. D. S.; FERRARA, M. A. Tecnologia de bioprocessos. **Rio de Janeiro: Escola de Química/UFRJ**, p. 63, 2008.

PERES, C. M.; CURI, R.; PAFFARO, A. M. D. A.; MARTINS, A. K. A.; PIMENTA, A.; GONÇALVES, C. R.; POMPEIA, C.; MARTINS, C. R.; COSTA, C. A. D.; ALMEIDA, D. C. G. D. **Como cultivar células**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2005.283.

PIRES, L. D. A. N. **Modelagem matemática e simulação da fermentação alcoólica do mosto misto a partir do hidrolisado de milho e de caldo de cana-de-açúcar**. 2024. 82. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

REGO-COSTA, A.; HUANG, I. T.; DESAI, M. M.; GOMBERT, A. K. Yeast population dynamics in Brazilian bioethanol production. **Genes, Genomes, Genetics**, v. 13, n. 7, p. 1-12, 2023.

RESENDE, R. S.; NASCIMENTO, T.; CARVALHO, T. B. D.; AMORIM, J. R.; RODRIGUES, L. Redução da demanda de irrigação da cana-de-açúcar com ajuste na data de plantio, para região de Alagoas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 25, p. 75-81, 2021.

RODRIGUES, C. I. S. **Quantitative analysis of Saccharomyces cerevisiae's growth and metabolism on sucrose**. 2021. 158. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Faculdade de Engenharia de ..., Delft, NL.

ROSA, C. A.; LACHANCE, M. A.; LIMTONG, S.; SANTOS, A. R.; LANDELL, M. F. L.; GOMBERT, A. K.; MORAIS, P. B.; SAMPAIO, J. P.; GONÇALVES, C.; GONÇALVES, P.; GÓES-NETO, A.; SANTA-BRÍGIDA, R.; MARTINS, M. B.; JANZEN, D. H.; HALLWACHS, W. Yeasts from tropical forests: Biodiversity, ecological interactions, and as sources of bioinnovation. **Yeast**, v. 40, n. 11, p. 511-539, 2023.

ROSA, J. M. A.; PINHEIRO, I. R.; FERNANDES, P. M. B.; SANTOS, A. M. C. Produção de bioetanol a partir do hidrolisado de bagaço de laranja em biorreator coluna de bolhas utilizando Saccharomyces cerevisiae em alginato de cálcio. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 3297-3316, 2021.

SANTOS, T. C. **Identificação e avaliação do potencial probiótico de leveduras isoladas de frutos amazônicos para aplicação em alimentos**. 2023. 66.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Tocantins, Palmas, TO.

SCHMIDELL, W.; DE ALMEIDA LIMA, U.; BORZANI, W.; AQUARONE, E. **Biotechnologia industrial - vol. 2: engenharia bioquímica**. São Paulo, SP: Editora Edgard Blucher Ltda., 2011. ISBN 9788521215189. Disponível em: < <https://books.google.com.br/books?id=hNCuDwAAQBAJ> >.

SILVA, D. A. A. D. **Potencial biotecnológico de leveduras associadas a filosfera de bromélias da caatinga**. 2020. 66. Dissertação (Graduação em Ciências Biológicas). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde., Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

SILVA, E. P.; BENEVIDES, R. G.; RIOS, K. B. O. **Identificação molecular de leveduras da Caatinga**. *Anuais dos Seminários de Iniciação Científica*. TECNOLOGIA, S. N. D. C. E. BA: Universidade Estadual de Feira de Santana: 4 p. 2022.

SILVA, M. G. D. **Fermentação alcoólica: A biotecnologia aplicada antes de Cristo que concedeu um nobel para Buncher**. *Jovens Cientistas Brasil* 2023.

SILVA, R. D. A. **Bioprocessos**. Curitiba: Editora Intersaberes, 2022.34 ISBN 6555173955.

SILVA, W. K. D. M. **Influência das mudanças climáticas no cultivo da cana-de-açúcar no Estado da Paraíba**. 2019. 142. Dissertação (Mestrado em Energias Renováveis). Centro de Energias Alternativas e Renováveis, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.

SOARES, A. A.; ZUKOWSKI JUNIOR, J. C. O Brasil como grande player no mercado mundial de etanol. **Revista de Política Agrícola**, v. 30, n. 3, p. 57, 2021.

SOUSA, R. D. C. P. D.; SANTOS, D. C. D.; NEVES, L. T. B. C.; CHAGAS, E. A. Tecnologia de bioprocessos para produção de alimentos funcionais. **Agroambiente**, v. 7, n. 3, p. 366-372, 2013.

SOUZA, A. C. L. D. **Sistema de mudas pré-brotamento em cana-de-açúcar: Histórico e perspectivas**. 2022. 25. Dissertação (Graduação em Agronomia). Campus Rio Verde, Instituto Federal Goiano, Rio Verde.

SOUZA, N. M. D.; SERPA, M. D. N.; SILVA, M. C. O. D.; SILVA, R. O. D. Aspectos morfológicos de leveduras isoladas de frutas e flores. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 40309-40319, 2021.

TENÓRIO, M. D. P. **Análise da cinética, viabilidade e eficiência de leveduras de cervejas**. 2023. 48. Dissertação (Graduação em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

TORRES NETO, A. B.; SILVA, M. E. D.; SILVA, W. B.; SWARNAKAR, R.; SILVA, F. L. H. D. Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). **Química nova**, v. 29, n. 3, p. 489-492, 2006.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L.; BAIR III, W. B.; WEBER, D.
Microbiologia.14. Porto Alegre: Artmed, 2024.956 ISBN 9786558822578.

VERMA, A. S.; AGRAHARI, S.; RASTOGI, S.; SINGH, A. Biotechnology in the realm of history. **J Pharm Bioallied Sci**, v. 3, n. 3, p. 321-3, 2011.

VICENTE, M. D. S.; VICENTE, M.; ANTÔNIO VICENTE, M.; MADALENO, L. L. Resíduos agroindustriais utilizados para fabricação de etanol de segunda geração. **Ciência & Tecnologia**, v. 16, n. 1, p. e16116, 2024.

VIDAL, M. D. F. Etanol. **Caderno Setorial ETENE**, v. 9, n. 325, p. 1-17, 2024.

VIEIRA, P. C. **O etanol e sua evolução tecnológica no Brasil**. 2021. 66. Dissertação (Graduação em Química Tecnológica e Industrial). Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL.

WANDERLEY, B. **Paraíba é segundo maior produtor de etanol do NE. A união**. João Pessoa: Mais União 2024.

APÊNDICE

Dados referentes à Figura 18

Tabela 4 – Médias do pH do teste fermentativo

Leveduras	pH					
	Tempo (h)					
	6	12	24	48	72	96
L-BM1	5,04	4,57	4,01	3,75	3,69	3,63
L-BM2	4,97	4,67	4,08	3,79	3,69	3,67
L-BM3	5,16	5,07	4,84	4,26	4,01	3,90
L-SO1A	5,15	4,57	3,98	3,75	3,67	3,60
L-SO2A	4,98	4,46	4,01	3,73	3,68	3,63
L-SO3A	4,96	4,57	4,03	3,76	3,68	3,63
L-SF1	5,38	5,24	5,05	4,69	4,37	4,05
L-SF2	5,81	5,71	5,05	4,57	4,38	3,95
L-SF3	6,02	5,67	4,94	4,54	4,41	4,00
L-AM1	5,41	5,34	5,07	4,66	4,51	4,16
L-AM2	5,65	5,74	5,01	4,62	4,44	4,08
L-AM3	5,65	5,47	5,06	4,68	4,45	4,12
L-PX1	5,36	4,61	3,86	3,93	3,98	3,87
L-PX2	4,67	4,61	4,32	4,34	4,24	4,20
L-PX3	5,36	4,61	4,00	4,06	3,94	3,80
L-PX4	5,72	4,57	4,05	3,93	4,02	3,72
L-AC1	5,60	4,95	4,26	4,28	3,92	3,84
L-AC2	5,19	4,57	3,91	3,96	4,04	3,74
L-AC3	5,27	4,75	4,10	4,01	3,97	4,08
L-AC4	5,17	4,38	4,07	4,16	3,98	3,93
L-SO1B	4,71	3,96	3,95	3,89	3,92	3,96
L-SO2B	5,09	4,96	4,07	4,10	3,99	3,99
L-SO3B	4,80	4,40	4,08	4,02	4,05	4,00
L-SO4B	4,74	4,06	3,78	4,00	4,04	4,03
L-SP1	5,88	4,64	4,21	3,95	3,74	3,88
L-SF2	5,72	4,65	4,21	3,93	3,72	4,21
L-SO1C	5,96	4,72	4,23	3,94	3,64	3,74
L-SO2C	5,87	4,51	4,16	3,91	3,64	3,84
L-MC1	5,35	5,12	4,38	4,07	3,79	3,99
L-MC2	5,11	4,86	4,29	4,01	3,66	3,88

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Tabela 5 – Médias do Brix do teste fermentativo

Leveduras	Brix					
	Tempo (h)					
	6	12	24	48	72	96
L-BM1	15,2	15,1	15,0	14,7	14,2	14,0
L-BM2	15,2	15,3	15,3	14,1	13,9	13,9
L-BM3	15,2	15,2	15,1	14,2	14,0	14,0
L-SO1A	15,2	15,1	15,0	14,7	14,2	14,0
L-SO2A	15,9	15,9	15,1	14,9	14,8	14,2
L-SO3A	15,1	15,3	14,8	14,4	14,6	14,5

L-SF1	14,9	14,8	14,9	14,8	14,4	14,2
L-SF2	14,5	15,0	14,5	14,4	14,5	14,2
L-SF3	16,0	15,7	14,8	14,7	14,7	14,3
L-AM1	15,4	15,3	14,6	14,4	14,2	14,1
L-AM2	15,9	15,9	15,1	14,9	14,8	14,2
L-AM3	15,1	15,3	14,8	14,4	14,6	14,5
L-PX1	14,7	15,0	14,3	14,0	13,0	12,5
L-PX2	14,5	14,8	14,1	13,3	12	10,8
L-PX3	14,8	14,8	14,3	13,7	12,4	11,8
L-PX4	15,0	14,6	14,0	14,0	12,6	11,7
L-AC1	14,9	14,3	13,6	14,2	12,3	11,7
L-AC2	14,9	14,7	14,1	14,6	12,4	11,8
L-AC3	11,3	13,0	13,6	12,4	12,7	10,6
L-AC4	11,4	15,0	13,6	12,1	12,2	10,5
L-SO1B	11,1	15,2	13,6	13	10,7	10,8
L-SO2B	12,1	14,4	13,3	12	10,4	10,7
L-SO3B	13,1	14,1	13,4	12,5	12,2	11,1
L-SO4B	13,8	15,5	14,7	12,7	12,1	11,1
L-SP1	14,8	14,3	13,6	12,4	11,6	10,3
L-SF2	14,9	14,2	13,7	12,8	11,4	10,3
L-SO1C	14,8	14,1	14,1	13,1	11,9	11,7
L-SO2C	14,7	14,1	13,5	12,3	10,9	9,5
L-MC1	14,8	14	13,8	12,7	10,5	10,5
L-MC2	14,6	14,1	13,8	12,9	10,8	9,9

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Tabela 6 – Médias da Biomassa do teste fermentativo

Leveduras	Biomassa					
	Tempo (h)					
	6	12	24	48	72	96
L-BM1	0,053	0,071	0,056	0,030	0,019	0,037
L-BM2	0,058	0,074	0,060	0,024	0,014	0,036
L-BM3	0,059	0,068	0,073	0,021	0,009	0,031
L-SO1A	0,039	0,075	0,062	0,039	0,034	0,018
L-SO2A	0,044	0,080	0,059	0,036	0,027	0,028
L-SO3A	0,056	0,091	0,054	0,032	0,028	0,031
L-SF1	0,054	0,089	0,038	0,029	0,031	0,042
L-SF2	0,050	0,081	0,048	0,028	0,051	0,047
L-SF3	0,055	0,074	0,058	0,047	0,060	0,049
L-AM1	0,054	0,068	0,071	0,052	0,064	0,057
L-AM2	0,047	0,067	0,059	0,040	0,063	0,057
L-AM3	0,039	0,047	0,056	0,054	0,061	0,065
L-PX1	0,069	0,033	0,060	0,062	0,026	0,031
L-PX2	0,055	0,058	0,065	0,043	0,032	0,031
L-PX3	0,069	0,057	0,079	0,051	0,040	0,046
L-PX4	0,064	0,059	0,074	0,062	0,037	0,045
L-AC1	0,062	0,056	0,061	0,061	0,035	0,042
L-AC2	0,055	0,060	0,082	0,059	0,040	0,042
L-AC3	0,052	0,074	0,054	0,047	0,053	0,030
L-AC4	0,059	0,091	0,062	0,061	0,056	0,040
L-SO1B	0,068	0,082	0,075	0,063	0,047	0,046
L-SO2B	0,074	0,081	0,069	0,062	0,047	0,042
L-SO3B	0,072	0,088	0,075	0,066	0,051	0,045

L-SO4B	0,076	0,083	0,067	0,037	0,059	0,037
L-SP1	0,062	0,068	0,065	0,055	0,036	0,055
L-SF2	0,074	0,075	0,084	0,054	0,038	0,056
L-SO1C	0,074	0,074	0,085	0,062	0,045	0,077
L-SO2C	0,093	0,087	0,113	0,056	0,047	0,049
L-MC1	0,089	0,104	0,113	0,063	0,063	0,065
L-MC2	0,080	0,083	0,095	0,080	0,063	0,045

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Tabela 7 – Médias do CO₂ convertido em etanol por estequiometria

Etanol via CO₂						
Leveduras	Tempo (h)					
	6	12	24	48	72	96
L-BM1	0,0008	0,0051	0,0065	0,0089	0,0064	0,0105
L-BM2	0,0014	0,0123	0,0050	0,0105	0,0068	0,0155
L-BM3	0,0010	0,0060	0,0041	0,0110	0,0097	0,0114
L-SO1A	0,0008	0,0051	0,0071	0,0083	0,0144	0,0088
L-SO2A	0,0014	0,0123	0,0050	0,0105	0,0068	0,0155
L-SO3A	0,0010	0,0060	0,0041	0,0110	0,0097	0,0114
L-SF1	0,0048	0,0033	0,0024	0,0011	0,0019	0,0095
L-SF2	0,0031	0,0079	0,0142	0,0093	0,0113	0,0308
L-SF3	0,0039	0,0016	0,0031	0,0009	0,0097	0,0071
L-AM1	0,0034	0,0019	0,0025	0,0096	0,0018	0,0079
L-AM2	0,0021	0,0009	0,0012	0,0014	0,0024	0,0037
L-AM3	0,0031	0,0024	0,0022	0,0009	0,0019	0,0066
L-PX1	0,0015	0,0022	0,0162	0,0186	0,0168	0,0159
L-PX2	0,0009	0,0015	0,0110	0,0311	0,0199	0,0202
L-PX3	0,0029	0,0034	0,0235	0,0170	0,0140	0,0230
L-PX4	0,0011	0,0024	0,0151	0,0129	0,0114	0,0261
L-AC1	0,0017	0,0021	0,0185	0,0108	0,0130	0,0234
L-AC2	0,0014	0,0023	0,0187	0,0163	0,0146	0,0216
L-AC3	0,0024	0,0104	0,0161	0,0204	0,0133	0,0082
L-AC4	0,0104	0,0063	0,0099	0,0137	0,0121	0,0093
L-SO1B	0,0032	0,0048	0,0319	0,0276	0,0118	0,0099
L-SO2B	0,0054	0,0066	0,0131	0,0251	0,0108	0,0078
L-SO3B	0,0251	0,0594	0,1082	0,0246	0,1459	0,1415
L-SO4B	0,0319	0,0259	0,0962	0,1090	0,1036	0,0572
L-SP1	0,0049	0,0113	0,0081	0,0116	0,0189	0,0430
L-SF2	0,0143	0,0109	0,0101	0,0099	0,0133	0,0113
L-SO1C	0,0029	0,0138	0,0065	0,0138	0,0139	0,0129
L-SO2C	0,0032	0,0095	0,0102	0,0113	0,0114	0,0150
L-MC1	0,0025	0,0092	0,0098	0,0134	0,0121	0,0151
L-MC2	0,0022	0,0086	0,0083	0,0122	0,0118	0,0143

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Tabela 8 – Médias de ABV calculado utilizando a densidade

Leveduras	ABV					
	Tempo (h)					
	6	12	24	48	72	96
L-BM1	0,83	0,96	1,05	1,31	2,14	2,32
L-BM2	0,83	1,01	1,05	1,14	1,97	2,1
L-BM3	0,83	0,88	0,92	1,49	2,8	2,89
L-SO1A	0,92	1,01	1,05	1,4	1,84	1,97
L-SO2A	0,88	0,92	0,79	1,88	2,06	2,06
L-SO3A	0,88	0,88	1,01	1,84	1,97	1,97
L-SF1	1,14	1,27	1,81	1,31	1,66	1,79
L-SF2	1,49	1,09	1,53	1,62	1,53	1,84
L-SF3	0,09	0,48	1,23	1,36	1,44	1,79
L-AM1	0,74	0,79	1,44	1,66	1,79	1,97
L-AM2	0,18	0,26	1,05	1,23	1,27	1,79
L-AM3	0,96	0,79	1,27	1,71	1,53	1,49
L-PX1	1,4	1,14	1,75	2,58	2,93	3,33
L-PX2	1,58	1,27	1,93	2,63	3,79	4,77
L-PX3	1,23	1,31	1,71	2,32	3,37	3,89
L-PX4	1,09	1,49	2,06	2,01	3,19	4,03
L-AC1	1,23	1,75	3,36	1,84	3,5	4,03
L-AC2	1,14	1,40	1,93	1,53	3,41	3,94
L-AC3	4,33	2,89	2,36	3,46	3,11	4,90
L-AC4	4,24	1,14	2,36	3,72	3,50	5,03
L-SO1B	4,51	0,92	2,36	2,84	4,81	4,77
L-SO2B	3,68	1,75	2,63	3,72	5,12	4,81
L-SO3B	2,80	1,88	2,58	3,37	3,63	4,51
L-SO4B	2,10	0,66	1,36	3,15	3,63	4,24
L-SP1	1,27	1,75	2,36	3,41	4,14	5,25
L-SF2	1,18	1,84	2,28	3,06	4,29	5,21
L-SO1C	1,31	1,93	1,88	2,80	3,81	3,98
L-SO2C	1,36	1,88	2,45	3,54	4,68	5,86
L-MC1	1,31	2,06	2,19	3,11	4,94	4,99
L-MC2	1,44	1,93	2,23	2,98	4,73	5,47

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.