



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS- UFGD
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS - FACET
PROGRAMA DE DOUTORADO EM BIOTECNOLOGIA E BIODIVERSIDADE

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

FISIOLOGIA DE 15 LEVEDURAS EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE CULTIVO

Cynthia Aparecida de Andrade Silva
Doctor Scientiae

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL - BRASIL
2017

CINTHIA APARECIDA DE ANDRADE SILVA

FISIOLOGIA DE 15 LEVEDURAS EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE CULTIVO

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biodiversidade, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL - BRASIL
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S586f	Silva, Cinthia Aparecida de Andrade. Fisiologia de 15 leveduras em diferentes condições de cultivo. / Cinthia Aparecida de Andrade. – Dourados, MS : UFGD, 2017. 148f. Orientador: Prof. Dr. Gustavo Graciano Fonseca. Tese (Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados. 1. Bioprospecção. 2. Leveduras isoladas. 3. Parâmetros cinéticos. I. Título.
-------	--


Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.



Termo de Aprovação


Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer **APROVADO**, para a tese intitulada: "Fisiologia de 15 leveduras em diferentes condições de cultivo", de autoria de **Cinthia Aparecida de Andrade Silva**, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados.



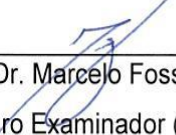
Prof. Dr. Gustavo Graciano Fonseca
Presidente da banca examinadora




Prof^ª. Dr^ª. Margareth Batistote
Membro Examinador (UEMS)



Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite
Membro Examinador (UFGD)



Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz
Membro Examinador (UFGD)



Prof^ª. Dr^ª. Sandriane Pizato
Membro Examinador (UEM)

Dourados/MS, 20 de junho de 2017.

*“Não é sobre chegar no topo do mundo e saber
que venceu.*

*É sobre escalar e sentir que o caminho te
fortaleceu”*

Ana Vilela

A todos que contribuíram com essa importante fase da minha vida.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Antes de mais nada, aprendi que um doutorado não se constrói sozinha, é necessário muitas “mãos” para o sucesso dessa fase. Por isso, agradeço:

À Deus, por me dar saúde física e mental para chegar até aqui.

Aos meus pais, que tiveram como objetivo educar as filhas para que tivessem oportunidades que eles não tiveram. “Pai e mãe vocês conseguiram...sou Dra!”

Ao orientador, Gustavo Graciano Fonseca, pelos anos de trabalho juntos, ensinamentos, oportunidades e amizade.

Ao meu querido Anderson Luiz Back, pelo companheirismo, participação e incentivo em todas as minhas (nossas) escolhas.

Marta Lígia, Pedro e Janaína, que mais que alunos de iniciação científica, se tornaram meus grandes amigos. Sem vocês nada disso seria possível.

A minha família e amigos, pessoas muito importantes na minha caminhada, irmã, avô, avós, tios (as), primos (as) e sogra que me incentivam todos os dias.

Mariana, Maria Eugênia, Valkírea, Ligia e Janina pela amizade que começou nos laboratórios da UFGD e que se estende para a vida. Obrigada por serem tão presentes nesses anos de doutoramento.

Ao grupo de pesquisa Bioengenharia, por colaborar, apoiar, dialogar, rir e chorar em vários momentos, tornando as extensas horas de laboratório agradáveis.

À UFGD e ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Biodiversidade pela oportunidade de formação.

À UEMS, em especial aos membros do Centro de Pesquisa em Recursos Naturais (CERNA), que permitiram adaptar a minha rotina trabalho para que pudesse realizar o doutorado.

Aos órgãos de financiamento, Capes, CNPq e Fundect.

NOMENCLATURA

Ac.....	acetato
ARA.....	arabinose
ATP.....	adenosina trifosfato
CAT-1.....	Catanduva - 1
CO ₂	dióxido de carbono
CTC.....	Centro de Tecnologia Canavieira
DO.....	densidade óptica
dS.....	derivada de substrato
dt.....	derivada de tempo
Eth.....	etanol
FRU.....	frutose
GAL.....	galactose
GLC.....	glicose
Gli.....	glicerol
HCl.....	ácido clorídrico
Iso.....	isolado
K _s	constante de afinidade do substrato
LAC.....	lactose
ln.....	logaritmo neperiano
MCS.....	massa celular seca
MT.....	Mato Grosso
MS.....	Mato Grosso do Sul
N ₂	gás nitrogênio
NADH.....	dinucleótido de nicotiamina e adenina
NaOH.....	hidróxido de sódio
nc.....	não apresentou crescimento
nd.....	não determinado
P.....	produto
P _i	concentração inicial do produto
PCA.....	análise de componentes principais

PE-2.....	Pedra – 2
P_{Eth}	produtividade de etanol
pH.....	potencial hidrogênio
P_{max}	concentração máxima do produto
P_P	produtividade de produto
P_X	produtividade de biomassa
Recol.....	Rede Centro Oeste de Leveduras
RID.....	refratômetro diferencial
S.....	substrato
S_i	concentração inicial do substrato
S_{res}	substrato residual
Suc.....	succinato
TD.....	tempo de duplicação
TFA.....	ácido trifluoroacético
t.....	tempo final
t_i	tempo inicial
t_g	tempo de duplicação ou geração
UHPLC.....	cromatografia líquida de alta performance
$Y_{Ac/S}$	fator de conversão de substrato em acetato
$Y_{Gli/S}$	fator de conversão de substrato em glicerol
$Y_{Eth/S}$	fator de conversão de substrato em etanol
$Y_{P/S}$	fator de conversão de substrato a produtos
$Y_{Suc/S}$	fator de conversão de substrato em succinato
$Y_{X/S}$	fator de conversão de substrato a células
X.....	concentração celular/biomassa
X_i	concentração celular inicial
X_{max}	concentração celular máxima
XYL.....	xilose
μ	velocidade específica
μ_{max}	velocidade específica de crescimento máxima
μ_s	velocidade específica de consumo de substrato

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Cinéticas de crescimento, formação de metabólitos e consumo de substrato durante cultivos utilizando frutose (10 g L^{-1}) como fonte de carbono, em aerobiose.	52
Figura 4.1. Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros cinéticos em glicose de <i>S. cerevisiae</i> CAT-1 e outras 13 diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, em planos formados por eixos de PC1 e PC2.	77
Figura 4.2. Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros cinéticos em frutose de <i>S. cerevisiae</i> CAT-1 e outras 13 diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, em planos formados por eixos de PC1 e PC2.	79
Figura 4.3. Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros cinéticos em sacarose de <i>S. cerevisiae</i> CAT-1 e outras 13 diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, em planos formados por eixos de PC1 e PC2.	81
Figura 4.4. Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros cinéticos em glicose, frutose e sacarose de <i>S. cerevisiae</i> CAT-1 e outras 13 diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, em planos formados por eixos do PC1 e PC2.	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Parâmetros cinéticos das linhagens de <i>Saccharomyces</i> com substrato glicose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).....	14
Tabela 2.2. Parâmetros cinéticos das linhagens de não- <i>Saccharomyces</i> com substrato glicose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).....	18
Tabela 2.3. Parâmetros cinéticos das linhagens de <i>Saccharomyces</i> com substrato frutose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).....	21
Tabela 2.4. Parâmetros cinéticos das linhagens de não <i>Saccharomyces</i> com substrato frutose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).....	22
Tabela 2.5. Parâmetros cinéticos das linhagens de <i>Saccharomyces</i> com substrato sacarose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).....	23
Tabela 2.6. Parâmetros cinéticos das linhagens de não <i>Saccharomyces</i> com substrato sacarose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).....	24
Tabela 2.7. Parâmetros cinéticos das linhagens de <i>Saccharomyces</i> com substrato arabinose, galactose, lactose, maltose, manose e xilose, em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).....	25
Tabela 2.8. Parâmetros cinéticos das linhagens de não- <i>Saccharomyces</i> com substrato arabinose, celobiose, galactose, lactose, maltose, rafinose e xilose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).	27
Tabela 2.9. Parâmetros cinéticos das linhagens de <i>Saccharomyces</i> com combinação de substrato em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).	29
Tabela 2.10. Parâmetros cinéticos das linhagens de não <i>Saccharomyces</i> com combinação de substrato em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).	30
Tabela 3.1. Parâmetros cinéticos dos cultivos, utilizando frutose como fonte de carbono com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e com <i>S. cerevisiae</i> CAT-1, em aerobiose.	48
Tabela 4.1. Parâmetros cinéticos dos cultivos realizado com glicose como fonte de carbono com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e <i>S. cerevisiae</i> CAT-1, em condições de anaerobiose.	65

Tabela 4.2. Balanço de carbono (g L^{-1}) e recuperação de carbono (%) com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e <i>S. cerevisiae</i> CAT-1, em condições de anaerobiose, utilizando glicose como substrato.	66
Tabela 4.3. Parâmetros cinéticos dos cultivos realizado com frutose como fonte de carbono com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e <i>S. cerevisiae</i> CAT-1, em condições de anaerobiose.	68
Tabela 4.4. Balanço de carbono (g L^{-1}) e recuperação de carbono (%) com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e <i>S. cerevisiae</i> CAT-1, em condições de anaerobiose, utilizando frutose como substrato.	69
Tabela 4.5. Parâmetros cinéticos dos cultivos realizado com sacarose como fonte de carbono com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e <i>S. cerevisiae</i> CAT-1, em condições de anaerobiose.	71
Tabela 4.6. Balanço de carbono (g L^{-1}) e recuperação de carbono (%) com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e com <i>S. cerevisiae</i> CAT-1, em condições de anaerobiose, utilizando sacarose como substrato.	72
Tabela 4.7. Carga das variáveis baseadas em correlações, para os dois principais componentes (PC1 e PC2) em glicose.	76
Tabela 4.8. Carga das variáveis baseadas em correlações, para os dois componentes principais (PC1 e PC2) em frutose.	78
Tabela 4.9. Carga das variáveis baseadas em correlações, para os dois componentes principais (PC1 e PC2) em sacarose.	80
Tabela 4.10. Carga das variáveis baseadas em correlações, para os dois componentes principais (PC1 e PC2) em glicose, frutose e sacarose.	82

LISTA DE EQUAÇÕES

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad \text{Equação 2.1}$$

$$\mu_S = \frac{1}{X} \left(- \frac{dS}{dt} \right) \quad \text{Equação 2.2}$$

$$\mu_S = \frac{\mu_{\max}}{Y_{X/S}} \quad \text{Equação 2.3; Equação 3.1; Equação 4.1}$$

$$Y_{X/S} = \frac{X - X_i}{S_i - S} \quad \text{Equação 2.4}$$

$$Y_{P/S} = \frac{P - P_i}{S_i - S} \quad \text{Equação 2.5}$$

$$\ln \frac{X_i}{X} = \mu_{\max} (t - t_i) \quad \text{Equação 2.6}$$

$$\ln 2 \frac{X}{X_i} = \mu_{\max} t_g \quad \text{Equação 2.7}$$

$$P_X = \frac{X_{\max} - X_i}{t} \quad \text{Equação 2.8; Equação 3.3; Equação 4.3}$$

$$P_P = \frac{P_{\max} - P_i}{t} \quad \text{Equação 2.9}$$

$$P_{Eth} = \frac{P_{\max} - P_i}{t} \quad \text{Equação 3.2; Equação 4.2}$$

RESUMO

SILVA, Cinthia Aparecida de Andrade, Dra, Universidade Federal da Grande Dourados, junho de 2017. **Fisiologia de 15 leveduras em diferentes condições de cultivo.** Orientador: Gustavo Graciano Fonseca.

A bioprospecção de novas cepas de leveduras é importante devido à grande biodiversidade existente na natureza e ainda pouco explorada. A região Centro-Oeste devido as suas características ambientais são favoráveis à presença de microrganismos, como as leveduras, sendo um ambiente propício para a bioprospecção de novas linhagens. Além disso, a região possui várias usinas e destilarias, no qual durante o processo fermentativo estão presentes várias cepas de leveduras selvagens. O estudo fisiológico de novas cepas se torna importante para o estabelecimento de novas plataformas microbianas com diferentes aplicações biotecnológicas. No primeiro capítulo é apresentado uma introdução geral sobre o trabalho. No segundo capítulo é feita uma revisão da utilização dos parâmetros cinéticos como ferramenta para estudos fisiológicos em leveduras. No terceiro capítulo, foi avaliada a fisiologia de *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1, 3 leveduras isoladas de usina de açúcar e álcool e 11 leveduras isoladas de frutos da Região Centro-Oeste, utilizando-se frutose (10 g L^{-1}) como única fonte de carbono, em aerobiose. As linhagens que apresentaram maior velocidade específica de crescimento máxima (μ_{\max}) foram as isoladas de mosto (valores entre $0,47$ e $0,49 \text{ h}^{-1}$). Entre as linhagens isoladas de frutos, *Candida parapsilosis* Recol 29 apresentou μ_{\max} superior ($0,44 \text{ h}^{-1}$). *S. cerevisiae* CAT-1 ($3,02 \text{ h}^{-1}$), *S. cerevisiae* BB9 ($3,01 \text{ h}^{-1}$) e *Candida glabrata* Recol 41 ($2,52 \text{ h}^{-1}$) se destacaram em termos de μ_S . *C. parapsilosis* Recol 29 e *Rhodotorula mucilaginosa* Recol 03 foram as que apresentaram maior $Y_{X/S}$. A análise de $Y_{P/S}$ indicou que *C. glabrata* Recol 10 e *S. cerevisiae* BB9 se destacaram ($0,44$ e $0,41 \text{ gEth gS}^{-1}$, respectivamente). Por fim, no quarto capítulo foi analisado a fisiologia de *S. cerevisiae* CAT-1 e de outras 13 leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, por meio de parâmetros cinéticos obtidos a partir de cultivos com 3 diferentes fontes únicas de carbono (glicose, frutose ou sacarose), em condições de anaerobiose. Em glicose, *S. cerevisiae* CAT-1 se destacou, pois apresentou os maiores valores de μ_{\max} ($0,35 \text{ h}^{-1}$), μ_S ($3,06 \text{ h}^{-1}$) e P_{Eth} ($0,69 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). *Candida glabrata* Recol 43 e *C. glabrata* Recol 10 se destacaram pelo rápido consumo de substrato, formação de etanol e biomassa. *Meyerozyma guilliermondii* Recol 09, *Candida parapsilosis* Recol 12, *Candida parapsilosis* Recol 37 e Isolado Recol 42 apresentaram maiores tempo de cultivo. Assim como em glicose, *S. cerevisiae* CAT-1 se sobressaiu em relação as demais linhagens em frutose, com valores superiores de μ_{\max} ($0,25 \text{ h}^{-1}$), μ_S ($2,24 \text{ h}^{-1}$) e P_{Eth} ($0,60 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). *M. guilliermondii* Recol 09, *C. parapsilosis* Recol 37 e Isolado Recol 42 apresentaram cultivos com mais de 30 h e substrato residual. Em sacarose, apenas *S. cerevisiae* CAT-1, *S. cerevisiae* BB9 e *Pichia kudriavzevii* Recol 39 foram capazes de consumir todo o substrato apresentando P_{Eth} de $0,72$, $0,51$ e $0,44 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente. Observou-se nos experimentos que frutose é um substrato interessante, pois em anaerobiose as linhagens apresentaram maior formação de etanol nesse substrato. Além disso, diferentes linhagens apresentaram potencial biotecnológico

Palavras-chave: Bioprospecção; Leveduras isoladas; Parâmetros cinéticos.

ABSTRACT

SILVA, Cinthia Aparecida de Andrade, Dra, Federal University of Grande Dourados, June, 2017. **Physiology of 15 yeasts in different culture conditions.** Adviser: Gustavo Graciano Fonseca.

Bioprospecting of new strains of yeasts is important because of the great biodiversity that exists in nature and still little explored. Brazilian Midwest Region due to its environmental characteristics are favorable to the presence of microorganisms, such as yeasts, being an environment conducive to the bioprospecting of new strains. In addition, the region has several plants and distilleries, in which during the fermentation process several of wild yeasts are present. The physiological study of new strains becomes important for the establishment of new microbial platforms with different biotechnological applications. The first chapter presents a general introduction about the work. The second chapter is a reviews the use of kinetic parameters as a tool for physiological studies in yeast. In the third chapter, the physiology of *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1, 3 yeasts isolated from sugar and alcohol plants and 11 yeasts isolated from fruits of the Brazilian Cerrado were evaluated using fructose (10 g L^{-1}) as the sole source of carbon, in aerobiosis. The strains that showed the highest specific maximum growth rate (μ_{\max}) were isolated from must (values between 0.47 and 0.49 h^{-1}). Among the isolated strains of fruits, *Candida parapsilosis* Recol 29 presented higher μ_{\max} (0.44 h^{-1}). *S. cerevisiae* CAT-1 (3.02 h^{-1}), *S. cerevisiae* BB9 (3.01 h^{-1}) and *Candida glabrata* Recol 41 (2.52 h^{-1}) stood out in terms of μ_S . *C. parapsilosis* Recol 29 and *Rhodotorula mucilaginosa* Recol 03 were those that presented higher $Y_{X/S}$. $Y_{P/S}$ analysis indicated that *C. glabrata* Recol 10 and *S. cerevisiae* BB9 stood out (0.44 and $0.41 \text{ gEth gS}^{-1}$, respectively). Finally, in the fourth chapter the physiology of *S. cerevisiae* CAT-1 and other 13 yeasts isolated from the Brazilian Cerrado were analyzed using kinetic parameters obtained from cultures with 3 different single sources of carbon (glucose, fructose or sucrose) under anaerobic conditions. In glucose, *S. cerevisiae* CAT-1 showed the highest values of μ_{\max} (0.35 h^{-1}), μ_S (3.06 h^{-1}) and P_{Eth} ($0.69 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). *Candida glabrata* Recol 43 and *C. glabrata* Recol 10 were distinguished by the rapid consumption of substrate, formation of ethanol and biomass. *Meyerozyma guilliermondii* Recol 09, *Candida parapsilosis* Recol 12, *Candida parapsilosis* Recol 37 and Isolate Recol 42 showed longer culture time. As in glucose, *S. cerevisiae* CAT-1 was superior to the other fructose strains, with values higher than μ_{\max} (0.25 h^{-1}), μ_S (2.24 h^{-1}) and P_{Eth} ($0.60 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). *M. guilliermondii* Recol 09, *C. parapsilosis* Recol 37 and Isolate Recol 42 presented cultures with more than 30 h and residual substrate. In sucrose, only *S. cerevisiae* CAT-1, *S. cerevisiae* BB9 and *Pichia kudriavzevii* Recol 39 were able to consume the entire substrate presenting P_{Eth} of 0.72 , 0.51 and $0.44 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectively. It was observed in the experiments that fructose is an interesting substrate, because in anaerobiosis the yeasts showed higher ethanol formation in this substrate. In addition, different strains showed biotechnological potential.

Keywords: Bioprospecting; Yeasts isolated; Kinetic parameters.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
1.2 ESTRUTURA DO TRABALHO	2
1.3 OBJETIVOS	2
1.4 REFERÊNCIAS	3
2 PARÂMETROS CINÉTICOS COMO FERRAMENTA PARA ESTUDOS FISIOLÓGICOS EM LEVEDURAS: UMA REVISÃO	4
2.1 INTRODUÇÃO	4
2.2 PARÂMETROS CINÉTICOS	5
2.3 PARÂMETROS CINÉTICOS DE DIFERENTES LINHAGENS EM DIFERENTES SUBSTRATOS	8
2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	12
REFERÊNCIAS	35
3 FISIOLOGIA DE <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CAT-1 E DE OUTRAS 14 LEVEDURAS, ISOLADAS DA REGIÃO CENTRO-OESTE, TENDO FRUTOSE COMO FONTE ÚNICA DE CARBONO EM AEROBIOSE	42
3.1 INTRODUÇÃO	42
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	44
3.2.1 Microrganismos e manutenção	44
3.2.2 Meio mineral para pré-cultivos e cultivos	45
3.2.3 Condições de cultivo	45
3.2.4 Quantificação de metabólitos extracelulares e determinações de biomassa	46
3.2.5 Determinação de parâmetros cinéticos	46
3.2.6 Análises estatísticas	47
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	53
4 FISIOLOGIA DE <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CAT-1 E DE OUTRAS 13 LEVEDURAS ISOLADAS DA REGIÃO CENTRO-OESTE, CULTIVADAS EM DIFERENTES AÇÚCARES EM ANAEROBIOSE	57
4.1 INTRODUÇÃO	57

4.2 MATERIAL E MÉTODOS	59
4.2.1 Microrganismos e manutenção.....	59
4.2.2 Meio mineral para pré-cultivos e cultivos.....	59
4.2.3 Biorreator para cultivos.....	60
4.2.4 Condições de cultivo	60
4.2.5 Quantificação de metabólitos extracelulares e determinações de biomassa	61
4.2.6 Determinação de parâmetros cinéticos.....	61
4.2.7 Análise de CO ₂ e balanço de carbono	62
4.2.8 Análises estatística	63
4.3 RESULTADOS	63
4.3.1 Cultivos com glicose como fonte única de carbono.....	63
4.3.2 Cultivos com frutose como fonte única de carbono.....	66
4.3.3 Cultivos com sacarose como fonte única de carbono	69
4.4 DISCUSSÃO.....	72
4.4.1 Cultivos com glicose ou frutose como fontes únicas de carbono	72
4.4.2 Cultivos com sacarose como fonte única de carbono	74
4.4.3 Análise de Componentes Principais (PCA)	76
CONCLUSÃO	83
REFERÊNCIAS	83
CONCLUSÃO GERAL	87
APÊNDICES	88
Apêndice 1: Relação de $Y_{X/S}$ e $Y_{Eth/S}$ com substrato glicose, em aerobiose e 30°C (Capítulo 2).	88
Apêndice 2: Relação de $Y_{X/S}$ e μ_{max} com substrato glicose, em aerobiose e 30°C (Capítulo 2).	89
Apêndice 3. Dados experimentais referentes às cinéticas de crescimento e consumo de substratos com frutose, em aerobiose (Capítulo 3).	90
Apêndice 4. Cinéticas de crescimento, formação de metabólitos e consumo de substrato para cultivos em substrato glicose, em anaerobiose (Capítulo 4).	104
Apêndice 5. Cinéticas de crescimento, formação de metabólitos e consumo de substrato para cultivos em substrato frutose, em anaerobiose (Capítulo 4).	106

Apêndice 6. Cinéticas de crescimento, formação de metabólitos e consumo de substrato para cultivos em substrato sacarose, em anaerobiose (Capítulo 4).....	108
Apêndice 7. Dados experimentais referentes às cinéticas de crescimento e consumo de substratos com glicose, em anaerobiose (Capítulo 4).	110
Apêndice 8. Dados experimentais referentes às cinéticas de crescimento e consumo de substrato com frutose, em anaerobiose (Capítulo 4).	123
Apêndice 9. Dados experimentais referentes às cinéticas de crescimento e consumo de substrato com sacarose, em anaerobiose (Capítulo 4).	134
Apêndice 10. Fotografias do biorreator para cultivos em anaerobiose (Capítulo 4).....	146
ANEXOS.....	147

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Esta tese apresenta as atividades realizadas pela aluna Cinthia Aparecida de Andrade Silva durante o seu doutoramento pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biodiversidade da Rede Pró-Centro-Oeste na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), iniciado em outubro de 2013.

A definição do projeto de tese surgiu a partir do projeto de pesquisa, aprovado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), intitulado “Avaliação do potencial biotecnológico de diferentes leveduras isoladas na Região Centro-Oeste, visando à produção de etanol, através de uma abordagem sistêmica” (Edital MCT/CNPq/CT-BIOTEC/Rede Nacional de Pesquisa em Leveduras Nº 27/2010), com o objetivo de isolar e avaliar o potencial biotecnológico de diferentes linhagens de leveduras da Região Centro-Oeste Brasileira, visando à produção de etanol, tendo como referência as principais leveduras industriais e de laboratório.

Juntamente com esse projeto foi criada a Rede Centro Oeste de leveduras (Recol), com o objetivo de atender a esse projeto. A Recol conta com diversas instituições: Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), Usina São Fernando de Açúcar e Álcool (USFAA) e Associação de Produtores de Bioenergia do Mato Grosso do Sul (BIOSUL).

O desenvolvimento do projeto deu-se a partir do isolamento de cepas de leveduras provenientes de frutos e cama de frango (Stefanello, 2010), isolamento de cepas do mosto da usina de açúcar e álcool do município de Barra do Bugres – MT (Silva et al., 2011) e com a linhagem industrial *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1 cedida pela Usina São Fernando de Açúcar e Álcool – Dourados/MS.

Posteriormente, no grupo de Bioengenharia da UFGD, foram estudadas 52 linhagens de leveduras: 46 isolados bioprospectados de frutos, 2 de cama de frango, 3 isoladas da Usina Barrálcool do município de Barra do Bugres - MT e a levedura industrial *S. cerevisiae* CAT-1, quanto a assimilação e fermentação em diferentes substratos (Camargo, 2013). A partir dos resultados desse estudo foram selecionadas 15 linhagens por apresentarem perfis fermentativos viáveis para estudos cinéticos.

Assim, Camargo (2013) realizou estudo de parâmetros cinéticos para as linhagens BB1, BB2, BB9, Recol 03, Recol 09, Recol 10, Recol 12, Recol 29, Recol 37, Recol 39, Recol 41, Recol 42, Recol 43, Recol 44 e *S. cerevisiae* CAT-1, com as fontes de carbono glicose e sacarose em condições de aerobiose.

Portanto, para uma melhor compreensão da fisiologia dessas linhagens, observou-se a necessidade de estudo em substrato frutose, como única fonte de carbono, em condições de aerobiose (Capítulo 3), já que no setor sucroalcooleiro, a matéria-prima utilizada é a cana-de-açúcar, rica em sacarose, um dissacarídeo não redutor formado pelas moléculas de glicose e frutose, unidas através da ligação glicosídica (Stambuk et al., 2000). Em seguida, realizaram-se cultivos, em condições de anaerobiose, nos três açúcares previamente estudados (glicose, frutose e sacarose, como única fonte de carbono), em anaerobiose (Capítulo 4).

1.2 ESTRUTURA DO TRABALHO

A partir desta Introdução Geral (Capítulo 1), o trabalho foi organizado da seguinte forma:

Capítulo 2: Parâmetros cinéticos como ferramenta para estudos fisiológicos em leveduras: Uma revisão;

Capítulo 3: Fisiologia de *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1 e de outras 14 leveduras, isoladas da Região Centro-Oeste, tendo frutose como fonte única de carbono em aerobiose;

Capítulo 4: Fisiologia de *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1 e de outras 13 leveduras, isoladas da Região Centro-Oeste, em cultivos com diferentes açúcares em anaerobiose;

Na sequência apresentam-se a Conclusão Geral, Apêndices e Anexos.

1.3 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram:

- Objetivo Geral: Avaliar a fisiologia de 15 leveduras em diferentes condições de cultivo a partir de parâmetros cinéticos.

- Artigo 1: Compilar e sistematizar informações sobre os principais parâmetros cinéticos de cultivos descontínuos com diferentes fontes de carbono (açúcares e suas combinações), além de avaliar e explicar esses parâmetros nos cultivos com leveduras em diferentes condições (Capítulo 2).
- Artigo 2: Avaliar a fisiologia de 15 diferentes leveduras cultivadas em meio mineral contendo frutose como única fonte de carbono, em aerobiose, através de seus parâmetros cinéticos e produção de metabólitos (Capítulo 3).
- Artigo 3: Estudar a fisiologia de *S. cerevisiae* CAT-1 e de 13 leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, por meio de parâmetros cinéticos obtidos em cultivos com 3 diferentes fontes únicas de carbono (glicose, frutose e sacarose), em condições de anaerobiose (Capítulo 4).

1.4 REFERÊNCIAS

Camargo, J.Z., 2013. Estudo da fisiologia de diferentes leveduras industriais e isoladas na Região Centro-Oeste. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, Dourados.

Silva, R.O., Batistote, M., Cereda, M.P., 2011. Wild strains of fermenting yeast isolated of sugar cane juice from an alcohol distillery from Mato Grosso, Brazil. *J. Biotec. Biodivers.* 2, 22-27.

Stambuk, B.U., Batista, A.S., Araujo, P.S., 2000. Kinetics of active sucrose transport in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biosci. Bioeng.* 2, 212-214.

Stefanello, I., 2010. Isolamento de leveduras de diferentes substratos e avaliação de suas propriedades de assimilação e fermentação em açúcares visando à produção de etanol. 37 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, Dourados.

2 PARÂMETROS CINÉTICOS COMO FERRAMENTA PARA ESTUDOS FISIOLÓGICOS EM LEVEDURAS: UMA REVISÃO

RESUMO: Parâmetros cinéticos de cultivos são utilizados em estudos com diversos objetivos. A análise de parâmetros cinéticos é uma ferramenta matemática simples, que não requer infraestrutura analítica complexa para sua execução, gerando informações rápidas acerca do comportamento de microrganismos. Entre os principais parâmetros cinéticos estão: velocidade específica de consumo de substrato (μ_S), velocidade específica de crescimento máxima (μ_{max}), tempo de duplicação (TD), fator de conversão de substrato a células ($Y_{X/S}$), fator de conversão de substrato a produtos ($Y_{P/S}$), além de dados de produtividade de biomassa (P_X) e de produto (P_P), *e.g.* etanol (P_{Eth}). Assim, parâmetros cinéticos em cultivos de leveduras com açúcares como fonte de carbono e diferentes condições de cultivo foram compilados da literatura, com o objetivo de sistematizar informações sobre os principais parâmetros cinéticos de cultivos descontínuos com diferentes fontes de carbono (açúcares e suas combinações), além de avaliar e explicar esses parâmetros em diferentes condições de cultivos com leveduras.

Palavras-chave: Açúcares; Crescimento; Cultivos descontínuos.

2.1 INTRODUÇÃO

A compreensão acerca da fisiologia e metabolismo de leveduras é importante, pois com isso, pode-se direcioná-las para diferentes aplicações biotecnológicas. A análise de fluxos metabólicos e estudos de parâmetros cinéticos são técnicas para estudar o comportamento das leveduras em diferentes substratos e condições de cultivo.

A análise de fluxos metabólicos é um método utilizado para análise de células em diferentes ambientes, porém essa análise requer o conhecimento da composição da biomassa celular, um modelo estequiométrico para o metabolismo central de carbono, além de técnicas mais elaboradas (Stephanopoulos, 1999).

Por outro lado, a determinação de parâmetros cinéticos é uma ferramenta matemática simples que permite obter uma resposta rápida do comportamento das leveduras em diferentes condições de cultivo, gerando informações a respeito da fisiologia e metabolismo, sem requerer infraestrutura analítica complexa. O conhecimento dos parâmetros cinéticos é importante para a modelagem de um processo bioquímico. Através do estudo desses parâmetros pode-se inferir, a velocidade de utilização de substratos, crescimento da biomassa (Santos e Ishii, 2011) e o destino de compostos orgânicos (Grady Júnior et al., 1996). Além disso, a partir das respostas desses parâmetros, pode-se escolher quais estudos mais específicos devem ser realizados para

determinado objetivo, *e.g.* escolha de linhagens e possibilidade de ampliação de escalas laboratoriais para escala industriais.

Com isso, objetivou-se com este trabalho compilar e sistematizar informações sobre os principais parâmetros cinéticos de cultivos descontínuos com diferentes fontes de carbono (açúcares e suas combinações), além de avaliar e explicar esses parâmetros nos cultivos com leveduras em diferentes condições.

2.2 PARÂMETROS CINÉTICOS

O estudo cinético de um processo fermentativo consiste na análise da evolução de valores de um ou mais componentes do sistema de cultivo, em função do tempo de fermentação (Hiss, 2001). A cinética de crescimento microbiano, caracteriza-se pela relação entre a velocidade específica de crescimento de uma população microbiana e as concentrações de substrato (Kovárová-Kovar e Egli, 1998).

Um dos primeiros modelos matemáticos foi proposto por Jacques Monod em 1942 (Kono, 1968). A cinética de crescimento microbiano proposto por Monod introduzia o conceito do substrato como controle de crescimento (fator limitante) (Okpokwasili e Nweke, 2005). O modelo de Monod relaciona a velocidade de crescimento com a concentração de um único substrato como controle de crescimento por meio de dois parâmetros, a velocidade específica de crescimento máxima (μ_{\max}) e a constante de afinidade do substrato (K_s) (Kovárová-Kovar e Egli, 1998; Martín-Pascual et al., 2012).

A equação proposta por Monod (Equação 2.1) foi utilizada para explicar a relação entre a concentração do substrato (S) limitante no meio, com a velocidade específica (μ) de reprodução do microrganismo (Hiss, 2001):

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad \text{Equação 2.1}$$

No qual: μ = velocidade específica de crescimento; μ_{\max} = velocidade específica de crescimento máxima; S = substrato; K_s = constante de afinidade do substrato.

O entendimento do crescimento microbiano e da cinética de utilização de substrato e formação de produtos é importante para a previsão do destino dos compostos orgânicos em ambientes naturais e modificados (Grady Júnior et al., 1996). Informações sobre a cinética do

processo de fermentação podem indicar melhorias do desempenho do processo (Gaden Júnior, 1959). Além disso, sem o conhecimento da cinética é inviável a transposição de um experimento de laboratório para a escala industrial, com os estudos cinéticos é possível a comparação quantitativa entre diferentes condições de cultivo por intermédio dos parâmetros cinéticos, como velocidades de transformação e fatores de conversão obtidos por meio de curvas de ajustes (Hiss, 2001).

Entre as velocidades de transformação está a velocidade específica de consumo de substrato (μ_S) (Equação 2.2) (Martín-Pascual et al., 2012). A velocidade específica de consumo de substrato também pode ser calculada pela Equação 2.3 (Fonseca et al., 2013).

$$\mu_S = \frac{1}{X} \left(- \frac{dS}{dt} \right) \quad \text{Equação 2.2}$$

$$\mu_S = \frac{\mu_{\max}}{Y_{X/S}} \quad \text{Equação 2.3}$$

No qual: μ_S = velocidade específica de consumo de substrato; X = concentração celular; dS = derivada de substrato; dt = derivada de tempo; μ_{\max} = velocidade específica de crescimento máxima; $Y_{X/S}$ = fator de conversão de substrato a células.

Os rendimentos são calculados com base no consumo de um substrato para a formação de algum produto, sendo esses os fatores de conversão. Os fatores de conversão mais utilizados são os fatores de conversão de substrato a células ($Y_{X/S}$) e substrato a produto ($Y_{P/S}$) (Equação 2.4 e 2.5). O rendimento do crescimento microbiano é definido como o aumento na biomassa (X) que resulta da utilização do substrato (S) (Martín-Pascual et al., 2012), assim também para a formação do produto, pois o rendimento é medido pelo consumo do substrato.

$$Y_{X/S} = \frac{X - X_i}{S_i - S} \quad \text{Equação 2.4}$$

$$Y_{P/S} = \frac{P - P_i}{S_i - S} \quad \text{Equação 2.5}$$

No qual: $Y_{X/S}$ = fator de conversão de substrato a células; X = concentração celular final; X_i = concentração celular inicial; $Y_{P/S}$ = fator de conversão de substrato a produto; P = concentração final do produto; P_i = concentração inicial do produto; S_i = concentração inicial do substrato; S = concentração final do substrato.

$Y_{X/S}$ foi originalmente definido por Monod tendo sido útil em análises de alguns processos como produção de proteínas unicelulares a partir de carboidratos ou hidrocarbonetos (Hiss, 2001).

O crescimento microbiano em cultivos descontínuos é caracterizado pelas fases *lag*, exponencial, estacionária e morte (Monod, 1959; Wang e Buchanana, 2016). É durante a fase exponencial que a velocidade específica de crescimento é constante e máxima (Equação 2.6) (Hiss, 2001).

$$\ln \frac{X_t}{X_i} = \mu_{\max} (t - t_i) \quad \text{Equação 2.6}$$

No qual: \ln = logaritmo neperiano; X = concentração celular final; X_i = concentração celular inicial; μ_{\max} = velocidade específica de crescimento máxima; t = tempo final da fase exponencial; t_i = tempo inicial da fase exponencial.

Ao lado da μ_{\max} , a fase exponencial também é caracterizada pelo tempo de duplicação ou geração (t_g) que é o intervalo de tempo necessário para dobrar o valor da constante celular (Equação 2.7) (Hiss, 2001).

$$\ln 2 \frac{X}{X_i} = \mu_{\max} t_g \quad \text{Equação 2.7}$$

No qual: \ln = logaritmo neperiano; X = concentração celular final; X_i = concentração celular inicial; μ_{\max} = velocidade específica de crescimento máxima; t_g = tempo de duplicação.

A estimativa dos parâmetros de crescimento microbiano, em particular a velocidade específica de crescimento máxima, é essencial em muitas áreas da microbiologia, *e.g.* para caracterizar os efeitos de antimicrobianos, otimizar os meios microbianos e desenvolver modelos cinéticos de utilização em alimentos e nas tecnologias de fermentação (Esener et al., 1981; Dalgaard e Koutsoumanis, 2001).

Os primeiros parâmetros de importância comercial foram os rendimentos do produto final e as conversões de substrato, porém, à medida que a tecnologia se desenvolveu, foi dada maior atenção aos fatores que levam tempo em consideração, como produtividade, que é definida como a concentração do produto final dividida pelo tempo (Gaden Júnior, 1959). A produtividade avalia o desempenho de um processo fermentativo, esta pode ser aplicada a

produtividade de biomassa (Equação 2.8) e também produtividade de produtos (Equação 2.9) (Ribeiro e Horii, 1999).

$$P_X = \frac{X_{\max} - X_i}{t} \quad \text{Equação 2.8}$$

$$P_P = \frac{P_{\max} - P_i}{t} \quad \text{Equação 2.9}$$

No qual: P_X = produtividade de biomassa; X_{\max} = concentração celular máxima; X_i = concentração celular inicial; t = tempo final de concentração máxima; P_P = produtividade de produto; P_{\max} = concentração máxima do produto; P_i = concentração inicial do produto.

2.3 PARÂMETROS CINÉTICOS DE DIFERENTES LINHAGENS EM DIFERENTES SUBSTRATOS

Os principais parâmetros cinéticos de cultivos descontínuos (*i. e.* sistemas fechados inoculados com um volume de microrganismos e quantidade de substrato limitado) foram compilados da literatura a fim de exemplificar sua aplicação, a partir de estudos com diferentes objetivos, *e.g.* compreensão da fisiologia, metabolismo, transporte de carboidratos, efeitos de mutações, além de produção de enzimas, piruvato, proteínas e outros. Assim, dados de concentração de substrato (S), velocidade específica de crescimento máxima (μ_{\max}), fator de conversão de substrato a células ($Y_{X/S}$), velocidade específica de consumo de substrato (μ_S), fator de conversão de substrato a produto ($Y_{P/S}$) para diversas linhagens de leveduras cultivadas em diferentes condições de cultivo são apresentados nas Tabelas 2.1 a 2.10.

A Tabela 2.1 apresenta os parâmetros cinéticos de linhagens do gênero *Saccharomyces* utilizando glicose como fonte única de carbono em diferentes concentrações, temperatura e cultivos em aerobiose, oxigênio limitado e anaerobiose.

Grande parte dos estudos realizados com *Saccharomyces cerevisiae* ocorrem entre 30 e 37°C, porém *S. cerevisiae* CCTCC M20122 foi estudada a 15°C, com alta concentração de glicose (85 g L⁻¹), em aerobiose (Wang et al., 2004), e nessas condições essa linhagem apresentou o menor μ_{\max} 0,09 h⁻¹ (Tabela 2.1). O mesmo foi observado com o substrato frutose (91,1 g L⁻¹) μ_{\max} 0,08 h⁻¹ (Tabela 2.3) e sacarose (96,6 g L⁻¹) μ_{\max} 0,08 h⁻¹ (Tabela 2.5), indicando que essa temperatura não é ideal para crescimento dessa linhagem. Outrossim observou-se para

S. cerevisiae CEN.PK113-7D em anaerobiose a 5, 10, 15 e 18,5°C, cujos valores de μ_{\max} obtidos foram de 0,008, 0,003, 0,006 e 0,11 h⁻¹, respectivamente (Tabela 2.1) (Zakhartsev et al., 2015).

A temperatura ótima de crescimento do gênero *Saccharomyces* foi reportada como aproximadamente entre 30 e 33°C (Salvadó et al., 2011). Em temperaturas subótimas e supra ótimas ocorre declínio da velocidade de crescimento, resultando diminuição de $Y_{X/S}$ (Van Uden e Madeira-Lopes, 1976; Zakhartsev et al., 2015).

Outro fator que pode influenciar no crescimento de leveduras é a concentração de substrato, pois em concentrações altas de glicose, pode ocorrer *e.g.* inibição do consumo (Wang et al., 2004) devido à repressão catabólica (Erasmus et al., 2003).

Para *S. cerevisiae* CAT-1 foram apresentados estudos à 30 e 37°C em aerobiose com 10 e 20 g L⁻¹ de glicose (Della-Bianca e Gombert, 2013; Nascimento, 2016), nessas condições, essa linhagem apresentou maiores μ_{\max} e μ_S à 37°C, porém menor taxa de formação de produtos, $Y_{X/S}$ e $Y_{Eth/S}$ (Tabela 2.1). Quando comparados dados em relação a concentração de substrato 10 e 20 g L⁻¹ observa-se que a concentração de glicose 10 g L⁻¹ é favorável ao crescimento dessa linhagem, pois apresenta maiores μ_{\max} e μ_S (Tabela 2.1).

A diminuição nas taxas de formação à 37°C pode estar relacionada ao estresse térmico, mesmo um pequeno estresse térmico pode afetar a produção de biomassa (Mensonides et al., 2002), isso porque é necessário mais carbono do substrato para neutralizar os efeitos do estresse (Della-Bianca e Gombert, 2013).

S. bayanus var. *uvarum* P3 também foi avaliada em substrato glicose (50 g L⁻¹) em condições de aerobiose, com variações de temperatura entre 21,5 e 35°C (Serra et al., 2005). À 30°C observou-se melhor adaptação da linhagem ao substrato, pois obteve-se μ_{\max} de 0,48 h⁻¹. À 21,5°C obteve-se desempenho menos favorável, com μ_{\max} de 0,27 h⁻¹. Isto provavelmente ocorre pelo fato de *S. bayanus* estar presente em habitats fermentativos e selvagens (Naumova et al., 2000; Salvadó et al., 2011), cujas temperaturas estão na faixa de 28 a 32°C.

Outra espécie de *Saccharomyces* apresentada na Tabela 2.1 é a *S. kluyveri*, linhagens Y708 e Y709 (Møller et al., 2001; Møller et al., 2002). Apesar de pertencerem ao gênero *Saccharomyces*, essas linhagens mostraram comportamento bastante diferente das linhagens de *S. cerevisiae*, pois apresentaram maiores valores de $Y_{X/S}$ 0,29 e 0,27 gMCS gS⁻¹ e baixas taxas de $Y_{Eth/S}$ 0,08 e 0,11 gEth gS⁻¹, respectivamente (Tabela 2.1; Apêndice 1). Isso acontece por essa linhagem ter um comportamento mais respiratório (Møller et al., 2001; Fonseca et al.,

2007), enquanto *S. cerevisiae* apresenta comportamento respiro-fermentativas (Otterstedt et al., 2004; Fonseca et al., 2007) nessas condições.

Ainda em substrato glicose, *Kluyveromyces lactis* CBS 2359 foi estudada à 30 e 37°C (Rocha et al., 2011) em aerobiose. Para essa linhagem não foi observado crescimento à 37°C (Tabela 2.2), inclusive em sacarose (Tabela 2.6) e lactose (Tabela 2.8) nas mesmas condições de cultivo, indicando que essa temperatura não foi adequada para o crescimento dessa linhagem.

Kluyveromyces marxianus foi estudada por vários autores com substrato glicose (Tabela 2.2). Uma característica dessa espécie são as taxas de $Y_{X/S}$ mais elevadas, acima de 0,40 gMCS gS^{-1} (Apêndice 2), que indicam uma alta conversão de substrato à biomassa (Kiers et al., 1998; Bellaver et al., 2004). *K. marxianus* quando avaliada com 120 g L^{-1} de glicose apresentou menores μ_{max} , entre 0,09 e 0,13 h^{-1} (Le et al., 2013), quando comparada com estudos utilizando 10 e 20 g L^{-1} , mostrando μ_{max} acima de 0,36 h^{-1} .

Em cultivos com oxigênio limitado, *Pichia kudriavzevii* se destacou das demais leveduras, pois obteve valor de μ_{max} de 0,65 h^{-1} (Xiao et al., 2014), bastante superior ao das outras espécies avaliadas nessa condição (Tabela 2.2). *P. kudriavzevii* apresenta tempos de duplicação rápidos, sendo considerada tolerante a multi-estresse (Dhaliwal et al., 2011), além de possuir habilidade de fermentação (Kitagawa et al., 2010).

Candida shehatae CBS 2779 foi avaliada em aerobiose, oxigênio limitado e anaerobiose à 30°C e 40 g L^{-1} de glicose (Lighelm et al., 1988). Os resultados apresentados pelos autores indicam diminuição nos valores de μ_{max} , $Y_{X/S}$ e μ_S , além de aumento de $Y_{Eth/S}$ conforme ocorre a redução da concentração de oxigênio. Em aerobiose com valores de $\mu_{max} = 0,17 h^{-1}$, $Y_{X/S} = 0,21 gMCS gS^{-1}$, $\mu_S = 0,80 h^{-1}$ e $Y_{Eth/S} = 0,33 gEth gS^{-1}$. Oxigênio limitado, $\mu_{max} = 0,02 h^{-1}$, $Y_{X/S} = 0,06 gMCS gS^{-1}$, $\mu_S = 0,66 h^{-1}$ e $Y_{Eth/S} = 0,42 gEth gS^{-1}$. E anaerobiose com $\mu_{max} = 0,005 h^{-1}$, $Y_{X/S} = 0,01 gMCS gS^{-1}$, $\mu_S = 0,31 h^{-1}$ e $Y_{Eth/S} = 0,44 gEth gS^{-1}$ (Tabela 2.2). Isso é característico de cultivos em anaerobiose, no qual rendimentos de biomassa são menores do que em cultivos aeróbicos (Kiers et al., 1998).

As Tabelas 2.3 e 2.4 apresentam parâmetros cinéticos com substrato frutose. Os estudos em frutose são bem escassos na literatura. Nesse substrato destacou-se a linhagem *S. cerevisiae* PTCC24860 (Shafaghat et al., 2009), com $Y_{Eth/S}$ 0,81 gEth gS^{-1} (Tabela 2.3), essa linhagem também se destacou no substrato glicose $Y_{Eth/S}$ 0,66 gEth gS^{-1} (Tabela 2.1) e sacarose $Y_{Eth/S}$ 0,58 gEth gS^{-1} (Tabela 2.5). A maior formação de etanol com substrato frutose pode estar ligada as vias de transporte e entrada deste na via glicolítica (Berthels et al., 2004), isso porque há duas

maneiras de entrada de frutose nessa via. Na primeira, a frutose é fosforilada pela enzima frutoquinase, gerando frutose-1-fosfato que então é quebrada em duas gerando diidroxiacetona-fosfato e gliceraldeído. O gliceraldeído é fosforilado pela enzima triosequinase formando gliceraldeído-3-fosfato se encaixando desta forma na via glicolítica, gastando 2 ATP. A segunda maneira é quando a frutose, pela ação da hexoquinase, é fosforilada a frutose-6-fosfato, consumindo apenas 1 ATP (Van Maris et al., 2006).

K. marxianus 6556 foi cultivada em 10 g L⁻¹ de frutose (Fonseca et al., 2013) (Tabela 2.4). Como observado com glicose (Bellaver et al., 2004; Fonseca et al., 2007; Fonseca et al., 2013) (Tabela 2.2) e sacarose (Rocha et al., 2011; Fonseca et al., 2013) (Tabela 2.6), apresentou $Y_{X/S}$ mais elevado que aquele reportado para o gênero *Saccharomyces* (Apêndice 1).

Cultivos com substrato arabinose são apresentados na Tabelas 2.8 e 2.9. Valores de μ_{\max} de 0,002 a 0,03 h⁻¹ para a *S. cerevisiae* (TMB 3061, 3063, 3130 e 3400) com 50 g L⁻¹ de arabinose (Sanchez et al., 2010) (Tabela 2.8) indicam dificuldades dessa linhagem em se adaptar a esse substrato, mesmo com modificações genéticas, ao contrário de *K. marxianus* NIBGE Y-1 (Rajoka et al., 2003) que apresentaram melhor adaptação a esse substrato (20 g L⁻¹) com μ_{\max} 0,54 h⁻¹ e *Debaromyces hansenii* CL18 em 10 g L⁻¹ com μ_{\max} de 0,27 h⁻¹ (Nobre et al., 1999) (Tabela 2.9). *K. marxianus* e *D. hansenii* são linhagens capazes de fermentar arabinose naturalmente (Parajo et al., 1995; Rodrussamee et al., 2011).

Em lactose há escassos estudos com *S. cerevisiae* isso porque essa linhagem não possui enzimas que permitem a assimilação desse açúcar (Rodrussamee et al., 2011), e quando ocorre avaliação da mesma, é por meio de modificação genética, como em *S. cerevisiae* GRF167 (Ramakrishnan e Hartley, 1993), ao contrário de *K. marxianus* que são amplamente estudadas nesse substrato, já que essa levedura é considerada fermentadora de lactose (Rodrussamee et al., 2011). *K. marxianus* CBS 6556 e CBS 397 foram avaliadas em cultivos com 10 g L⁻¹, à 30 e 37°C (Rocha et al., 2011; Fonseca et al., 2013), essas linhagens cresceram e formaram biomassa nessas condições, porém *K. marxianus* CBS 712^T não foi capaz de se desenvolver nessas condições experimentais (Tabela 2.8) (Rocha et al., 2011).

K. marxianus FII 510700 foi estudada em lactose em concentrações de 10, 20, 40 e 60 g L⁻¹ (Lukondeh et al., 2005) e foi identificado menor formação de biomassa nos cultivos com 40 e 60 g L⁻¹, $Y_{X/S}$ 0,37 e 0,38 gMCS gS⁻¹, respectivamente, enquanto com 10 e 20 g L⁻¹, $Y_{X/S}$ 0,47 e 0,45 gMCS gS⁻¹ (Tabela 2.8).

Xilose é um carboidrato de grande interesse biotecnológico, devido estar presente em resíduos lignocelulósicos, como resíduos agrícolas e folhosos, que podem ser utilizados para fermentação, porém *S. cerevisiae* não é capaz de assimilar e fermentar esse substrato (Sanchez et al., 2010), mas há estratégias genéticas que permitam que essa linhagem utilize esse substrato. Linhagens modificadas de *S. cerevisiae* TMB 3400 em cultivos com xilose com 20 g L⁻¹ apresentaram crescimento com μ_{\max} de 0,26 h⁻¹ (Hahn-Hägerdal et al., 2005) e μ_{\max} de 0,12 h⁻¹ quando utilizados 50 g L⁻¹ (Sanchez et al., 2010). No entanto, outras linhagens de *S. cerevisiae* (TMB 3061, TMB 3063, TMB 3130) não apresentaram crescimento nesse substrato (Tabela 2.7).

Entre as linhagens que se destacaram nos cultivos com xilose estão *K. marxianus* NIBGE Y-1 (Rajoka et al., 2003), *D. hansenii* INETI CL18 (Nobre et al., 1999), *Pichia stipitis* CBS 7126 e *Pachysolen tannophilus* (Ligthelm et al., 1988) (Tabela 2.8).

Outra condição interessante de estudo é a combinação de açúcares, que são realizados para compreender os mecanismos de captação e de transporte de açúcares pelas leveduras (Orlowski e Barford, 1991; Nobre et al., 1999). As Tabelas 2.9 e 2.10 trazem estudo com combinação de açúcares.

S. cerevisiae IMS0003 e IMS0007 foram avaliadas em uma mistura de substratos glicose, arabinose e xilose, com o intuito de avaliar a conversão de todos os açúcares derivados de materiais lenhocelulósicos, em busca de processos industriais rentáveis, eficientes, completos e rápidos. *S. cerevisiae* IMS0003 apresentou μ_{\max} de 0,06 h⁻¹ e $Y_{\text{Eth/S}}$ de 0,44 gEth gS⁻¹, enquanto *S. cerevisiae* IMS0007 apresentou μ_{\max} de 0,05 h⁻¹ e $Y_{\text{Eth/S}}$ de 0,44 gEth gS⁻¹ (Wisselink et al., 2009).

Contreras et al. (2015) utilizaram estudos com combinação de açúcar para avaliar linhagens de leveduras não-*Saccharomyces* para produção de vinho. Além disso, cultivos com combinações de açúcar podem indicar se há preferência de substrato por leveduras, avaliando nível de repressão entre os substratos (Fonseca et al., 2013; Nascimento, 2016).

2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse contexto, os dados compilados da literatura mostram que os parâmetros cinéticos são uma boa ferramenta matemática, pois trazem respostas importantes acerca do comportamento de leveduras em função das condições de cultivos

As informações apresentadas demonstram que os parâmetros cinéticos são utilizados para diversos fins, a partir dos mesmos foi possível observar, por exemplo que *S. cerevisiae* apresenta um perfil diferente das demais leveduras, pois nessas há menor formação de biomassa e maior produção de etanol, enquanto que *K. marxianus* são linhagens com maiores taxas de $Y_{x/s}$.

Por fim, o entendimento dos parâmetros cinéticos se mostra bastante atraente em estudos com leveduras, pois indicam possíveis aplicações biotecnológicas para cada linhagem em diferentes condições cultivos.

Tabela 2.1. Parâmetros cinéticos das linhagens de *Saccharomyces* com substrato glicose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	Y _{X/S} (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	Y _{Eth/S} (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>S. cerevisiae</i> BB9	10	0,17±0,00	0,17±0,00	0,96±0,08	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Camargo, 2013
<i>S. cerevisiae</i> BG-1	20	0,29	0,12	2,41*	0,37	30	Aerobiose	Fisiologia de crescimento	Della-Bianca e Gombert, 2013
<i>S. cerevisiae</i> BG-1	20	0,27	0,11	2,45*	0,39	37			
<i>S. cerevisiae</i> BY4742	22	0,32±0,01	0,12±0,00	2,50*	0,33±0,01	30	Aerobiose	Metodologia para análise cinética	Velagapudi et al., 2006
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,51±0,00	0,24±0,00	2,80±0,05	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Camargo, 2013
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,44±0,00	0,17±0,00	2,64±0,00	0,34±0,00	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Nascimento, 2016
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,54±0,00	0,13±0,00	3,99±0,01	0,33±0,01	37			
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	20	0,36	0,15	2,40*	0,38	30			
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	20	0,39	0,14	2,78*	0,37	37	Aerobiose	Fisiologia de crescimento	Della-Bianca e Gombert, 2013
<i>S. cerevisiae</i> CBS 8066	40	0,38	0,04	9,04*	0,39	30	Aerobiose	Metabolismo em excesso de glicose	Cot et al., 2007
<i>S. cerevisiae</i> CCTCC M201022	85	0,09	0,22	0,42*	nd	15	Aerobiose	Utilização de diferentes açúcares	Wang et al., 2004
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	10	nd	0,11±0,00	nd	0,41±0,02	30	Aerobiose	Resposta no nível fisiológico para uma deleção da enzima hexoquinase 2	Kümmel et al., 2010
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	10	0,37	0,10	3,52*	nd	30	Aerobiose	Repressão da glicose no metabolismo	Gombert et al., 2001
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	20	0,44±0,01	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Efeitos fisiológicos da sobreprodução de piruvato descarboxilase	Van Hoek et al., 1998
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	20	0,37±0,01	0,13±0,01	nd	nd	30	Aerobiose	Efeitos da super expressão de HAP4	Van Maris et al., 2001
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	20	0,28±0,00	0,11±0,00	nd	nd	30	Aerobiose	Regulação do transporte de glicose	Jansen et al., 2005
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK133-7D	20	0,36	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Composição da parede celular	Aguilar-Uscanga e François, 2003
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	20	0,38±0,01	0,14±0,00	2,71*	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Bakker et al., 2000
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	20	0,35	0,11	3,18*	0,34	30	Aerobiose	Fisiologia de crescimento	Della-Bianca e Gombert, 2013
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	20	0,30	0,09	3,33*	0,34	37			
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	20	0,40±0,01	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Efeitos de mutação	Flikweert et al., 1999
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	20	0,40	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Genes estruturais que codificam NADH desidrogenase mitocondrial externa	Luttik et al., 1998
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	40	0,37	0,11	3,36*	0,07	30	Aerobiose	Resposta fenotípica em relação a perturbações genéticas	Raghevendran et al., 2004
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK152	20	0,38	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Genes estruturais que codificam NADH desidrogenase mitocondrial externa	Luttik et al., 1998
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK162	20	0,39	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK167-2B	20	0,37	nd	nd	nd	30			

Tabela 2.1. Parâmetros cinéticos das linhagens de *Saccharomyces* com substrato glicose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração) (continuação).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	Y _{X/S} (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	Y _{Eth/S} (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK2-1C (FMME-002)	60	0,29	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Produção de piruvato	Xu et al., 2012
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK2-1C (FMME-002 Δ THI2)	60	0,25	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK226-1D	20	0,37±0,01	0,15±0,00	2,46*	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Bakker et al., 2000
<i>S. cerevisiae</i> EBY.D149	10	0,46	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Enzima málica	Boles et al., 1998
<i>S. cerevisiae</i> Fleishmann	20	0,42	0,12	3,50*	0,35	30	Aerobiose	Fisiologia de crescimento	Della-Bianca e Gombert, 2013
<i>S. cerevisiae</i> Fleishmann	20	0,41	0,13	3,15*	0,40	37			
<i>S. cerevisiae</i> FY4	10	0,35±0,01	0,13±0,01	2,69*	nd	30	Aerobiose	Metabolismo em excesso de glicose	Christen e Sauer, 2011
<i>S. cerevisiae</i> GG392	20	0,43±0,01	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Efeitos fisiológicos da sobreprodução de piruvato descarboxilase	Van Hoek et al., 1998
<i>S. cerevisiae</i> GG393	20	0,39±0,01	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> H1022	30	0,44	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Adaptação no deslocamento de aerobiose para anaerobiose	Auling et al., 1984
<i>S. cerevisiae</i> JP-1	20	0,32	0,13	2,46*	0,35	30	Aerobiose	Fisiologia de crescimento	Della-Bianca e Gombert, 2013
<i>S. cerevisiae</i> JP-1	20	0,38	0,12	3,16*	0,41	37			
<i>S. cerevisiae</i> LYY0	10	0,31±0,03	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Transportadores de glicose	Ye et al., 1999
<i>S. cerevisiae</i> LYY4	10	0,32±0,03	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> LYY8	10	0,27±0,02	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> LYY16	10	0,11±0,01	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> MC996A	10	0,39±0,02	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> PE-2	20	0,34	0,12	2,83*	0,37	30	Aerobiose	Fisiologia de crescimento	Della-Bianca e Gombert, 2013
<i>S. cerevisiae</i> PE-2	20	0,34	0,11	3,09*	0,38	37			
<i>S. cerevisiae</i> PTCC 24860	35	0,45	0,04	10,46*	0,66	30	Aerobiose	Efeito de diferentes fontes de carbono na produção de etanol	Shafaghat et al., 2009
<i>S. cerevisiae</i> RE607B	10	0,30±0,03	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Transportadores de glicose	Ye et al., 1999
<i>S. cerevisiae</i> S288c	20	0,33	0,13	2,53*	0,38	30	Aerobiose	Fisiologia de crescimento	Della-Bianca e Gombert, 2013
<i>S. cerevisiae</i> S288c	20	0,32	0,08	4,00*	0,31	37			
<i>S. cerevisiae</i> T2-3C	10	0,20	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Atividade de piruvato-desidrogenase mitocondrial	Zeeman et al., 1998
<i>S. cerevisiae</i> T2-3D	10	0,45	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3001	20	0,42	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Influência da composição de meios de cultivos	Hahn-Hägerdal et al., 2005
<i>S. cerevisiae</i> TMB3001	5	0,44±0,01	0,14±0,01	3,14±0,05	nd	30	Aerobiose	Expressão de genes de xilose/Evolução	Sonderegger e Sauer, 2003
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3001C1	5	0,28	0,17	1,62±0,02	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> TMB3001C5	5	0,41	0,16	2,61±0,09	nd	30			

Tabela 2.1. Parâmetros cinéticos das linhagens de *Saccharomyces* com substrato glicose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração) (continuação).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	Y _{X/S} (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	Y _{Eth/S} (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3400	20	0,43	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Influência da composição de meios de cultivos	Hahn-Hägerdal et al., 2005
<i>S. cerevisiae</i> TN1	25	0,41	0,17	2,41*	0,45	30	Aerobiose	Estudos fisiológicos de cepas comprometidas na via de síntese do glicerol	Nissen et al., 2000
<i>S. cerevisiae</i> TN4	25	0,38	0,14	2,71*	0,46	30			
<i>S. cerevisiae</i> TN5	25	0,41	0,16	2,56*	0,46	30			
<i>S. cerevisiae</i> TN6	25	0,17	0,12	1,41*	0,50	30			
<i>S. cerevisiae</i> TN23	25	0,09	0,11	0,81*	0,36	30			
<i>S. cerevisiae</i> VL3c	50	0,50	nd	nd	nd	25	Aerobiose	Condições ótimas de crescimento	Serra et al., 2005
<i>S. cerevisiae</i> VL3c	50	0,53	nd	nd	nd	26,5			
<i>S. cerevisiae</i> VL3c	50	0,61	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> VL3c	50	0,68	nd	nd	nd	33,5			
<i>S. cerevisiae</i> VL3c	50	0,70	nd	nd	nd	35			
<i>S. cerevisiae</i> VL3c	50	0,68	nd	nd	nd	36			
<i>S. cerevisiae</i> VL3c	50	0,56	nd	nd	nd	38			
<i>S. cerevisiae</i> Y750	20	0,37	0,12	3,08*	0,40	30	Aerobiose	Produção de proteínas heterólogas	Møller et al., 2001
<i>S. cerevisiae</i> 248 UNSW 703100	10	0,45	0,16	2,80*	0,36	30	Aerobiose	Modelo Matemático para crescimento	Barford e Hall, 1981
<i>S. cerevisiae</i> 248 UNSW 703100	10	0,45	0,15	3,00*	nd	30	Aerobiose	Captação de glicose, frutose, uma mistura de glicose/frutose e sacarose	Orlowski e Barford, 1991
<i>S. exiguus</i> CLIB 179	10	0,28±0,04	0,18±0,02	1,55*	nd	30	Aerobiose	Metabolismo em excesso de glicose	Christen e Sauer, 2011
<i>S. kluyveri</i> Y708	20	0,47±0,01	0,29±0,01	1,62*	0,08±0,02	30	Aerobiose	Distribuição de fluxo	Møller et al., 2002
<i>S. kluyveri</i> Y749	20	0,35	0,27	1,29*	0,11	30	Aerobiose	Produção de proteínas heterólogas	Møller et al., 2001
<i>S. bayanus</i> var <i>uvarum</i> CLIB 251	10	0,22±0,04	0,13±0,03	1,69*	nd	30	Aerobiose	Metabolismo em excesso de glicose	Christen e Sauer, 2011
<i>S. bayanus</i> var. <i>uvarum</i> P3	50	0,27	nd	nd	nd	21,5	Aerobiose	Condições ótimas de crescimento	Serra et al., 2005
<i>S. bayanus</i> var. <i>uvarum</i> P3	50	0,33	nd	nd	nd	25			
<i>S. bayanus</i> var. <i>uvarum</i> P3	50	0,36	nd	nd	nd	28,5			
<i>S. bayanus</i> var. <i>uvarum</i> P3	50	0,48	nd	nd	nd	30			
<i>S. bayanus</i> var. <i>uvarum</i> P3	50	0,42	nd	nd	nd	31,5			
<i>S. bayanus</i> var. <i>uvarum</i> P3	50	0,39	nd	nd	nd	33			
<i>S. bayanus</i> var. <i>uvarum</i> P3	50	0,38	nd	nd	nd	35			
<i>S. cerevisiae</i> NRRL Y-132	40	0,32	0,07	4,57*	0,43	30	Oxigênio limitado	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988

Tabela 2.1. Parâmetros cinéticos das linhagens de *Saccharomyces* com substrato glicose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração) (continuação).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3001	20	0,32	nd	nd	nd	30	Oxigênio limitado	Influência da composição de meios de cultivos	Hahn-Hägerdal et al., 2005
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3400	20	0,36	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> BB9	10	0,10±0,00	0,08±0,00	0,80±0,05	0,39±0,02	30	Anaerobiose	Fisiologia de leveduras	Este trabalho**
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,35±0,03	0,11±0,00	3,06±0,20	0,38±0,00	30	Anaerobiose	Crescimento anaeróbio	Visser et al., 1990
<i>S. cerevisiae</i> CBS 1171	20	0,40	0,10	4,00*	nd	25	Anaerobiose	Crescimento anaeróbio	Visser et al., 1990
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	15	0,008±0,001	0,07±0,005	0,10±0,00	nd	5	Anaerobiose	Efeito da temperatura na taxa de crescimento anaeróbio	Zakhartsev et al., 2015
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	15	0,03±0,008	0,09±0,002	0,31±0,09	nd	10			
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	15	0,06±0,01	0,11±0,001	0,61±0,12	nd	15			
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	15	0,11±0,03	0,12±0,002	0,89±0,21	nd	18,5			

S: Substrato; μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_s : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; T: Temperatura; MCS: massa celular seca; Eth: Etanol; nd: não determinado; *S. cerevisiae*: *Saccharomyces cerevisiae*; *S. exiguus*: *Saccharomyces exiguus*; *S. kluyveri*: *Saccharomyces kluyveri*; *S. bayanus* var *uvarum*: *Saccharomyces bayanus* var *uvarum*. *Dados calculados pela fórmula: $\mu_s = \frac{\mu_{\max}}{Y_{X/S}}$. **Capítulo 4 deste trabalho.

Tabela 2.2. Parâmetros cinéticos das linhagens de não-*Saccharomyces* com substrato glicose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>C. glabrata</i> Recol 10	10	0,30±0,002	0,32±0,001	2,26±0,07	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Camargo, 2013
<i>C. glabrata</i> Recol 41	10	0,46±0,005	0,36±0,001	1,71±0,07	nd	30			
<i>C. glabrata</i> Recol 43	10	0,37±0,012	0,49±0,010	0,85±0,01	nd	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 12	10	0,40±0,005	0,28±0,003	1,35±0,06	nd	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 29	10	0,48±0,001	0,36±0,001	1,12±0,08	nd	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 37	10	0,52±0,002	0,41±0,007	1,71±0,19	nd	30			
<i>C. rugosa</i> IFO 0750	10	0,45±0,09	0,79±0,02	0,56*	nd	30	Aerobiose	Metabolismo em excesso de glicose	Christen e Sauer, 2011
<i>C. shehatae</i> CBS 2779	40	0,17	0,21	0,80*	0,33	30	Aerobiose	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988
<i>D. nepalensis</i> NCYC 3413	10	nd	nd	nd	0,11	30	Aerobiose	Metabolismo	Kumdam et al., 2013
<i>D. hansenii</i> INETI CL18	10	0,44±0,04	0,44±0,09	1,00*	nd	30	Aerobiose	Transporte de açúcares	Nobre et al., 1999
<i>K. lactis</i> CBS 2359	10	0,41	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Atividade de piruvato-desidrogenase mitocondrial	Zeeman et al., 1998
<i>K. lactis</i> CBS 2359	10	0,37	0,49	0,78	nd	30	Aerobiose	Polimorfismo genético e fisiológico	Rocha et al., 2011
<i>K. lactis</i> CBS 2359	10	nc	nc	nc	nd	37			
<i>K. lactis</i> GG 1990	10	0,39	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Atividade de piruvato-desidrogenase mitocondrial	Zeeman et al., 1998
<i>K. lactis</i> GG 1993 pRW	10	0,12	nd	nd	nd	30			
<i>K. lactis</i> PDA	10	0,38	nd	nd	nd	30			
<i>K. marxianus</i>	120	0,13±0,002	nd	nd	0,39±0,01	30	Aerobiose	Efeitos da alta temperatura	Le et al., 2013
<i>K. marxianus</i>	120	0,13±0,002	nd	nd	0,39±0,01	35			
<i>K. marxianus</i>	120	0,13±0,006	nd	nd	0,39±0,01	40			
<i>K. marxianus</i>	120	0,09±0,003	nd	nd	0,48±0,02	45			
<i>K. marxianus</i> NIBGE Y-1	20	0,59	nd	nd	nd	35	Aerobiose	Regulação da produção de β -galactosidase	Rajoka et al., 2003
<i>K. marxianus</i> CBS 397	10	0,55	0,42	1,28	nd	30	Aerobiose	Polimorfismo genético e fisiológico	Rocha et al., 2011
<i>K. marxianus</i> CBS 397	10	0,52	0,41	1,53	nd	37			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,56±0,02	0,51±0,02	1,09±0,005	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de levedura	Fonseca et al., 2007
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,49±0,005	0,545±0,005	0,90±0,001	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de levedura	Fonseca et al., 2013
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,45	0,53	0,85	nd	37			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	20	0,49	0,53	0,92	nd	30			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,44±0,03	0,49±0,02	0,90	nd	30	Aerobiose	Fisiologia em excesso de açúcar	Bellaver et al., 2004
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,59	0,44	1,34	nd	30	Aerobiose	Polimorfismo genético e fisiológico	Rocha et al., 2011
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,66	0,45	1,43	nd	37			

Tabela 2.2. Parâmetros cinéticos das linhagens de não-*Saccharomyces* com substrato glicose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração) (continuação).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	20	0,69	nd	nd	nd	33	Aerobiose	Produção de inulinase em diferentes temperaturas	Rouwenhorst et al., 1988
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	20	0,86	nd	nd	nd	40			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	20	0,83	nd	nd	nd	42			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	20	0,53	nd	nd	nd	45			
<i>K. marxianus</i> CBS 712 ^T	10	0,31	0,45	0,75	nd	30	Aerobiose	Polimorfismo genético e fisiológico	Rocha et al., 2011
<i>K. marxianus</i> CBS 712 ^T	10	0,47	0,58	0,85	nd	37	Aerobiose	Efeito da temperatura na produção de endo-poligalacturonase	Cruz-Guerrero et al., 1999
<i>K. marxianus</i> CDBB-L-278	20	0,46	nd	nd	nd	30			
<i>K. marxianus</i> CDBB-L-278	20	0,55	nd	nd	nd	35			
<i>K. marxianus</i> CDBB-L-278	20	0,42	nd	nd	nd	40			
<i>K. marxianus</i> CDBB-L-278	20	0,36	nd	nd	nd	45	Aerobiose	Metabolismo em excesso de glicose	Christen e Sauer, 2011
<i>K. thermotolerans</i> CLIB 292	10	0,30±0,05	0,27±0,04	1,11*	nd	30			
<i>M. guilliermondii</i> CCT7783	20	0,07	0,08	0,875*	nd	30	Aerobiose	Crescimento e fermentação de pentoses	Martini et al., 2016
<i>M. guilliermondii</i> Recol 9	10	0,44±0,002	0,51±0,00	1,12±0,02	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Camargo, 2013
<i>P. tannophilus</i> NRRL Y-2460	40	0,31	0,14	2,21*	0,31	30	Aerobiose	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988
<i>P. angusta</i> CLIB 421	10	0,42±0,05	0,52±0,08	0,80*	nd	30	Aerobiose	Metabolismo em excesso de glicose	Christen e Sauer, 2011
<i>P. anomala</i> NRRL-Y-366-8	20	0,22±0,02	0,59±0,13	0,37*	0,03±0,004	25	Aerobiose	Metabolismo central de carbono e sua regulação	Fredlund et al., 2004
<i>P. kudriavzevii</i> BB1	10	0,57±0,001	0,19±0,026	5,94±0,21	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Camargo, 2013
<i>P. kudriavzevii</i> BB2	10	0,56±0,001	0,41±0,003	3,29±0,13	nd	30			
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 39	10	0,44±0,004	0,40±0,003	1,73±0,05	nd	30			
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 44	10	0,34±0,008	0,28±0,005	1,05±0,07	nd	30			
<i>P. stipitis</i> CBS 7126	40	0,27	0,23	1,17*	0,26	30	Aerobiose	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988
<i>R. mucilaginosa</i> ATCC 26423	10	0,19±0,003	nd	nd	nd	25	Aerobiose	Crescimento em ferro limitado	Andersen et al., 2003
<i>R. mucilaginosa</i> Recol 3	10	0,28±0,001	0,24±0,009	1,98±0,05	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Camargo, 2013
<i>Y. lipolytica</i> H222	10	0,46±0,03	0,51±0,02	0,90*	nd	30	Aerobiose	Metabolismo em excesso de glicose	Christen e Sauer, 2011
<i>Y. lipolytica</i> A-101	150	0,19	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Produção de ácido cítrico	Rywińska et al., 2010
<i>Y. lipolytica</i> Wratislavia 1.31	150	0,23	nd	nd	nd	30			
<i>Y. lipolytica</i> Wratislavia AWG7	150	0,36	nd	nd	nd	30			
<i>Y. lipolytica</i> Wratislavia K1	150	0,23	nd	nd	nd	30			

Tabela 2.2. Parâmetros cinéticos das linhagens de não-*Saccharomyces* com substrato glicose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração) (continuação).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	μ_S (h ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>C. shehatae</i> CBS 2779	40	0,02	0,03	0,66*	0,42	30	Oxigênio limitado	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988
<i>P. tannophilus</i> NRRL Y-2460	40	0,05	0,06	0,83*	0,43	30			
<i>P. kudriavzevii</i> (<i>I. orientalis</i> ATCC 24210)	50	0,65±0,02	nd	nd	nd	30	Oxigênio limitado	Caracterização bioquímica	Xiao et al., 2014
<i>P. kudriavzevii</i> (<i>I. orientalis</i> SD108)	50	0,65±0,01	nd	nd	nd	30			
<i>P. stipitis</i> CBS 7126	40	0,2	0,14	1,42*	0,07	30	Oxigênio limitado	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988
<i>R. mucilaginosa</i> PTD3	30	nd	nd	nd	0,5	30	Oxigênio limitado	Utilização de açúcares na produção de xilitol e etanol	Bura et al., 2012
<i>C. utilis</i> CBS 621	20	0,01	0,03	0,33*	nd	25	Anaerobiose	Crescimento anaeróbio	Visser et al., 1990
<i>C. glabrata</i> Recol 10	10	0,14±0,04	0,12±0,00	1,22±0,29	0,37±0,01	30	Anaerobiose	Fisiologia de leveduras	Este trabalho**
<i>C. glabrata</i> Recol 41	10	0,20±0,01	0,12±0,00	1,61±0,04	0,38±0,00	30			
<i>C. glabrata</i> Recol 43	10	0,22±0,02	0,13±0,00	1,69±0,23	0,38±0,01	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 12	10	0,09±0,01	0,09±0,00	0,93±0,12	0,28±0,12	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 29	10	0,16±0,00	0,12±0,00	1,40±0,05	0,39±0,02	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 37	10	0,02±0,00	0,06±0,00	0,35±0,04	0,27±0,02	30			
<i>C. shehatae</i> CBS 2779	40	0,005	0,01	0,31*	0,44	30	Anaerobiose	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988
<i>C. tropicalis</i> CBS 94	20	0,05	0,07	0,71*	nd	25	Anaerobiose	Crescimento anaeróbio	Visser et al., 1990
<i>M. guilliermondii</i> Recol 9	10	0,02±0,00	0,06±0,00	0,34±0,02	0,37±0,00	30	Anaerobiose	Fisiologia de leveduras	Este trabalho**
<i>P. tannophilus</i> NRRL Y-2460	40	0,03	0,04	0,75*	0,42	30	Anaerobiose	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988
<i>P. kudriavzevii</i> BB1	10	0,10±0,00	0,10±0,00	1,16±0,07	0,36±0,00	30	Anaerobiose	Fisiologia de leveduras	Este trabalho**
<i>P. kudriavzevii</i> BB2	10	0,18±0,00	0,11±0,01	1,65±0,18	0,31±0,00	30			
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 39	10	0,13±0,02	0,07±0,00	1,69±0,29	0,37±0,01	30			
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 44	10	0,18±0,02	0,11±0,00	1,64±0,12	0,35±0,02	30			
<i>P. stipitis</i> CBS 7126	40	0,07	0,10	0,70*	0,33	30	Anaerobiose	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988
<i>T. delbrueckii</i> CBS 1146	20	0,03	0,06	0,50*	nd	25	Anaerobiose	Crescimento anaeróbio	Visser et al., 1990

S: Substrato; μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_S : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; T: Temperatura; MCS: massa celular seca; Eth: Etanol; nd: não determinado; nc: não apresentou crescimento; *C. glabrata*: *Candida glabrata*; *C. parapsilosis*: *Candida parapsilosis*; *C. rugosa*: *Candida rugosa*; *C. shehatae*: *Candida shehatae*; *C. utilis*: *Candida utilis*; *C. tropicalis*: *Candida tropicalis*; *D. nepalensis*: *Debaryomyces nepalensis*; *D. hansenii*: *Debaryomyces hansenii*; *I. orientalis*: *Issatchenkia orientalis*; *K. marxianus*: *Kluyveromyces marxianus*; *K. lactis*: *Kluyveromyces lactis*; *K. thermotolerans*: *Kluyveromyces thermotolerans*; *M. guilliermondii*: *Meyerozyma guilliermondii*; *P. tannophilus*: *Pachysolen tannophilus*; *P. angusta*: *Pichia angusta*; *P. anomala*: *Pichia anomala*; *P. kudriavzevii*: *Pichia kudriavzevii*; *P. stipitis*: *Pichia stipitis*; *R. mucilaginosa*: *Rhodotorula mucilaginosa*; *T. delbrueckii*: *Torulaspora delbrueckii*; *Y. lipolytica*: *Yarrowia lipolytica*. *Dados calculados pela fórmula: $\mu_S = \frac{\mu_{\max}}{Y_{X/S}}$; **Capítulo 4 deste trabalho.

Tabela 2.3. Parâmetros cinéticos das linhagens de *Saccharomyces* com substrato frutose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	μ_S (h ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>S. cerevisiae</i> BB9	10	0,47±0,02	0,15±0,000	3,01±0,34	0,41±0,03	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Este trabalho***
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,45±0,00	0,15±0,000	3,02±0,03	0,33±0,00	30			
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,44±0,001	0,17±0,001	2,60±0,01	0,41±0,006	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Nascimento, 2016
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,48±0,012	0,15±0,001	3,11±0,05	0,40±0,004	37			
<i>S. cerevisiae</i> CCTCC M201022	91,1	0,08	0,192	0,41*	nd	15	Aerobiose	Utilização de diferentes açúcares	Wang et al., 2004
<i>S. cerevisiae</i> PTCC 24860	35	0,42	0,04	10,00*	0,81	30	Aerobiose	Efeito de diferentes fontes de carbono na produção de etanol	Shafaghat et al., 2009
<i>S. cerevisiae</i> 248 UNSW 703100	10	0,43	0,17	2,52*	nd	30	Aerobiose	Captação de glicose, frutose, uma mistura de glicose/frutose e sacarose	Orlowski e Barford, 1991
<i>S. cerevisiae</i> BB9	10	0,10±0,00	0,08±0,00	1,24±0,07	0,40±0,01	30	Anaerobiose	Fisiologia de leveduras	Este trabalho**
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,25±0,02	0,11±0,00	2,24±0,20	0,40±0,00	30			

S: Substrato; μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_S : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; T: Temperatura; MCS: massa celular seca; Eth: Etanol; nd: não determinado; *S. cerevisiae*: *Saccharomyces cerevisiae*. *Dados calculados pela fórmula: $\mu_S = \frac{\mu_{\max}}{Y_{X/S}}$. **Capítulo 4 deste trabalho; ***Capítulo 3 deste trabalho.

Tabela 2.4. Parâmetros cinéticos das linhagens de não *Saccharomyces* com substrato frutose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>C. glabrata</i> Recol 10	10	0,36±0,00	0,18±0,00	1,97±0,02	0,44±0,02	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Este trabalho***
<i>C. glabrata</i> Recol 41	10	0,40±0,00	0,14±0,06	2,52±0,60	0,32±0,02	30			
<i>C. glabrata</i> Recol 43	10	0,31±0,00	0,19±0,01	1,65±0,05	0,34±0,05	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 12	10	0,32±0,00	0,22±0,01	1,44±0,04	0,22±0,02	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 29	10	0,44±0,00	0,30±0,01	1,45±0,08	0,22±0,02	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 37	10	0,37±0,01	0,20±0,02	1,85±0,28	0,17±0,06	30			
<i>D. nepalensis</i> NCYC 3413	10	nd	nd	nd	0,12	30	Aerobiose	Metabolismo	Kundam et al., 2013
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,42	0,49	0,86	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de levedura	Fonseca et al., 2013
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,41	0,47	0,87	nd	37			
<i>M. guilliermondii</i> Recol 9	10	0,34±0,01	0,22±0,01	1,51±0,13	0,26±0,02	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Este trabalho***
<i>P. kudriavzevii</i> BB1	10	0,48±0,01	0,19±0,01	2,47±0,02	0,27±0,00	30			
<i>P. kudriavzevii</i> BB2	10	0,49±0,00	0,20±0,00	2,43±0,00	0,33±0,00	30			
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 39	10	0,37±0,01	0,20±0,01	1,89±0,17	0,27±0,08	30			
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 44	10	0,31±0,01	0,20±0,01	1,54±0,00	0,12±0,03	30			
<i>R. mucilaginosa</i> ATCC 26423	10	0,20±0,008	nd	nd	nd	25	Aerobiose	Crescimento em ferro limitado	Andersen et al., 2003
<i>R. mucilaginosa</i> Recol 3	10	0,24±0,01	0,28±0,05	0,87±0,10	0,00±0,00	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Este trabalho***
<i>C. glabrata</i> Recol 10	10	0,20±0,01	0,10±0,00	1,97±0,07	0,40±0,00	30	Anaerobiose	Fisiologia de leveduras	Este trabalho**
<i>C. glabrata</i> Recol 41	10	0,20±0,00	0,13±0,00	1,24±0,01	0,40±0,01	30			
<i>C. glabrata</i> Recol 43	10	0,22±0,00	0,14±0,0	1,56±0,13	0,41±0,00	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 12	10	0,12±0,00	0,13±0,00	0,92±0,13	0,29±0,10	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 29	10	0,19±0,01	0,14±0,00	1,30±0,09	0,37±0,02	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 37	10	0,04±0,00	0,06±0,00	0,70±0,17	0,40±0,05	30			
<i>M. guilliermondii</i> Recol 9	10	0,02±0,00	0,10±0,00	0,24±0,00	0,38±0,02	30			
<i>P. kudriavzevii</i> BB1	10	0,10±0,00	0,08±0,00	1,25±0,03	0,39±0,00	30			
<i>P. kudriavzevii</i> BB2	10	0,07±0,00	0,11±0,00	0,62±0,07	0,39±0,01	30			
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 39	10	0,09±0,01	0,07±0,00	1,18±0,01	0,43±0,00	30			
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 44	10	0,18±0,00	0,10±0,01	1,85±0,07	0,32±0,02	30			

S: Substrato; μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_s : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; T: Temperatura; MCS: massa celular seca; Eth: Etanol; nd: não determinado; *C. glabrata*: *Candida glabrata*; *C. parapsilosis*: *Candida parapsilosis*; *D. nepalensis*: *Debaryomyces nepalensis*; *K. marxianus*: *Kluyveromyces marxianus*; *M. guilliermondii*: *Meyerozyma guilliermondii*; *P. kudriavzevii*: *Pichia kudriavzevii*; *R. mucilaginosa*: *Rhodotorula mucilaginosa*. **Capítulo 4 deste trabalho; ***Capítulo 3 deste trabalho.

Tabela 2.5. Parâmetros cinéticos das linhagens de *Saccharomyces* com substrato sacarose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{max} (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	μ_S (h ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,45±0,003	0,16±0,007	2,86±0,14	0,40±0,03	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Nascimento, 2016
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,50±0,000	0,19±0,008	2,69±0,11	0,40±0,01	37			
<i>S. cerevisiae</i> CCTCC M201022	96,6	0,08	0,20	0,40*	nd	15	Aerobiose	Utilização de diferentes açúcares	Wang et al., 2004
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK133-7D	20	0,39	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Composição da parede celular	Aguilar-Uscanga e François 2003
<i>S. cerevisiae</i> PTCC 24860	35	0,39	0,04	9,75*	0,58	30	Aerobiose	Efeito de diferentes fontes de carbono na produção de etanol	Shafaghat et al., 2009
<i>S. cerevisiae</i> 248 UNSW 703100	10	0,54	0,17	3,17*	0,34	30	Aerobiose	Modelo Matemático para crescimento	Barford e Hall, 1981
<i>S. cerevisiae</i> 248 UNSW 703100	10	0,55	0,16	3,43*	nd	30	Aerobiose	Captção de glicose, frutose, uma mistura de glicose/frutose e sacarose	Orlowski e Barford, 1991
<i>S. cerevisiae</i> BB9	10	0,14±0,00	0,11±0,01	1,29±0,11	0,41±0,02	30	Anaerobiose	Fisiologia de leveduras	Este trabalho**
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,32±0,01	0,15±0,00	2,08±0,15	0,43±0,02	30			

S: Substrato; μ_{max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_S : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; T: Temperatura; MCS: massa celular seca; Eth: Etanol; nd: não determinado; *S. cerevisiae*: *Saccharomyces cerevisiae*. *Dados calculados pela fórmula: $\mu_S = \frac{\mu_{max}}{Y_{X/S}}$ **Capítulo 4 deste trabalho.

Tabela 2.6. Parâmetros cinéticos das linhagens de não *Saccharomyces* com substrato sacarose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	Y _{X/S} (gMCS gS ⁻¹)	μ_S (h ⁻¹)	Y _{Eth/S} (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>D. nepalensis</i> NCYC 3413	10	nd	nd	nd	0,12	30	Aerobiose	Metabolismo	Kumdam et al., 2013
<i>K. lactis</i> CBS 2359	10	0,40	0,52	0,76*	nd	30	Aerobiose	Polimorfismo genético e fisiológico	Rocha et al., 2011
<i>K. lactis</i> CBS 2359	10	nc	nc	nc	nd	37			
<i>K. marxianus</i> CBS 397	10	0,52	0,39	1,33*	nd	30			
<i>K. marxianus</i> CBS 397	10	0,67	0,47	1,42*	nd	37			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,43	0,63	0,68	nd	30			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,42	0,56	0,75	nd	37	Aerobiose	Fisiologia de levedura	Fonseca et al., 2013
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,58	0,39	1,48*	nd	30	Aerobiose	Polimorfismo genético e fisiológico	Rocha et al., 2011
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,70	0,49	1,42*	nd	37			
<i>K. marxianus</i> CBS 712 ^T	10	0,33	0,45	0,73*	nd	30			
<i>K. marxianus</i> CBS 712 ^T	10	0,45	0,59	0,76*	nd	37	Aerobiose	Regulação da produção de β -galactosidase	Rajoka et al., 2003
<i>K. marxianus</i> NIBGE Y-1	20	0,37	nd	nd	nd	35	Aerobiose	Crescimento em ferro limitado	Andersen et al., 2003
<i>R. mucilaginosa</i> ATCC 26423	10	0,15±0,004	nd	nd	nd	25	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Este trabalho**
<i>C. glabrata</i> Recol 10	10	0,07±0,00	0,10±0,00	0,75±0,00	0±0	30	Anaerobiose		
<i>C. parapsilosis</i> Recol 12	10	0,02±0,00	0,12±0,00	0,22±0,01	0,38±0,05	30			
<i>C. glabrata</i> Recol 43	10	0,04±0,00	0,04±0,00	0,98±0,19	0,01±0,00	30			
<i>C. glabrata</i> Recol 41	10	0,005±0,00	0,03±0,00	0,16±0,01	0,22±0,00	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 29	10	0,01±0,00	0,04±0,00	0,26±0,01	0,27±0,02	30			
<i>C. parapsilosis</i> Recol 37	10	0,004±0,00	0±0	0,73±0,06	0±0	30			
<i>M. guilliermondii</i> Recol 9	10	0,01±0,00	0,09±0,00	0,15±0,00	0,53±0,02	30			
<i>P. kudriavzevii</i> BB1	10	0,02±0,00	0,11±0,00	0,24±0,02	0,26±0,02	30			
<i>P. kudriavzevii</i> BB2	10	0,007±0,00	0,05±0,01	0,15±0,05	0,06±0,03	30			
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 39	10	0,15±0,00	0,09±0,00	1,58±0,03	0,35±0,00	30			
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 44	10	0,01±0,00	0,09±0,00	0,12±0,01	0,01±0,00	30			

S: Substrato; μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_S : velocidade específica de consumo de substrato; Y_{X/S}: fator de conversão de substrato a célula; Y_{Eth/S}: fator de conversão de substrato em etanol; T: Temperatura; MCS: massa celular seca; Eth: Etanol; nd: não determinado; nc: não apresentou crescimento; *C. glabrata*: *Candida glabrata*; *C. parapsilosis*: *Candida parapsilosis*; *D. nepalensis*: *Debaryomyces nepalensis*; *K. lactis*: *Kluyveromyces lactis*; *K. marxianus*: *Kluyveromyces marxianus*; *M. guilliermondii*: *Meyerozyma guilliermondii*; *P. kudriavzevii*: *Pichia kudriavzevii*; *R. mucilaginosa*: *Rhodotorula mucilaginosa*. *Dados calculados pela fórmula: $\mu_S = \frac{\mu_{\max}}{Y_{X/S}}$. **Capítulo 4 deste trabalho.

Tabela 2.7. Parâmetros cinéticos das linhagens de *Saccharomyces* com substrato arabinose, galactose, lactose, maltose, manose e xilose, em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{max} (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
ARABINOSE									
<i>S. cerevisiae</i> TMB3061	50	0,01±0,00	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Engenharia evolutiva para fermentação	Sanchez et al., 2010
<i>S. cerevisiae</i> TMB3063	50	0,03±0,00	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> TMB3130	50	0,02±0,01	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> TMB3400	50	0,002±0,000	nd	nd	nd	30			
GALACTOSE									
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,28±0,00	0,20±0,00	1,36±0,01	0,34±0,00	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Nascimento, 2016
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,35±0,00	0,19±0,00	1,80±0,02	0,28±0,00	37	Aerobiose	Metodologia para análise cinética	Velagapudi et al., 2006
<i>S. cerevisiae</i> BY4742	22	0,22±0,01	0,19±0,01	1,15*	0,32±0,00	30	Aerobiose	Alvos para engenharia metabólica	Bro et al., 2005
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK133-7D	15	0,17±0,01	0,28±0,02	0,60*	nd	30	Aerobiose	Composição da parede celular	Aguilar-Uscanga e François 2003
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK133-7D	20	0,23	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Genes estruturais que codificam NADH desidrogenase mitocondrial externa	Luttik et al., 1998
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D	20	0,18	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK152	20	0,12	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK162	20	0,17	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK167-2B	20	0,37	nd	nd	nd	30			
LACTOSE									
<i>S. cerevisiae</i> GRF167	40	nd	0,21	nd	0,37	30	Aerobiose	Fermentação	Ramakrishnan e Hartley, 1993
MALTOSE									
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,38±0,01	0,14±0,00	2,63±0,01	0,39±0,01	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Nascimento, 2016
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	10	0,44±0,00	0,14±0,00	3,11±0,12	0,42±0,01	37			
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK133-7D	20	0,31	nd	nd	nd		Aerobiose	Composição da parede celular	Aguilar-Uscanga e François, 2003
MANOSE									
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK133-7D	20	0,33	nd	nd	nd		Aerobiose	Composição da parede celular	Aguilar-Uscanga e François, 2003

Tabela 2.7. Parâmetros cinéticos das linhagens de *Saccharomyces* com substrato arabinose, galactose, lactose, maltose, manose e xilose, em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração) (continuação).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	μ_S (h ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
XILOSE									
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3001	20	0,14	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Influência da composição de meios de cultivos	Hahn-Hägerdal et al., 2005
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3061	50	0,01±0,00	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Engenharia evolutiva para fermentação	Sanchez et al., 2010
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3063	50	0,02±0,00	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3130	50	0,05±0,003	nd	nd	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3400	20	0,26	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Influência da composição de meios de cultivos	Hahn-Hägerdal et al., 2005
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3400	50	0,12±0,01	nd	nd	nd	30	Aerobiose	Engenharia evolutiva para fermentação	Sanchez et al., 2010
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3001	20	0,006	nd	nd	nd	30	Oxigênio limitado	Influência da composição de meios de cultivos	Hahn-Hägerdal et al., 2005
<i>S. cerevisiae</i> TMB 3400	20	0,01	nd	nd	nd	30			

S: Substrato; μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_S : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; T: Temperatura; MCS: massa celular seca; Eth: Etanol; nd: não determinado; *S. cerevisiae*: *Saccharomyces cerevisiae*. *Dados calculados pela fórmula: $\mu_S = \frac{\mu_{\max}}{Y_{X/S}}$.

Tabela 2.8. Parâmetros cinéticos das linhagens de não-*Saccharomyces* com substrato arabinose, celobiose, galactose, lactose, maltose, rafinose e xilose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	Y _{X/S} (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	Y _{Eth/S} (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
ARABINOSE									
<i>D. hansenii</i> INETI CL18	10	0,27±0,02	0,45±0,06	0,60*	nd	30	Aerobiose	Transporte de açúcares	Nobre et al., 1999
<i>K. marxianus</i> NIBGE Y-1	20	0,54	nd	nd	nd	35	Aerobiose	Regulação da produção de β -galactosidase	Rajoka et al., 2003
<i>M. guilliermondii</i> CCT7783	20	0,07	0,13	0,53*	nd	30	Aerobiose	Crescimento e fermentação de pentoses	Martini et al., 2016
<i>R. mucilaginosa</i> PTD3	30	nd	nd	0,06	nd	30	Oxigênio limitado	Utilização de açúcares na produção de xilitol e etanol	Bura et al., 2012
CELOBIOSE									
<i>K. marxianus</i> NIBGE Y-1	20	0,49	nd	nd	nd	35	Aerobiose	Regulação da produção de β -galactosidase	Rajoka et al., 2003
GALACTOSE									
<i>D. hansenii</i> INETI CL18	10	0,36±0,02	0,43±0,004	0,83*	nd	30	Aerobiose	Transporte de açúcares	Nobre et al., 1999
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,41	0,49	0,84	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de levedura	Fonseca et al., 2013
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,31	0,47	0,66	nd	37			
<i>R. mucilaginosa</i> PTD3	30	nd	nd	0,18	0,4	30	Oxigênio limitado	Utilização de açúcares na produção de xilitol e etanol	Bura et al., 2012
LACTOSE									
<i>K. lactis</i> CBS 2359	10	0,37	0,30	1,16	nd	30	Aerobiose	Polimorfismo genético e fisiológico	Rocha et al., 2011
<i>K. lactis</i> CBS 2359	10	nc	nc	nc	nd	37			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,44	0,45	0,98	nd	30	Aerobiose	Fisiologia em excesso de açúcar	Bellaver et al., 2004
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,40	0,54	0,72	nd	30	Aerobiose	Polimorfismo genético e fisiológico	Rocha et al., 2011
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,63	0,53	1,19	nd	37			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,40	0,55	0,71	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de levedura	Fonseca et al., 2013
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	10	0,39	0,52	0,75	nd	37			
<i>K. marxianus</i> CBS 397	10	0,46	0,40	1,02	nd	30	Aerobiose	Polimorfismo genético e fisiológico	Rocha et al., 2011
<i>K. marxianus</i> CBS 397	10	0,59	0,40	1,55	nd	37			
<i>K. marxianus</i> CBS 712 ^T	10	nc	nc	nc	nd	30			
<i>K. marxianus</i> CBS 712 ^T	10	nc	nc	nc	nd	37			
<i>K. marxianus</i> FII 510700	10	0,37	0,47	0,40	nd	30	Aerobiose	Potencial produção de biomassa de <i>K. marxianus</i>	Lukondeh et al., 2005
<i>K. marxianus</i> FII 510700	20	0,35	0,45	0,35	nd	30			
<i>K. marxianus</i> FII 510700	40	0,37	0,37	0,37	nd	30			
<i>K. marxianus</i> FII 510700	60	0,36	0,38	0,36	nd	30			
<i>K. marxianus</i> NIBGE Y-1	20	0,36	nd	nd	nd	35	Aerobiose	Regulação da produção de β -galactosidase	Rajoka et al., 2003

Tabela 2.8. Parâmetros cinéticos das linhagens de não *Saccharomyces* com substrato arabinose, celobiose, galactose, lactose, maltose, rafinose e xilose em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração) (continuação).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	Y _{X/S} (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	Y _{Eth/S} (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
MANOSE									
<i>D. hansenii</i> INETI CL18	10	0,46±0,03	0,47±0,05	0,97*	nd	30	Aerobiose	Transporte de açúcares	Nobre et al., 1999
<i>R. mucilaginosa</i> PTD3	30	nd	nd	0,34	0,50	30	Oxigênio limitado	Utilização de açúcares na produção de xilitol e etanol	Bura et al., 2012
RAFINOSE									
<i>R. mucilaginosa</i> ATCC 26423	10	0,12±0,003	nd	nd	nd	25	Aerobiose	Crescimento em ferro limitado	Andersen et al., 2003
XILOSE									
<i>C. shehatae</i> CBS 2779	40	0,17	0,33	0,51*	0,22	30	Aerobiose	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988
<i>D. hansenii</i> INETI CL18	10	0,27±0,02	0,45±0,06	0,60*	nd	30	Aerobiose	Transporte de açúcares	Nobre et al., 1999
<i>K. marxianus</i> NIBGE Y-1	20	0,45	nd	nd	nd	35	Aerobiose	Regulação da produção de β -galactosidase	Rajoka et al., 2003
<i>M. guilliermondii</i> CCT7783	20	0,07	0,14	0,50*	nd	30	Aerobiose	Crescimento e fermentação de pentoses	Martini et al., 2016
<i>M. guilliermondii</i> CCT7783	50	0,04	0,15	0,26*	0,04	30			
<i>P. tannophilus</i> NRRL Y-2460	40	0,23	0,25	0,92*	0,10	30	Aerobiose	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988
<i>P. stipitis</i> CBS 7126	40	0,25	0,39	0,64*	0,18	30			
<i>R. mucilaginosa</i> ATCC 26423	10	0,06±0,001	nd	nd	nd	25	Aerobiose	Crescimento em ferro limitado	Andersen et al., 2003
<i>Candida shehatae</i> CBS 2779	40	0,02	0,01	2,00*	0,37	30	Oxigênio limitado	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988
<i>P. tannophilus</i> NRRL Y-2460	40	0,03	0,01	3,00*	0,28	30			
<i>P. stipitis</i> CBS 7126	40	0,08	0,05	1,60*	0,47	30			
<i>R. mucilaginosa</i> PTD3	30	nd	nd	0,20	nd	30	Oxigênio limitado	Utilização de açúcares na produção de xilitol e etanol	Bura et al., 2012
<i>C. shehatae</i> CBS 2779	40	0,003	0,01	0,30*	0,41	30	Anaerobiose	Efeito da aeração na fermentação de xilose	Ligthelm et al., 1988
<i>P. tannophilus</i> NRRL Y-2460	40	0,008	0,01	0,80*	0,26	30			
<i>P. stipitis</i> CBS 7126	40	0,003	0,03	0,10*	0,40	30			

S: Substrato; μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_s : velocidade específica de consumo de substrato; Y_{X/S}: fator de conversão de substrato a célula; Y_{Eth/S}: fator de conversão de substrato em etanol; T: Temperatura; MCS: massa celular seca; Eth: Etanol; nd: não determinado; nc: não apresentou crescimento; *C. shehatae*: *Candida shehatae*; *D. nepalensis*: *Debaryomyces nepalensis*; *K. lactis*: *Kluyveromyces lactis*; *K. marxianus*: *Kluyveromyces marxianus*; *M. guilliermondii*: *Meyerozyma guilliermondii*; *P. tannophilus*: *Pachysolen tannophilus*; *P. stipitis*: *Pichia stipitis*; *R. mucilaginosa*: *Rhodotorula mucilaginosa*. *Dados calculados pela fórmula: $\mu_s = \frac{\mu_{\max}}{Y_{X/S}}$.

Tabela 2.9. Parâmetros cinéticos das linhagens de *Saccharomyces* com combinação de substrato em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{max} (h ⁻¹)	Y _{X/S} (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	Y _{Eth/S} (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	FRU + GAL (5+5)	0,38±0,00	1,57±0,06	0,24±0,08	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de leveduras	Nascimento, 2016
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	FRU + GAL (5+5)	0,42±0,02	1,88±0,01	0,23±0,09	nd	37			
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	GLC + FRU (5 + 5)	0,36±0,02	1,49±0,18	0,24±0,03	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	GLC + FRU (5 + 5)	0,33±0,04	1,35±0,11	0,25±0,07	nd	37			
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	GLC + GAL (5 + 5)	0,39/0,16	0,11/0,30	3,49/0,43	nd	30			
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	GLC + GAL (5 + 5)	0,39/0,23	0,16/0,29	3,16/0,99	nd	37			
<i>S. cerevisiae</i> GRF167	GLC + GAL (20 + 20)	nd	0,13	nd	0,38	30	Aerobiose	Fermentação	Ramakrishnan e Hartley, 1993
<i>S. cerevisiae</i> 248 UNSW 703100	FRU + GLC (5 + 5)	0,45	0,15	nd	nd	30	Aerobiose	Captação de glicose, frutose, uma mistura de glicose/frutose e sacarose	Orlowski e Barford, 1991
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK 113-5D MEC1134	GLC + XYL (16,1 + 38,3)	nd	0,13	nd	0,26	30	Oxigênio limitado	Construção cepas eficientes para a fermentação de xilose	Romaní et al., 2015
<i>S. cerevisiae</i> PE-2 MEC1121	GLC + XYL (17,4 + 39,7)	nd	0,19	nd	0,32	30			
<i>S. cerevisiae</i> PE-2 MEC1133	GLC + XYL (17,6+39,7)	nd	0,15	nd	0,33	30			
<i>S. cerevisiae</i> CEN.PK113-7D (TMB 3001)	GLC + XYL (20 + 50)	0,27	0,04	6,75*	0,43	30	Anaerobiose	Fisiologia de cepas recombinantes	Roca et al., 2003
<i>S. cerevisiae</i> GRF167	GLC + GAL (20 + 20)	nd	0,09	nd	0,48	30	Anaerobiose	Fermentação	Ramakrishnan e Hartley, 1993
<i>S. cerevisiae</i> IMS0003	GLC + XYL + ARA (30 + 15 + 15)	nd	0,06±0,003	nd	0,44±0,01	30	Anaerobiose	Estratégias de seleção para otimização evolutiva da utilização de misturas de substrato	Wisselink et al., 2009
<i>S. cerevisiae</i> IMS0007	GLC + XYL + ARA (30 + 15 + 15)	nd	0,05±0,001	nd	0,44±0,00	30			

S: Substrato; μ_{max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_s : velocidade específica de consumo de substrato; Y_{X/S}: fator de conversão de substrato a célula; Y_{Eth/S}: fator de conversão de substrato em etanol; T: Temperatura; MCS: massa celular seca; Eth: Etanol; nd: não determinado; nc: não apresentou crescimento; ARA: Arabinose; FRU: Frutose; GAL: Galactose; GLC: Glicose; XYL: Xilose; *S. cerevisiae*: *Saccharomyces cerevisiae*. *Dados calculados pela fórmula: $\mu_s = \frac{\mu_{max}}{Y_{X/S}}$

Tabela 2.10. Parâmetros cinéticos das linhagens de não *Saccharomyces* com combinação de substrato em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{max} (h ⁻¹)	Y _{X/S} (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	Y _{Eth/S} (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>C. diversa</i> AWRI1165	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,10	nd	nd	22	Aerobiose	Avaliar isolados não- <i>Saccharomyces</i>	Contreras et al., 2015
<i>C. sake</i> AWRI1161	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,37	nd	nd	22			
<i>C. stellata</i> AWRI1159	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,29	nd	nd	22			
<i>C. mrakii</i> AWRI1045	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,25	nd	nd	22			
<i>C. saturnus</i> AWRI1046	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,33	nd	nd	22			
<i>D. hansenii</i> AWRI1157	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,35	nd	nd	22			
<i>D. anomala</i> AWRI1101	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,42	nd	nd	22			
<i>D. anomala</i> AWRI1128	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,45	nd	nd	22			
<i>D. bruxellensis</i> AWRI1103	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,47	nd	nd	22			
<i>D. bruxellensis</i> AWRI1127	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,21	nd	nd	22			
<i>D. bruxellensis</i> AWRI1499	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,35	nd	nd	22			
<i>H. uvarum</i> AWRI1425	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,50	nd	nd	22			
<i>H. uvarum</i> AWRI863	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,41	nd	nd	22			
<i>H. valbyensis</i> AWRI258	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,24	nd	nd	22			
<i>K. lactis</i> AWRI1181	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,36	nd	nd	22			
<i>K. marxianus</i> AWRI1005	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,44	nd	nd	22			
<i>K. marxianus</i> AWRI58	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,41	nd	nd	22			
<i>L. thermotolerans</i> AWRI861	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,40	nd	nd	22			

Tabela 2.10. Parâmetros cinéticos das linhagens de não *Saccharomyces* com combinação de substrato em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração) (continuação).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	Y _{X/S} (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	Y _{Eth/S} (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>M. pulcherrima</i> AWRI1149	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,36	nd	nd	22	Aerobiose	Avaliar isolados não- <i>Saccharomyces</i>	Contreras et al., 2015
<i>M. pulcherrima</i> AWRI1656	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,28	nd	nd	22			
<i>M. guilliermondii</i> AWRI1552	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,38	nd	nd	22			
<i>P. tannophilus</i> AWRI1094	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,40	nd	nd	22			
<i>P. fermentans</i> AWRI1199	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,04	nd	nd	22			
<i>P. holstii</i> AWRI1044	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,43	nd	nd	22			
<i>P. kluyveri</i> AWRI1821	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,36	nd	nd	22			
<i>P. kudriavzevii</i> AWRI1220	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,33	nd	nd	22			
<i>P. membranifaciens</i> AWRI1095	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,08	nd	nd	22			
<i>P. terricola</i> AWRI1124	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,19	nd	nd	22			
<i>R. glutinis</i> AWRI743	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,09	nd	nd	22			
<i>S. japonicus</i> AWRI1098	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,36	nd	nd	22			
<i>S. pombe</i> AWRI141	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,31	nd	nd	22			
<i>S. pombe</i> AWRI442	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,42	nd	nd	22			
<i>S. capriottii</i> AWRI1665	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,34	nd	nd	22			
<i>S. occidentalis</i> AWRI1032	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,50	nd	nd	22			
<i>S. roseus</i> AWRI69	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,12	nd	nd	22			
<i>T. delbrueckii</i> AWRI1152	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,30	nd	nd	22			

Tabela 2.10. Parâmetros cinéticos das linhagens de não *Saccharomyces* com combinação de substrato em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração) (continuação).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{max} (h ⁻¹)	Y _{X/S} (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	Y _{Eth/S} (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>T. pretoriensis</i> AWRI747	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,30	nd	nd	22	Aerobiose	Avaliar isolados não- <i>Saccharomyces</i>	Contreras et al., 2015
<i>T. cantarellii</i> AWRI1164	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,34	nd	nd	22			
<i>W. anomalus</i> AWRI1051	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,25	nd	nd	22			
<i>W. ciferrii</i> AWRI1043	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,34	nd	nd	22			
<i>W. subpelliculosus</i> AWRI1047	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,06	nd	nd	22			
<i>Y. mexicana</i> AWRI1006	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,08	nd	nd	22			
<i>Z. bailii</i> AWRI1578	GLC + FRU (75 + 75)	nd	0,31	nd	nd	22			
<i>D. hansenii</i> INETI CL18	GLC + XYL (5 + 5)	0,40±0,03	0,36±0,03	1,11*	nd	30	Aerobiose	Transporte de açúcares	Nobre et al. 1999
<i>D.hansenii</i> INETI CL18	GLC+ MAN (5 + 5)	0,40±0,02	0,32±0,06	1,26*	nd	30			
<i>D. hansenii</i> INETI CL18	XYL+ ARA (5 + 5)	0,33±0,02	0,46±0,05	0,71*	nd	30			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	GLC + LAC (10+10)	0,43/0,30	0,96/0,30	0,45/0,99	nd	30	Aerobiose	Fisiologia de levedura	Fonseca et al., 2013
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	GLC + GAL (10+10)	0,37/0,37	0,77/0,76	0,48/0,49	nd	30			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	LAC + GAL (10+10)	0,41	0,76	0,54 (0,63/0,45)	nd	30			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	GLC + FRU (10+10)	0,42	0,88	0,48 (0,37/0,56)	nd	30			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	GAL + FRU (10+10)	0,42	0,89	0,47 (0,47/0,47)	nd	30			
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	FRU + LAC (10+10)	0,37/0,37	0,77/0,76	0,48/0,49	nd	30			

Tabela 2.10. Parâmetros cinéticos das linhagens de não *Saccharomyces* com combinação de substrato em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração) (continuação).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{max} (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (15 + 4 + 1)	nd	0,16	nd	0,41	30	Microaerobiose	Efeito da concentração de substrato	Delgenes et al., 1988
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (37,5 + 10 + 2,5)	nd	0,12	nd	0,43	30			
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (60 + 16 + 4)	nd	0,06	nd	0,38	30			
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (82,5 + 22 + 5,5)	nd	0,05	nd	0,42	30			
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (112,5 + 30 + 7,5)	nd	0,04	nd	0,40	30			
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (150 + 40 + 10)	nd	0,05	nd	0,32	30			
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (262,5 + 70 + 17,5)	nd	0,10	nd	0,28	30	Anaerobiose		
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (15 + 4 + 1)	nd	0,06	nd	0,42	30			
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (37,5 + 10 + 2,5)	nd	0,03	nd	0,35	30			
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC, ARA + XYL (60 + 16 + 4)	nd	0,03	nd	0,32	30			
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (82,5 + 22 + 5,5)	nd	0,04	nd	0,34	30			

Tabela 2.10. Parâmetros cinéticos das linhagens de não *Saccharomyces* com combinação de substrato em diferentes concentrações e diferentes condições de cultivos (temperatura e aeração) (continuação).

Levedura	S (g L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	Y _{X/S} (gMCS gS ⁻¹)	μ_s (h ⁻¹)	Y _{Eth/S} (gEth gS ⁻¹)	T (°C)	Aeração	Objeto de estudo	Referência
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (112,5 + 30 + 7,5)	nd	0,04	nd	0,45	30	Anaerobiose	Efeito da concentração de substrato	Delgenes et al., 1988
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (150 + 40 + 10)	nd	0,04	nd	0,45	30			
<i>P. stipitis</i> Y 7124	GLC + ARA + XYL (262,5 + 70 + 17,5)	nd	0,00	nd	0,00	30			

S: Substrato; μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_s : velocidade específica de consumo de substrato; Y_{X/S}: fator de conversão de substrato a célula; Y_{Eth/S}: fator de conversão de substrato em etanol; T: Temperatura; MCS: massa celular seca; Eth: Etanol; nd: não determinado; ARA: Arabinose; FRU: Frutose; GLC: Glicose; GAL: Galactose; LAC: Lactose; XYL: Xilose; *C. diversa*: *Candida diversa*; *C. sake*: *Candida sake*; *C. stellata*: *Candida stellata*; *C. mrakii*: *Cyberlindnera mrakii*; *C. saturnus*: *Cyberlindnera saturnus*; *D. hanseni*: *Debaryomyces hanseni*; *D. anomala*: *Dekkera anomala*; *D. bruxellensis*: *Dekkera bruxellensis*; *H. uvarum*: *Hanseniaspora uvarum*; *H. valbyensis*: *Hanseniaspora valbyensis*; *K. marxianus*: *Kluyveromyces marxianus*; *K. lactis*: *Kluyveromyces lactis*; *L. thermotolerans*: *Lachancea thermotolerans*; *M. pulcherrima*: *Metschnikowia pulcherrima*; *M. guilliermondii*: *Meyerozyma guilliermondii*; *P. tannophilus*: *Pachysolen tannophilus*; *P. fermentans*: *Pichia fermentans*; *P. holstii*: *Pichia holstii*; *P. kluyveri*: *Pichia kluyveri*; *P. kudriavzevii*: *Pichia kudriavzevii*; *P. membranifaciens*: *Pichia membranifaciens*; *P. stipitis*: *Pichia stipitis*; *P. terricola*: *Pichia terricola*; *R. glutinis*: *Rhodotorula glutinis*; *S. japonicas*: *Schizosaccharomyces japonicus*; *S. pombe*: *Schizosaccharomyces pombe*; *S. capriottii*: *Schwanniomyces capriottii*; *S. occidentalis*: *Schwanniomyces occidentalis*; *S. roseus*: *Sporobolomyces roseus*; *T. delbrueckii*: *Torulaspora delbrueckii*; *T. pretoriensis*: *Torulaspora pretoriensis*; *T. cantarellii*: *Trigonopsis cantarellii*; *W. anomalus*: *Wickerhamomyces anomalus*; *W. cijferrii*: *Wickerhamomyces cijferrii*; *W. subpelliculosus*: *Wickerhamomyces subpelliculosus*; *Y. Mexicana*: *Yamadazyma Mexicana*; *Z. bailii*: *Zygosaccharomyces bailii*. *Dados calculados pela fórmula: $\mu_s = \frac{\mu_{\max}}{Y_{X/S}}$.

REFERÊNCIAS

- Aguilar-Uscanga, B., François, J.M., 2003. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. *Lett. Appl. Microbiol.* 37, 268–274.
- Andersen, D., Renshaw, J.C., Wiebe, M.G., 2003. Rhodotorulic acid production by *Rhodotorula mucilaginosa*. *Mycol. Res.* 107, 949–956.
- Auling, G., Bellgardt, K.H., Diekmann, H., Thoma, M., 1984. Dynamics of growth in batch and continuous cultures of *Saccharomyces cerevisiae* during shifts from aerobiosis to anaerobiosis and reverse. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 19, 353–357.
- Bakker, B.M., Bro, C., Kotter, P., Luttk, M.A.H., Van Dijken, J.P., Pronk, J.T., 2000. The mitochondrial alcohol dehydrogenase *Adh3p* is involved in a redox shuttle in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.* 182, 4730–4737.
- Barford, J.P., Hall, R.J., 1981. A mathematical model for the aerobic growth of *Saccharomyces cerevisiae* with a saturated respiratory capacity. *Biotechnol. Bioeng.* 23, 1735–1762.
- Bellaver, L.H., De-Carvalho, N.M.B., Abrahão-Neto, J., Gombert, A.K., 2004. Ethanol formation and enzyme activities around glucose-6-phosphate in *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556 exposed to glucose or lactose excess. *FEMS Yeast Res.* 4, 691–698.
- Berthels, N.J., Otero, R.R. C., Bauer, F.F., Thevelein, J.M., Pretorius, I.S., 2004. Discrepancy in glucose and fructose utilization during fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strains. *FEMS Yeast Res.* 4, 683–689.
- Boles, E., De Jong-Gubbels, P., Pronk, J.T., 1998. Identification and characterization of MAE1, the *Saccharomyces cerevisiae* structural gene encoding mitochondrial malic enzyme. *J. Bacteriol.* 180, 2875–2882.
- Bro, C., Knudsen, S., Regenber, B., Olsson, L., Nielsen, J., 2005. Improvement of galactose uptake in *Saccharomyces cerevisiae* through overexpression of phosphoglucosmutase: Example of transcript analysis as a tool in inverse metabolic engineering. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 6465–6472.
- Bura, R., Vajzovic, A., Doty, S.L., 2012. Novel endophytic yeast *Rhodotorula mucilaginosa* strain PTD3 I: production of xylitol and ethanol. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 39, 1003–1011.
- Camargo, J.Z., 2013 Estudo da fisiologia de diferentes leveduras industriais e isoladas na Região Centro-Oeste. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, Dourados.
- Christen, S., Sauer, U., 2011. Intracellular characterization of aerobic glucose metabolism in seven yeast species by ¹³C flux analysis and metabolomics. *FEMS Yeast Res.* 11, 263–272.

Contreras, A., Hidalgo, C., Schmidt, S., Henschke, P.A., Curtin, C., Varela, C., 2015. The application of non-*Saccharomyces* yeast in fermentations with limited aeration as a strategy for the production of wine with reduced alcohol content. *Int. J. Food Microbiol.* 205, 7–15.

Cot, M., Loret, M.O., François, J., Benbadis, L., 2007. Physiological behavior of *Saccharomyces cerevisiae* in aerated fed-batch fermentation for high level production of bioethanol. *FEMS Yeast Res.* 7, 22–32.

Cruz-Guerrero, A., Bárzana, E., García-Garibay, M., Gómez-Ruiz, L., 1999. Dissolved oxygen threshold for the repression of endo-polygalacturonase production by *Kluyveromyces marxianus*. *Process Biochem.* 34, 621–624.

Dalgaard, P., Koutsoumanis, K., 2001. Comparison of maximum specific growth rates and lag times estimated from absorbance and viable count data by different mathematical models. *J. Microbiol. Methods.* 43, 183–196.

Delgenes, J.P., Moletta, R.; Navarro, J.M., 1998. Fermentation of D-xylose, D-glucose and L-arabinose mixture by *Pichia stipitis* Y7124: sugar tolerance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 29, 155-161.

Della-Bianca, B.E., Gombert, A.K., 2013. Stress tolerance and growth physiology of yeast strains from the Brazilian fuel ethanol industry. *Anton. Leeuw.* 104, 1083-1095.

Dhaliwal, S.S., Oberoi, H.S., Sandhu, S.K., Nanda, D., Kumar, D., Uppal, S.K., 2011. Enhanced ethanol production from sugarcane juice by galactose adaptation of a newly isolated thermotolerant strain of *Pichia kudriavzevii*. *Bioresour. Technol.* 102, 5968–5975.

Erasmus, D.J., Van Der Merwe, G.K., Van Vuuren, H.J.J., 2003. Genome-wide expression analyses: Metabolic adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* to high sugar stress. *FEMS Yeast Res.* 3, 375-399.

Esener, A.A., Roels, A., Kossen, N.W.F., Roozenburg, J.W.H., 1981. Description of microbial growth behaviour during the wash-out phase; determination of the maximum specific growth rate. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 13, 141-144.

Flikweert, M.T., Kuyper, M., Van Maris, A.J.A., Kotter, P., Van Dijken, J.P., Pronk, J.T., 1999. Steady-state and transient-state analysis of growth and metabolite production in a *Saccharomyces cerevisiae* strain with reduced pyruvate-decarboxylase activity. *Biotechnol. Bioeng.* 66, 42–50.

Fonseca, G.G., De Carvalho, N.M., Gombert, A.K., 2013. Growth of the yeast *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556 on different sugar combinations as sole carbon and energy source. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 5055-5067.

Fonseca, G.G., Gombert, A.K., Heinzle, E., Wittmann, C., 2007. Physiology of the yeast *Kluyveromyces marxianus* during batch and chemostat cultures with glucose as the sole carbon source. *FEMS Yeast Res.* 7, 422-435.

Fredlund, E., Blank, L.M., Schnurer, J., Sauer, U., Passoth, V., 2004. Oxygen- and glucose-dependent regulation of central carbon metabolism in *Pichia anomala*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 5905–5911.

Gaden Júnior, E.L., 1959. Fermentation process kinetics. *J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng.* 1, 413-429.

Gombert, A.K., Dos Santos, M.M., Christensen, B., Nielsen, J., 2001. Network identification and flux quantification in the central metabolism of *Saccharomyces cerevisiae* under different conditions of glucose repression. *J. Bacteriol.* 183, 1441–1451.

Grady Júnior, C.P.L., Smets, B.F., Barbeau, D.S., 1996. Variability in kinetic parameter estimates: a review of possible causes and a proposed terminology. *Wat. Res.* 30, 742-748.

Hahn-Hägerdal, B., Karhumaa, K., Larsson, C.U., Gorwa-Grauslund, M., Görgens, J., Van Zyl, W.H., 2005. Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use. *Microb. Cell Fact.* 4, 1-16.

Hiss, H., 2001. Cinética de processos fermentativos. In: Schmidell, W., Lima, U. De A., Aquarone, E., Borzani, W. *Biotechnologia – Engenharia Bioquímica*. Edgar Blücher, São Paulo, pp. 93-122.

Jansen, M.L.A., Diderich, J.A., Mashego, M., Hassane, A., De Winde, J.H., Daran-Lapujade, P., Pronk, J.T., 2005. Prolonged selection in aerobic, glucose-limited chemostat cultures of *Saccharomyces cerevisiae* causes a partial loss of glycolytic capacity. *Microbiology* 151, 1657–1669.

Kiers, J., Zeeman, A.M., Luttk, M., Thiele, C., Castrillo, J.I., Steensma, H.Y., Van Dijken, J.P., Pronk, J.T., 1998. Regulation of alcoholic fermentation in batch and chemostat cultures of *Kluyveromyces lactis* CBS 2359. *Yeast* 14, 459–469.

Kitagawa, T., Tokuhira, K., Sugiyama, H., Kohda, K., Isono, N., Hisamatsu, M., Takahashi, H., Imaeda, T., 2010. Construction of a β -glucosidase expression system using the multistress-tolerant yeast *Issatchenkia orientalis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 87, 1841–1853.

Kono, T., 1968. Kinetics of microbial cell growth. *Biotechnol. Bioeng.* X, 105-131.

Kovárová-Kovar, K., Egli, T., 1998. Growth kinetics of suspended microbial cells: from single-substrate-controlled growth to mixed-substrate kinetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62, 646–666.

Kumdam, H., Murthy, S.N., Gummadi, S.N., 2013. Production of ethanol and arabitol by *Debaryomyces nepalensis*: influence of process parameters. *AMB Express* 3, 1-12.

Kümmel, A., Ewald, J.C., Fendt, S.M., Jol, S.J., Picotti, P., Aebersold, R., Sauer, U., Zamboni, N., Heinemann, M., 2010. Differential glucose repression in common yeast strains in response to HXK2 deletion. *FEMS Yeast Res.* 10, 322-332.

- Le, H.D., Thanonkeo, P., Le, V.V.M., 2013. Impact of high temperature on ethanol fermentation by *Kluyveromyces marxianus* immobilized on banana leaf sheath pieces. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 171, 806–816.
- Ligthelm, M.E., Prior, B. A., Preez, J.C., 1988. The oxygen requirements of yeasts for the fermentation of D-xylose and D-glucose to ethanol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28, 63-68.
- Lukondeh, T., Ashbolt, N. J., Rogers, P.L., 2005. Fed-batch fermentation for production of *Kluyveromyces marxianus* FII 510700 cultivated on a lactose-based medium. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 32, 284–288.
- Luttik, M.A.H., Overkamp, K.M., Kotter, P., De Vries, S., Van Dijken, J.P., Pronk, J.T., 1998. The *Saccharomyces cerevisiae* *NDE1* and *NDE2* genes encode separate mitochondrial NADH dehydrogenases catalyzing the oxidation of cytosolic NADH. *J. Biol. Chem.* 273, 24529–24534.
- Martín-Pascual, J., López-López, C., Cerdá, A., González-López, J., E. Hontoria, E., Poyatos, J.M., 2012. Comparative Kinetic Study of Carrier Type in a Moving Bed System Applied to Organic Matter Removal in Urban Wastewater Treatment. *Water Air Soil Pollut.* 223, 1699–1712.
- Martini, C., Tauk-Tornisielo, S.M., Codato, C.B., Bastos, R.G., Ceccato-Antonini, S.R., 2016. A strain of *Meyerozyma guilliermondii* isolated from sugarcane juice is able to grow and ferment pentoses in synthetic and bagasse hydrolysate media. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 32, 1–9.
- Mensonides, F.I.C., Schuurmans, J.M., De Mattos, M.J.T., Hellingwerf, K.J., Brul, S., 2002. The metabolic response of *Saccharomyces cerevisiae* to continuous heat stress. *Mol Biol Rep.* 29, 103–106.
- Møller, K., Christensen, B., Förster, J., Piskur, J., Nielsen, J., Olsson, L., 2002. Aerobic glucose metabolism of *Saccharomyces kluyveri*: growth, metabolite production, and quantification of metabolic fluxes. *Biotechnol. Bioeng.* 77, 186-93.
- Møller, K., Tidemand, L.D., Winther, J.R., Olsson L., Piskur, J., Nielsen J., 2001. Production of a heterologous proteinase A by *Saccharomyces kluyveri*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 216–219.
- Monod, J., 1949. The growth of bacterial cultures. *Annu. Rev. Microbiol.* 3, 371-394.
- Nascimento, V.M., 2016. Fisiologia da *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1 em diferentes condições de cultivo. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Naumova, G.I., Masneuf, I., Naumova, E.S., Aigle, M., Dubourdieu, D., 2000. Association of *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* with some French wines: genetic analysis of yeast populations. *Res. Microbiol.* 151, 683 – 691.

- Nissen, T.L., Hamann, C.W., Kielland-Brandt, M.C., Nielsen, J., Villadsen, J., 2000. Anaerobic and aerobic batch cultivations of *Saccharomyces cerevisiae* mutants impaired in glycerol synthesis. *Yeast* 16, 463-474.
- Nobre, A., Lucas, C., Leão C., 1999. Transport and utilization of hexoses and pentoses in the halotolerant yeast *Debaryomyces hansenii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 3594–3598.
- Okpokwasili, G.C., Nweke, C.O., 2005. Microbial growth and substrate utilization kinetics. *Afr. J. Biotechnol.* 5, 305-317.
- Orlowski, J.H., Barford, J.P., 1991. Direct uptake of sucrose by *Saccharomyces cerevisiae* in batch and continuous culture. *J. Gen. Appl. Microbio.* 37, 215-218.
- Otterstedt, K., Larsson, C., Bill, R.M., Ståhlberg, A., Boles, E., Hohmann, S., Gustafsson, L., 2004. Switching the mode of metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO Rep.* 5, 532–537.
- Parajo, J.C., Dominguez, H., Dominguez, J.M., 1995. Production of xylitol from raw wood hydrolysates by *Debaryomyces hansenii* NRRL Y-7426. *Bioproc. Eng.* 13, 125-131.
- Raghevendran, V., Gombert, A.K., Christensen, B., Kötter, P., Nielsen, J., 2004. Phenotypic characterization of glucose repression mutants of *Saccharomyces cerevisiae* using experiments with ¹³C-labelled glucose. *Yeast* 21, 769–779.
- Rajoka, M.I., Khan, S., Shahid, R., 2003. Kinetics and regulation studies of the production of β galactosidase from *Kluyveromyces marxianus* grown on different substrates. *Food Technol. Biotechnol.* 41, 315–320.
- Ramakrishnan, S., Hartley, B.S., 1993. Fermentation of lactose by yeast cells secreting recombinant fungal lactase. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 4230-4235.
- Ribeiro, C.A. F., Horii, J., 1999. Potencialidades de linhagens de levedura *Saccharomyces cerevisiae* para a fermentação do caldo de cana. *Sci. Agric.* 56, 255-263.
- Roca, C., Nielsen, J., Olsson, L., 2003. Metabolic engineering of ammonium assimilation in xylose-fermenting *Saccharomyces cerevisiae* improves ethanol production. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 4732–4736.
- Rocha, S.N., Abrahão-Neto, J., Gombert, A.K., 2011. Physiological diversity within the *Kluyveromyces marxianus* species. *Anton. Leeuw.* 100, 619–630.
- Rodrussamee, N., Lertwattanasakul, N., Hirata, K., Suprayogi, Limtong, S., Kosaka, T., Yamada, M., 2011. Growth and ethanol fermentation ability on hexose and pentose sugars and glucose effect under various conditions in thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 90, 1573–1586.

- Romaní, A., Pereira, F., Johansson, B., Domingues, L., 2015. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* ethanol strains PE-2 and CAT-1 for efficient lignocellulosic fermentation. *Bioresour. Technol.* 179, 150–158.
- Rouwenhorst, R.J., Visser, L.E., Van Der Baan, A.A., Scheffers, W.A., Van Dijken, J.P., 1988. Production, distribution, and kinetic properties of inulinase in continuous cultures of *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 1131-1137.
- Rywińska, A.; Rymowicz, W.; Żarowska, B.; Skrzypiński, A. Comparison of citric acid production from glycerol and glucose by different strains of *Yarrowia lipolytica*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 26, 1217–1224.
- Salvadó, Z., Arroyo-López, F.N., Guillamón, J.M., Salazar, G., Querol, A., Barrio, E., 2011. Temperature adaptation markedly determines evolution within the genus *Saccharomyces*. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 2292–2302.
- Sanchez, R. G.; Karhumaa, K.; Fonseca, C.; Nogué, V. S.; Almeida, J. R. M.; Larsson, C. U.; Bengtsson, O.; Bettiga, M.; Hahn-Hägerdal, B.; Gorwa-Grauslund, M. F., 2010. Improved xylose and arabinose utilization by an industrial recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strain using evolutionary engineering. *Biotechnol. Biofuels* 3, 1-11.
- Santos, L.F., Ishii, P.L., 2011. Xilanases: principais metodologias e parâmetros cinéticos. *J. Biotec. Biodivers.* 2, 7-15.
- Serra, A., Strehaiano, P., Taillandier, P., 2005. Influence of temperature and pH on *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* growth; impact of a wine yeast interspecific hybridization on these parameters. *Int. J. Food Microbiol.* 104, 257-265.
- Shafaghat, H., Najafpour, G.D., Rezaei, P.S., Sharifzadeh, M., 2009. Growth kinetics and ethanol productivity of *Saccharomyces cerevisiae* PTCC 24860 on various carbon sources. *World Appl. Sci. J.* 7, 140-144.
- Sonderegger, M., Sauer, U., 2003. Evolutionary engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for anaerobic growth on xylose. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 1990–1998.
- Stephanopoulos, G., 1999. Metabolic fluxes and metabolic engineering. *Metab. Eng.* 1, 1-11.
- Van Hoek, P., Flikweert, M.T., Van Der Aart, Q.J.M., Steensma, H.Y., Van Dijken, J.P., Pronk, J.T., 1998. Effects of pyruvate decarboxylase overproduction on flux distribution at the pyruvate branch point in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2133–2140.
- Van Maris, A.J.A., Abbott, D.A., Bellissimi, E., Van Den Brink, J., Kuyper, M., Luttik, M.A. H., Wisselink, H.W., Scheffers, W.A., Van Dijken, J.P., Pronk, J.T., 2006. Alcoholic fermentation of carbon sources in biomass hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*: current status. *Anton. Leeuw.* 90, 391–418.

- Van Maris, A.J.A., Bakker, B.M., Brandt, M., Boorsma, A., De Mattos, M.J.T., Grivell, L.A., Pronk, J.T., Blom, J., 2001. Modulating the distribution of fluxes among respiration and fermentation by overexpression of *HAP4* in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res.* 1, 139-149.
- Van Uden, N., Madeira-Lopes, A., 1976. Yield and maintenance relations of yeast growth in the chemostat at superoptimal temperatures. *Biotechnol. Bioeng.* XVIII, 791-804.
- Visser, W., Scheffers, W.A., Vegte, W.H.B.V.D., Van Dijken, J.P., 1990. Oxygen requirements of yeasts. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 3785-3792.
- Velagapudi, V.R., Wittmann, C., Lengauer, T., Talwar, P., Heinzle, E., 2006. Metabolic screening of *Saccharomyces cerevisiae* single knockout strains reveals unexpected mobilization of metabolic potential. *Proc. Biochem.* 41, 2170–2179.
- Wang, Y., Buchanana, R.L., 2016. Develop mechanistic models of transition periods between lag/exponential and exponential/stationary phase. *Procedia Food Sci.* 7, 163 – 167.
- Wang, D., Xu, Y., Hu, J., Zhao, G., 2004. Fermentation kinetics of different sugars by the apple wine yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Inst. Brew.* 110, 340–346.
- Wisselink, H.W., Toirkens, M.J., Wu, Q., Pronk, J.T., Van Maris, A.J.A., 2009. Novel evolutionary engineering approach for accelerated utilization of glucose, xylose, and arabinose mixtures by engineered *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 907–914.
- Xiao, H., Shao, Z., Jiang, Y., Dole, S., Zhao, H., 2014. Exploiting *Issatchenkia orientalis* SD108 for succinic acid production. *Microb. Cell Fact.* 13, 1-11.
- Xu, G., Hua, Q., Duan, N., Liu, L., Chen, J., 2012. Regulation of thiamine synthesis in *Saccharomyces cerevisiae* for improved pyruvate production. *Yeast* 29, 209–217.
- Ye, L., Kruckeberg, A.L., Berden, J.A., Van Dam, K., 1999. Growth and glucose repression are controlled by glucose transport in *Saccharomyces cerevisiae* cells containing only one glucose transporter. *J. Bacteriol.* 181, 4673–4675.
- Zakharov, M., Yang, X., Reuss, M., Pörtner, H.O., 2015. Metabolic efficiency in yeast *Saccharomyces cerevisiae* in relation to temperature dependent growth and biomass yield. *J. Therm. Biol.* 52, 117-129.
- Zeeman, A.M., Luttik, M.A.H., Thiele, C., Van Dijken, J.P., Pronk, J.T., De Steensma, H.Y., 1998. Inactivation of the *Kluyveromyces lactis KIPDA1* gene leads to loss of pyruvate dehydrogenase activity, impairs growth on glucose and triggers aerobic alcoholic fermentation. *Microbiology* 144, 3437–3446.

3 FISILOGIA DE *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1 E DE OUTRAS 14 LEVEDURAS, ISOLADAS DA REGIÃO CENTRO-OESTE, TENDO FRUTOSE COMO FONTE ÚNICA DE CARBONO EM AEROBIOSE

Resumo: *Saccharomyces cerevisiae* é reconhecidamente a levedura mais utilizada na indústria. Contudo, a bioprospecção de novas cepas e o estudo fisiológico das mesmas são importantes para o estabelecimento de novas plataformas microbianas, com diferentes potenciais biotecnológicos, dada à grande biodiversidade genética existente na natureza, ainda pouco explorada. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar a fisiologia de diferentes leveduras, através de seus parâmetros cinéticos e metabólitos produzidos a partir de cultivos de 3 leveduras isoladas de usina de açúcar e álcool e 11 leveduras isoladas de frutos da Região Centro-Oeste, além da linhagem industrial *S. cerevisiae* CAT-1, utilizando-se frutose como única fonte de carbono, em aerobiose. As linhagens foram cultivadas em frasco tipo Erlenmeyer contendo meio mineral e frutose (10 g L⁻¹) com fonte única de carbono (30°C, 200 rpm). Açúcar, etanol e ácidos orgânicos foram quantificados. Os parâmetros cinéticos avaliados foram velocidade específica de consumo de substrato (μ_s), velocidade específica de crescimento máxima (μ_{max}), tempo de duplicação (TD), fator de conversão de substrato a células ($Y_{X/S}$), fator de conversão de substrato a produtos ($Y_{P/S}$) (etanol, glicerol e acetato) e concentração celular máxima (X_{max}), além de dados de produtividades de etanol (P_{Eth}) e de biomassa (P_X). As linhagens que apresentaram maior μ_{max} foram *Pichia kudriavzevii* BB2, *Pichia kudriavzevii* BB1 e *S. cerevisiae* BB9 (valores entre 0,47 e 0,49 h⁻¹), isoladas de mosto. Entre as linhagens isoladas de frutos, *Candida parapsilosis* Recol 29 apresentou μ_{max} superior (0,44 h⁻¹). As linhagens *S. cerevisiae* CAT-1 (3,02 h⁻¹), *S. cerevisiae* BB9 (3,01 h⁻¹) e *Candida glabrata* Recol 41 (2,52 h⁻¹) se destacaram em termos de μ_s . O $Y_{X/S}$ na linhagem *C. glabrata* Recol 41 foi baixo, enquanto as linhagens *C. parapsilosis* Recol 29 e *Rhodotorula mucilaginosa* Recol 03 foram as que apresentaram maior $Y_{X/S}$. A análise de $Y_{P/S}$ indicou que *C. glabrata* Recol 10 e *S. cerevisiae* BB9 se destacaram devido à maior taxa de conversão de substrato a etanol (0,44 e 0,41 gEth gS⁻¹, respectivamente), quando comparada a *S. cerevisiae* CAT-1 (0,33 gEth gS⁻¹). Glicerol e acetato foram produzidos em pequenas quantidades por apenas algumas linhagens. Todas as linhagens avaliadas foram capazes de consumir o substrato frutose. *R. mucilaginosa* Recol 03 foi a que apresentou menor desempenho de consumo do substrato, enquanto os isolados de mosto e a linhagem *C. glabrata* Recol 10 foram os que apresentaram melhor capacidade para produção de etanol, enquanto *C. parapsilosis* Recol 29 apresentou maior conversão em biomassa.

Palavras-chave: Bioprospecção; Parâmetros Cinéticos; Metabolismo.

3.1 INTRODUÇÃO

Saccharomyces cerevisiae é conhecida por ser uma linhagem de levedura industrial (Shafaghat et al., 2009) utilizada para a produção de etanol, bebidas alcoólicas, biomassa, produtos metabólicos (Cardona e Sánchez, 2007; Teixeira et al., 2009) e como fonte de β -glucano (Kogan e Kocher, 2007). No Brasil, as linhagens de *S. cerevisiae* CAT-1 e PE-2 são

comumente utilizadas na produção de etanol (Romani et al., 2015), representando 80% da levedura comercializada para a produção de etanol combustível no Brasil (Basso et al., 2011). Contudo é imprescindível a bioprospecção de novas cepas e o estudo fisiológico das mesmas, buscando não somente aquelas que apresentem destacado potencial fermentativo, mas também outras aplicações biotecnológicas, o que é promissor, dada à grande biodiversidade desses microrganismos nos biomas brasileiros (Silva e Fonseca, 2016).

A Região Centro-Oeste, devido as suas características ambientais, temperatura, umidade, solo, são favoráveis à presença de microrganismos, como as leveduras, sendo um ambiente propício para a bioprospecção de novas linhagens. Além disso, a região possui várias usinas e destilarias, nas quais durante o processo fermentativo ocorre uma sucessão intensiva de linhagens de *S. cerevisiae* no mosto de fermentação, em alguns casos, a levedura original é completamente substituída por linhagens selvagens (Silva-Filho et al., 2005; Batistote et al., 2010). Essas linhagens selvagens podem ser isoladas e estudadas, gerando informações sobre as características e possíveis aplicações dessas cepas. Além do mosto, cepas de leveduras podem ser isoladas do ambiente, solo, frutos entre outros (Silva et al., 2011; Nyanga et al., 2012; Freire et al., 2014).

Entre as leveduras não-*Saccharomyces* com potenciais aplicações fermentativas, destaca-se *Pichia kudriavzevii*, também identificada como *Issatchenkia orientalis* (Chan et al., 2012). Esta foi isolada de vários tipos de substratos, como solo (Limtong et al., 2009), frutos (Nyanga et al., 2012) e mostos (Freire et al., 2014). É considerada como etanol, osmo e termotolerante (Kitagawa et al., 2010). *P. kudriavzevii* é descrita em processos fermentativos de produção de vinho com reduzido teor alcoólico (Contreras et al., 2015) e na produção de etanol em diferentes condições (Dhaliwal et al., 2011).

Outra candidata é a linhagem *Candida glabrata*, que foi descrita por sua capacidade de fermentar glicose e trealose (Silva et al., 2012). Também foi relatada sua termotolerância e relação evolutiva próxima à *S. cerevisiae* (Wang et al., 2013). Ainda dentro do gênero *Candida*, a espécie *C. parapsilosis* é descrita como adequada para a fermentação do xilitol (Nolleau et al., 1995). Contudo apresenta incapacidade de fermentar maltose (Silva et al., 2012). Tanto *C. glabrata* como *C. parapsilosis* são capazes de produzir amilase via cultivo em estado sólido (Oliveira et al., 2015).

Meyerozyma guilliermondii, também conhecida como *Candida guilliermondii* (Kurtzman e Suzuki, 2010), foi isolada de fermentações espontâneas de vinhos brancos de uvas

da variedade Malvar, na Espanha (Cordero-Bueso et al., 2013). *M. guilliermondii* é eficaz para a bioconversão da xilose em xilitol (Papon et al., 2013).

Apesar de ser considerada uma das dez principais espécies de leveduras que causam a deterioração dos alimentos, *Rhodotorula mucilaginosa* tem sido utilizada em experimentos de vinificação em associação com *S. cerevisiae* para melhorar o aroma de vinhos, isso porque essas leveduras secretam β -glicosidades e com isso produzem compostos de aroma a partir de seus precursores presentes na uva (Albertyn et al., 2014, Wang et al., 2017). Além disso, esta espécie tem potencial para produzir xilitol (Bura et al., 2012).

É desejável que a levedura possa metabolizar o maior espectro de substratos. A frutose, *e.g.*, é um monossacarídeo fermentescível, apesar da usual preferência pelo consumo de glicose pelas leveduras (Berthels et al., 2004). As leveduras que utilizam frutose são importantes para a fermentação do caldo de cana-de-açúcar porque, uma vez que a sacarose se hidrolisa em glicose e frutose, pode haver o risco de contaminação microbiana. Ainda, se houver níveis residuais alto de frutose ocorrerá menor produtividade no processo, já que nem todo substrato será convertido em produto. Além disso, os perfis de consumo de frutose podem ser usados para identificar cepas de leveduras que possam ter preferência por frutose (Tronchoni et al., 2009). Assim, a pesquisa de leveduras frutófilas é importante para a indústria vinícola (Jones et al., 2005).

O metabolismo e os efeitos reguladores de frutose em *S. cerevisiae* foram reportados como semelhantes aos da glicose (Anjos et al., 2013), porém em algumas linhagens o consumo da frutose pode ser mais lento e até mesmo incompleto (Berthels et al., 2004; Wang et al., 2004).

Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar a fisiologia de 15 diferentes leveduras cultivadas em meio mineral contendo frutose como única fonte de carbono, em aerobiose, através de seus parâmetros cinéticos e produção de metabólitos. Foram estudadas 3 leveduras isoladas de usina de açúcar e álcool e 11 de frutos típicos da Região Centro-Oeste, além da linhagem industrial *S. cerevisiae* CAT-1.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Microrganismos e manutenção

As leveduras utilizadas no estudo foram *S. cerevisiae* Catanduva – 1 (CAT-1), cedida pela Usina São Fernando de Açúcar e Álcool, Dourados, Mato Grosso do Sul (MS), e 14

leveduras isoladas da Região Centro-Oeste: 3 isoladas de mosto industrial, no município de Barra do Bugres, Mato Grosso (MT), *Pichia kudriavzevii* BB1, *Pichia kudriavzevii* BB2 e *S. cerevisiae* BB9 (Silva et al., 2011) e 11 leveduras isoladas de frutos típicos da região, denominadas, *Rhodotorula mucilaginosa* Recol 03, *Meyerozyma guilliermondii* Recol 09, *Candida glabrata* Recol 10, *Candida parapsilosis* Recol 12, *C. parapsilosis* Recol 29, *C. parapsilosis* Recol 37, *Pichia kudriavzevii* Recol 39, *Candida glabrata* Recol 41, Isolado Recol 42, *Candida glabrata* Recol 43 e *Pichia kudriavzevii* Recol 44.

As linhagens Recol 03, Recol 09, Recol 10 e Recol 12 foram isoladas a partir de cerejeira do Rio Grande (*Eugenia involucrata*), Recol 29 de uvaia (*Eugenia pyriformis*), Recol 37 de pêssego-do-mato (*Hexachlamys edulis*), Recol 39 e Recol 41 de acerola (*Malpighia glabra*) e Recol 42, Recol 43 e Recol 44 de pequi (*Caryocar brasiliense*).

Alíquotas-estoque de 1 mL das leveduras utilizadas foram obtidas de culturas-estoque mantidas em glicerol 20% (p/v) a -80°C (Fonseca et al., 2013).

3.2.2 Meio mineral para pré-cultivos e cultivos

O meio mineral foi preparado, contendo por litro de água destilada: (NH₄)₂SO₄, 5,0 g; KH₂PO₄, 3,0 g; MgSO₄.7H₂O, 0,5 g; 1 mL de elementos-traço (preparada em água desmineralizada, contendo por litro: EDTA, 15 g; ZnSO₄.7H₂O, 4,5 g; MnCl₂.2H₂O, 1 g; CoCl₂.6H₂O, 0,3 g; CuSO₄.5H₂O, 0,3 g; Na₂MoO₄.2H₂O, 0,4 g; CaCl₂.2H₂O, 4,5 g; FeSO₄.7H₂O, 3,0 g; H₃BO₃, 1,0 g; KI, 0,1 g), com pH final de 6,0. O meio foi autoclavado (121°C, 15 min), posteriormente adicionou-se ao meio 1 mL L⁻¹ de solução filtro-esterilizada de vitaminas (preparada em água desmineralizada, contendo por litro: D-biotina, 0,05 g; pantotenato de cálcio, 1,0 g; ácido nicotínico, 1,0 g; mio-inositol, 25 g; cloreto de tiamina, 1,0 g; piridoxina, 1,0 g; e ácido para-aminobenzóico, 0,20 g) (Verduyn et al., 1992).

3.2.3 Condições de cultivo

Para o preparo dos experimentos, uma alíquota-estoque foi utilizada para inocular uma placa de petri contendo aproximadamente 20 mL de meio YPD (extrato de levedura 1%, peptona 2%, glicose 2% e ágar 2%) estéril, por 48 horas a 28°C.

Para os pré-cultivos foi transferida uma alçada de células da placa de petri para um frasco tipo Erlenmeyer (500 mL) contendo 250 mL de meio mineral estéril (Verduyn et al.,

1992), com pH ajustado para 6,0. A fonte de carbono frutose foi previamente esterilizada separadamente na concentração 10 g L^{-1} . Em seguida os pré-cultivos foram incubados a 30°C em agitador orbital (Marconi, Brasil) a 200 rpm até atingir a densidade óptica (DO) ($\lambda= 600\text{nm}$) de 5 ± 1 , medidas em espectrofotômetro (Biospectro, Brasil), em condições de aerobiose.

A partir de uma alíquota de quantidade determinada do pré-cultivo para DO inicial ($\lambda= 600\text{nm}$) de 0,1, os cultivos foram realizados em duplicata, em meios e frascos idênticos ao do pré-cultivo.

Os cultivos principais foram realizados a 30°C em agitador orbital (Marconi, Brasil) a 200 rpm até o total consumo de açúcar. O volume de 3 mL de amostra foi retirado a cada 30 minutos para determinação de massa seca e concentração de metabólitos extracelulares.

3.2.4 Quantificação de metabólitos extracelulares e determinações de biomassa

Amostras foram coletadas e centrifugadas em micro centrífuga refrigerada (NT805, Brasil) (5 min., 17.609 g , 5°C). O sobrenadante foi utilizado para determinar substrato residual, etanol, glicerol e ácidos orgânicos por cromatografia líquida de ultra eficiência (UHPLC) Agilent 1290, equipado com coluna Rezex ROA – Organic Acid H^+ (8%) (Phenomenex). A fase móvel utilizada foi ácido trifluoroacético (TFA) a 5 mM, a uma vazão de $0,6 \text{ mL min}^{-1}$, à 55°C e o volume injetado foi de $20 \mu\text{L}$. Estes compostos foram detectados por um detector refratômetro diferencial (RID) Agilent 1260, acoplado a um módulo de aquisição de dados (Nascimento et al., 2016).

O sedimento de biomassa obtido após centrifugação da amostra foi seco em estufa de secagem (Marconi, Brasil) (105°C) até peso constante. A massa celular seca (g L^{-1}) foi obtida pelo quociente entre a diferença de peso por volume de meio centrifugado. Biomassa (X) também foi determinada indiretamente através de medições de DO realizadas com um espectrofotômetro (Biospectro, Brasil) a 600 nm. Para este fim, os valores de absorbância medidos foram convertidos em valores de massa utilizando uma relação linear (unidades DO por grama de biomassa seca) determinada para cada experimento.

3.2.5 Determinação de parâmetros cinéticos

A fase exponencial de crescimento foi identificada como a região linear da plotagem do $\ln(\text{DO})$ pelo tempo para os dados do cultivo. A velocidade específica de crescimento máxima

(μ_{max}) foi determinada como a inclinação desta reta, e o tempo de duplicação (TD) pelo quociente do $\ln(2)$ pelo μ_{max} . Avaliou-se a formação máxima de biomassa ($X_{máx}$) obtida por curva de calibração.

O fator de conversão de substrato a células ($Y_{X/S}$) foi determinado como a inclinação da linha obtida pela plotagem da concentração celular (X) em função da concentração de substrato (S). O fator de conversão de substrato a produto ($Y_{P/S}$) (etanol, glicerol e acetato) foi determinado a partir da concentração do produto (P) em relação a concentração de substrato (S). A velocidade específica de consumo de substrato (μ_S) foi calculada de acordo com a Equação 3.1:

$$\mu_S = \frac{\mu_{máx}}{Y_{X/S}} \quad \text{Equação 3.1}$$

Produtividades de etanol (P_{Eth}) e de biomassa (P_X) foram calculadas de acordo com as Equações 3.2 e 3.3, respectivamente (Ribeiro e Horii, 1999):

$$P_{Eth} = \frac{P_{max} - P_i}{t} \quad \text{Equação 3.2}$$

$$P_X = \frac{X_{max} - X_i}{t} \quad \text{Equação 3.3}$$

No qual, P_{max} = concentração máxima do produto; P_i = concentração inicial do produto; t = tempo final de concentração máxima; X_{max} = concentração celular máxima; X_i = concentração celular inicial.

3.2.6 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) com 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, utilizando a versão do software Statistica versão 6.0 (Statsoft, USA).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 3.1 apresenta os parâmetros cinéticos de crescimento durante a fase exponencial dos cultivos, enquanto a Figura 3.1 as cinéticas de crescimento, formação de metabólitos e consumo de substrato durante cultivos utilizando frutose (10 g L^{-1}) como fonte única de carbono, em aerobiose.

Tabela 3.1. Parâmetros cinéticos dos cultivos, utilizando frutose como fonte de carbono com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e com *S. cerevisiae* CAT-1, em aerobiose.

Levedura	μ_{\max} (h ⁻¹)	TD (h)	μ_s (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	$Y_{GII/S}$ (gGli gS ⁻¹)	$Y_{Ac/S}$ (gAc gS ⁻¹)	X (g L ⁻¹)	P _X (gMCS L ⁻¹ h ⁻¹)	P _{Eth} (gEth L ⁻¹ h ⁻¹)	T (h)
<i>S. c.</i> CAT-1	0,45±0,00 ^b	1,52±0,01 ^f	3,02±0,03 ^a	0,15±0,00 ^c	0,33±0,00 ^{a,b,c}	0,10±0,00 ^a	0,01±0,00 ^c	1,44±0,01 ^h	0,12±0,00 ^{f,g}	0,28±0,01 ^{a,b}	12,0
<i>P. k.</i> BB1	0,48±0,01 ^{a,b}	1,42±0,03 ^f	2,47±0,02 ^{a,b,c}	0,19±0,01 ^{b,c}	0,27±0,00 ^{a,b,c,d}	0,04±0,00 ^b	0,11±0,00 ^a	1,98±0,01 ^{d,e}	0,19±0,01 ^a	0,28±0,02 ^{a,b}	10,5
<i>P. k.</i> BB2	0,49±0,00 ^a	1,38±0,01 ^f	2,43±0,00 ^{a,b,c}	0,20±0,00 ^{b,c}	0,33±0,00 ^{a,b,c}	0,10±0,00 ^a	0,03±0,00 ^{b,c}	2,07±0,03 ^{c,d}	0,17±0,01 ^{a,b,c}	0,25±0,01 ^b	12,5
<i>S. c.</i> BB9	0,47±0,02 ^{a,b}	1,46±0,09 ^f	3,01±0,34 ^a	0,15±0,00 ^c	0,41±0,03 ^{a,b}	0,01±0,01 ^c	0,06±0,01 ^b	1,73±0,00 ^g	0,17±0,02 ^{a,b}	0,35±0,03 ^a	11,5
<i>R. m.</i> Recol 03	0,24±0,01 ^g	2,88±0,08 ^a	0,87±0,10 ^e	0,28±0,05 ^{a,b}	0±0 ^e	0±0 ^c	0±0 ^c	1,79±0,01 ^{f,g}	0,10±0,00 ^g	0±0 ^f	17,0
<i>M. g.</i> Recol 09	0,34±0,01 ^{d,e,f}	2,03±0,08 ^{b,c}	1,51±0,13 ^{d,e}	0,22±0,01 ^{a,b,c}	0,26±0,02 ^{a,b,c,d}	0±0 ^c	0±0 ^c	2,18±0,05 ^{b,c}	0,14±0,00 ^{e,f}	0,14±0,01 ^{d,e}	15,5
<i>C. g.</i> Recol 10	0,36±0,00 ^{c,d,e}	1,89±0,00 ^{c,d}	1,97±0,02 ^{b,c,d}	0,18±0,00 ^{b,c}	0,44±0,02 ^a	0,05±0,00 ^b	0±0 ^c	1,96±0,01 ^{d,e}	0,14±0,00 ^{d,e,f}	0,34±0,00 ^a	14,0
<i>C. p.</i> Recol 12	0,32±0,00 ^{e,f}	2,13±0,01 ^b	1,44±0,04 ^{d,e}	0,22±0,01 ^{a,b,c}	0,22±0,02 ^{b,c,d}	0±0 ^c	0 ^c ±0	2,14±0,00 ^c	0,12±0,00 ^{f,g}	0,08±0,01 ^{e,f}	16,5
<i>C. p.</i> Recol 29	0,44±0,00 ^b	1,54±0,00 ^{e,f}	1,45±0,08 ^{d,e}	0,30±0,01 ^a	0,22±0,02 ^{b,c,d}	0,05±0,00 ^b	0,03±0,03 ^{b,c}	2,36±0,06 ^a	0,17±0,00 ^{a,b,c}	0,12±0,01 ^{d,e}	14,5
<i>C. p.</i> Recol 37	0,37±0,01 ^{c,d}	1,85±0,04 ^{c,d}	1,85±0,28 ^{b,c,d}	0,20±0,02 ^{b,c}	0,17±0,06 ^{c,d,e}	0±0 ^c	0±0 ^c	1,75±0,04 ^g	0,12±0,00 ^{f,g}	0,07±0,01 ^{e,f}	14,0
<i>P. k.</i> Recol 39	0,37±0,01 ^{c,d}	1,83±0,04 ^d	1,89±0,17 ^{b,c,d}	0,20±0,01 ^{b,c}	0,27±0,08 ^{a,b,c,d}	0±0 ^c	0±0 ^c	1,98±0,02 ^{d,e}	0,13±0,00 ^{e,f}	0,12±0,01 ^{d,e}	15,0
<i>C. g.</i> Recol 41	0,40±0,00 ^c	1,72±0,00 ^{d,e}	2,52±0,60 ^{a,b}	0,14±0,06 ^c	0,32±0,02 ^{a,b,c}	0±0 ^c	0±0 ^c	1,91±0,01 ^{e,f}	0,14±0,00 ^{c,d,e,f}	0,24±0,04 ^{b,c}	13,5
Iso Recol 42	0,36±0,01 ^{c,d,e}	1,91±0,03 ^{c,d}	1,65±0,08 ^{c,d,e}	0,21±0,01 ^{a,b,c}	0,37±0,02 ^{a,b}	0,01±0,00 ^c	0±0 ^c	1,97±0,02 ^{d,e}	0,12±0,00 ^{f,g}	0,16±0,03 ^{c,d}	15,5
<i>C. g.</i> Recol 43	0,31±0,00 ^f	2,19±0,03 ^b	1,65±0,05 ^{c,d,e}	0,19±0,01 ^{b,c}	0,34±0,05 ^{a,b,c}	0,05±0,00 ^b	0±0 ^c	2,27±0,03 ^{a,b}	0,16±0,00 ^{b,c,d}	0,28±0,02 ^{a,b}	14,0
<i>P. k.</i> Recol 44	0,31±0,01 ^f	2,17 ^b ±0,07	1,54±0,00 ^{d,e}	0,20±0,01 ^{b,c}	0,12±0,03 ^{d,e}	0±0 ^c	0±0 ^c	1,80±0,01 ^{f,g}	0,15±0,00 ^{b,c,d,e}	0,08±0,01 ^{d,e}	12,5

μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; TD: tempo de duplicação μ_s : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; $Y_{GII/S}$: fator de conversão de substrato em glicerol; $Y_{Ac/S}$: fator de conversão de substrato em acetato; X: concentração máxima de células formadas; MCS: massa celular seca; P_X: produtividade de biomassa; P_{Eth}: produtividade de etanol; T: tempo de cultivo; *S. c.* CAT-1: *S. cerevisiae* CAT-1; *P. k.* BB1: *P. kudriavzevii* BB1; *P. k.* BB2: *P. kudriavzevii* BB2; *S. c.* BB9: *S. cerevisiae* BB9; *R. m.* Recol 03: *R. mucilaginosa* Recol 03; *M. g.* Recol 09: *M. guilliermondii* Recol 09; *C. g.* Recol 10: *Candida glabrata* Recol 10; *C. p.* Recol 12: *Candida parapsilosis* Recol 12; *C. p.* Recol 29: *C. parapsilosis* Recol 29; *C. p.* Recol 37: *C. parapsilosis* Recol 37; *P. k.* Recol 39: *Pichia kudriavzevii* Recol 39; *C. g.* Recol 41: *Candida glabrata* Recol 41; *C. g.* Recol 43: *C. glabrata* Recol 43; *P. k.* Recol 44: *Pichia kudriavzevii* Recol 44; Iso: Isolado. *Dados apresentados com média±desvio padrão. *Letras iguais em uma mesma coluna não apresenta diferença significativa (P>0,05).

Todos os resultados foram obtidos utilizando meio mineral com frutose como única fonte de carbono. Todas as linhagens apresentaram crescimento no meio avaliado.

A velocidade específica de crescimento máxima (μ_{\max}) representa a adaptação do microrganismo ao meio, sendo considerada um importante parâmetro para seleção de cepas para bioprocessos (Gomes et al., 2007). As linhagens isoladas de mosto, *P. kudriavzevii* BB2, *P. kudriavzevii* BB1 e *S. cerevisiae* BB9 apresentaram maior μ_{\max} (entre 0,47 e 0,49 h⁻¹), seguido da linhagem industrial *S. cerevisiae* CAT-1 (0,45 h⁻¹) (Tabela 3.1), sem apresentar diferença significativa ($P < 0,05$), mas apresentando diferença significativa ($P > 0,05$) com relação aos isolados de frutos. Entre as linhagens isoladas de frutos, *C. parapsilosis* Recol 29 apresentou μ_{\max} superior (0,44 h⁻¹), enquanto os demais isolados de frutos apresentaram μ_{\max} de 0,24 a 0,40 h⁻¹ (Tabela 3.1).

Shafaghat et al. (2009) estudaram a linhagem *S. cerevisiae* PTCC 24860 com concentração de frutose de 35 g L⁻¹ e observaram μ_{\max} de 0,42 h⁻¹. A levedura *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556 também foi avaliada em frutose (10 g L⁻¹) e apresentou μ_{\max} de 0,41 h⁻¹ (Fonseca et al., 2013). *R. mucilaginosa* ATCC 26423 em frutose (10 g L⁻¹) mostrou μ_{\max} de 0,20±0,008 h⁻¹ (Andersen et al., 2003). Nesses ensaios as leveduras foram destacadas pela adaptação ao meio, corroborando os dados deste trabalho.

Com relação à velocidade específica de consumo de substrato (μ_s), as linhagens que se destacaram foram *S. cerevisiae* CAT-1 (3,02 h⁻¹), *S. cerevisiae* BB9 (3,01 h⁻¹) e *C. glabrata* Recol 41 (2,52 h⁻¹). *K. marxianus* CBS 6556 em 10 g L⁻¹ de frutose apresentou μ_s de 0,86 h⁻¹. As leveduras *S. cerevisiae* CAT-1, *C. glabrata* Recol 41 e os isolados de mosto explorados neste trabalho apresentaram valores superiores aos reportados na literatura, indicando boa adaptação ao substrato e as condições de cultivo.

Quanto ao fator de conversão de substrato a células ($Y_{X/S}$), destaca-se que *C. glabrata* Recol 41 apresentou menor $Y_{X/S}$ (0,14 g MCS g⁻¹), seguida pelas *S. cerevisiae* CAT-1 e *S. cerevisiae* BB9 (0,15 g MCS g⁻¹), indicando maior propensão à produção de metabólitos secundários. Em contraste, os maiores valores de $Y_{X/S}$ foram encontrados para *C. parapsilosis* Recol 29 (0,30 g MCS g⁻¹) e *R. mucilaginosa* Recol 03 (0,28 g MCS g⁻¹).

Wang et al. (2004) estudaram a linhagem *S. cerevisiae* CCTCC M201022, utilizada na fermentação de vinho de maçã, utilizando frutose (100 g L⁻¹) e encontraram $Y_{X/S}$ de 0,1922 g MCS g⁻¹, valores próximos aos encontrados nesse estudo, exceto para as linhagens *R. mucilaginosa* Recol 03 e *C. parapsilosis* Recol 29, que apresentaram valores superiores a 0,28

g MCS g⁻¹. No entanto, Fonseca et al. (2013) reportaram valores ainda maiores para *K. marxianus* (0,49 g MCS g⁻¹) em frutose (10 g L⁻¹). Pode-se afirmar que as linhagens com maior Y_{X/S} são favoráveis a produção a de biomassa, assim como é descrito para *K. marxianus* (Bellaver et al., 2004; Fonseca et al., 2013).

A Tabela 3.1 apresenta os dados de formação de metabólitos das linhagens estudadas. Esses cultivos mostraram formação de etanol, glicerol e acetato.

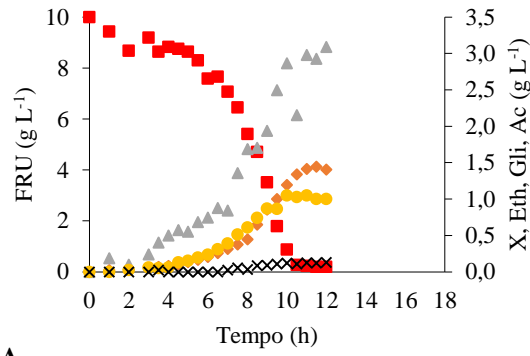
Quanto à formação de etanol, a linhagem *C. glabrata* Recol 10 e *S. cerevisiae* BB9 se destacaram pela maior taxa de conversão de substrato a etanol (Y_{Eth/S}), 0,44 e 0,41 gEth g⁻¹, respectivamente, inclusive quando avaliada a produtividade de etanol, 0,35 e 0,34 gEth L⁻¹ h⁻¹, respectivamente (Tabela 3.1). Pode-se notar que o Y_{Eth/S} dessas linhagens foi superior ao da levedura industrial *S. cerevisiae* CAT-1, porém sem diferença significativa (P<0,05).

Kumdam et al. (2013) avaliaram a produção de etanol da levedura *Debaryomyces nepalensis* NCYC 3413, utilizando frutose (100 g L⁻¹) e observaram Y_{Eth/S} de 0,12 g g⁻¹. Para *S. cerevisiae* PTCC 24860 em frutose (35 g L⁻¹) foi reportado Y_{Eth/S} de 0,81 gEth g⁻¹ (Shafaghat et al., 2009).

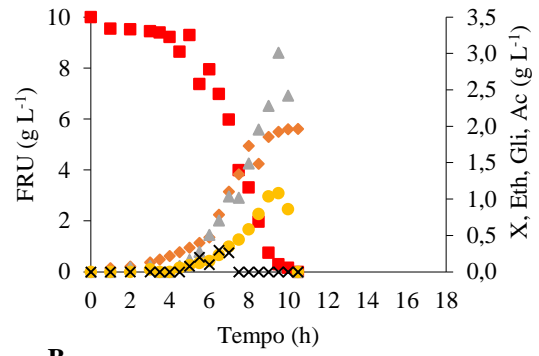
Glicerol foi produzido em pequenas quantidades nas linhagens *S. cerevisiae* CAT-1, *P. kudriavzevii* BB1, *P. kudriavzevii* BB2, *S. cerevisiae* BB9, *C. glabrata* Recol 10, *C. parapsilosis* Recol 29, Isolado Recol 42 e *C. glabrata* Recol 43 (Tabela 3.1; Fig. 3.1, A, B, C, D, G, I, M, N). Acetato foi detectado apenas nas linhagens *S. cerevisiae* CAT-1, *P. kudriavzevii* BB1, *P. kudriavzevii* BB2, *S. cerevisiae* BB9 e *C. parapsilosis* Recol 29 (Tabela 3.1; Fig. 3.1, A, B, C, D, I). Não foi observada a produção de outro metabólito nos cultivos realizados nestas condições.

Glicerol é conhecido por ter função protetora para as células, sua formação é uma resposta ao estresse (Fonseca et al., 2013). Os baixos níveis de síntese de glicerol obtidos nesse estudo podem estar associados a um metabolismo ativo para formação de etanol, o que indica um melhor desempenho da fermentação de leveduras (Ramos et al., 2013).

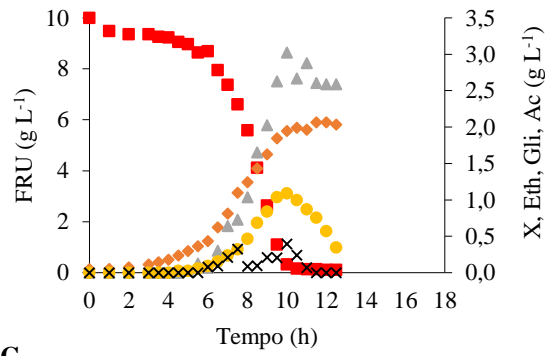
A linhagem *R. mucilaginosa* Recol 03 não apresentou formação de qualquer metabólito extracelular (Fig. 3.1, E), além disso apresentou menores valores para μ_{max} e μ_S, que indicam que a mesma teve dificuldade de se adaptar ao substrato e às condições avaliadas.



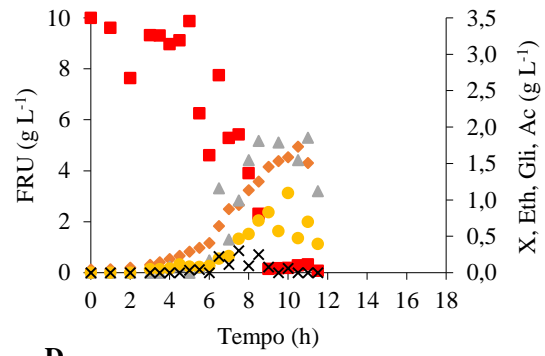
A



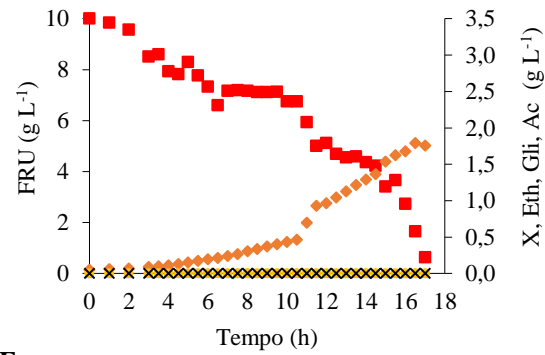
B



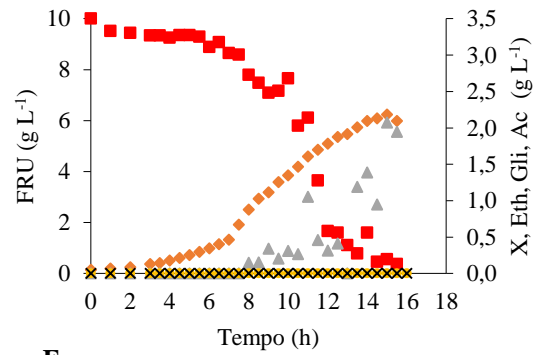
C



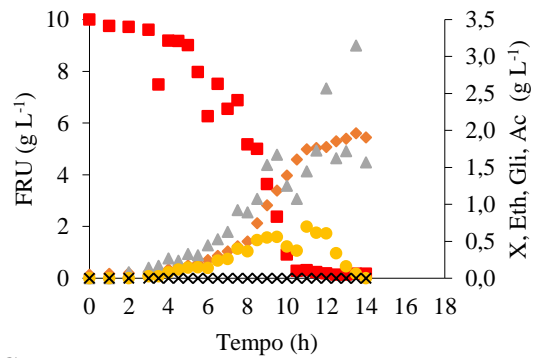
D



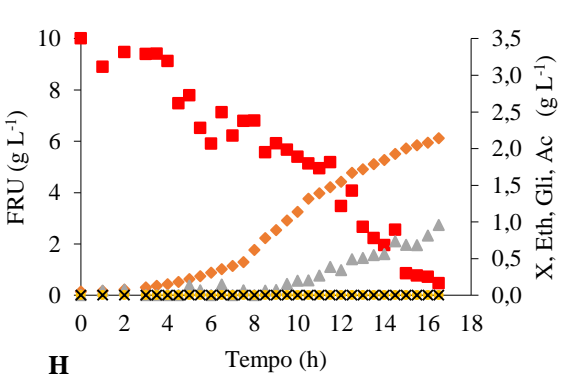
E



F



G



H

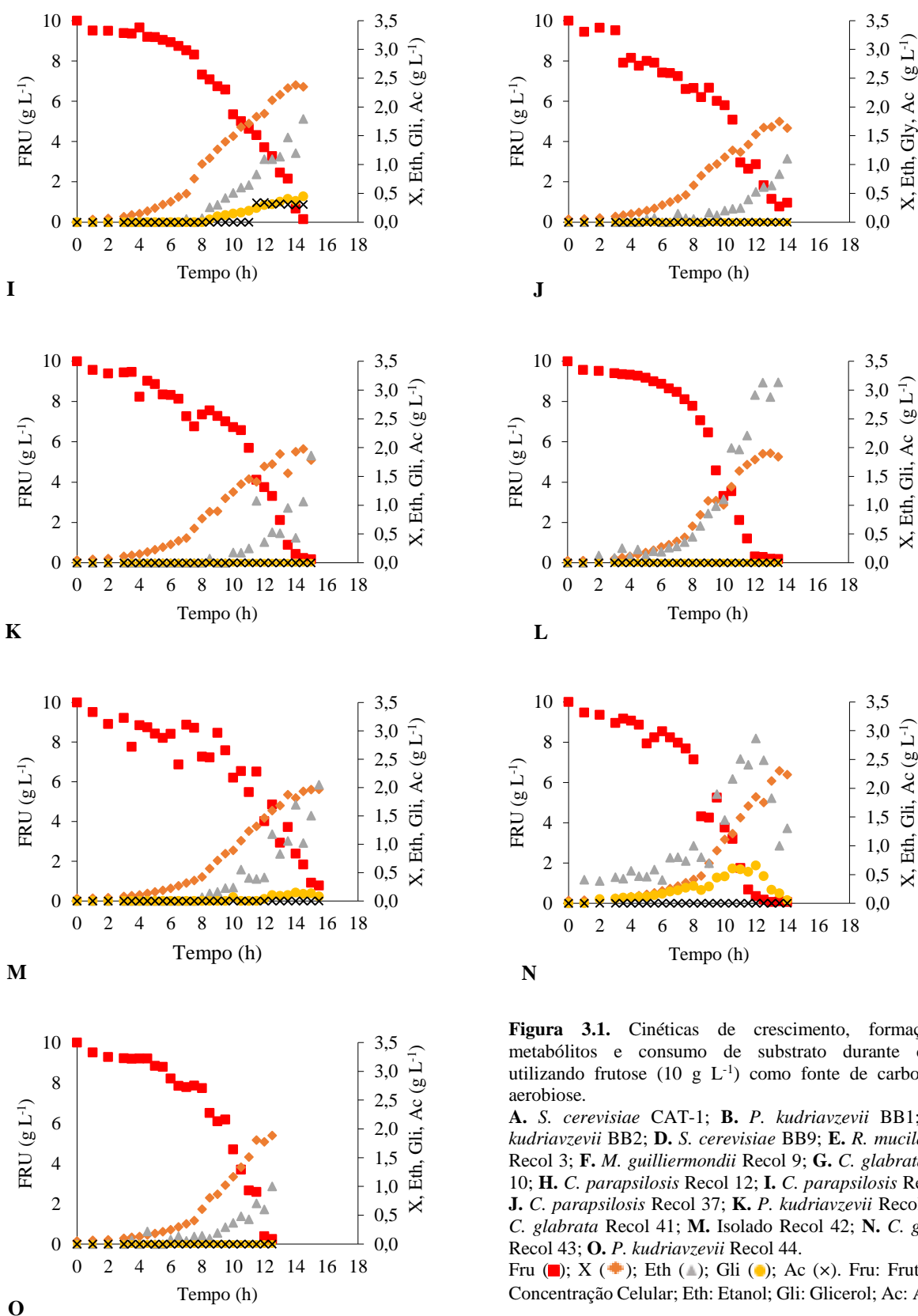


Figura 3.1. Cinéticas de crescimento, formação de metabólitos e consumo de substrato durante cultivos utilizando frutose (10 g L⁻¹) como fonte de carbono, em aerobiose.
A. *S. cerevisiae* CAT-1; **B.** *P. kudriavzevii* BB1; **C.** *P. kudriavzevii* BB2; **D.** *S. cerevisiae* BB9; **E.** *R. mucilaginosa* Recol 3; **F.** *M. guilliermondii* Recol 9; **G.** *C. glabrata* Recol 10; **H.** *C. parapsilosis* Recol 12; **I.** *C. parapsilosis* Recol 29; **J.** *C. parapsilosis* Recol 37; **K.** *P. kudriavzevii* Recol 39; **L.** *C. glabrata* Recol 41; **M.** Isolado Recol 42; **N.** *C. glabrata* Recol 43; **O.** *P. kudriavzevii* Recol 44.
 Fru (■); X (◆); Eth (▲); Gli (●); Ac (×). Fru: Frutose; X: Concentração Celular; Eth: Etanol; Gli: Glicerol; Ac: Acetato.

CONCLUSÃO

A análise dos parâmetros cinéticos indicou que todas as linhagens foram capazes de consumir o substrato frutose. Entre as linhagens estudadas *R. mucilaginosa* Recol 03 apresentou maior dificuldade de consumo do substrato frutose, além da incapacidade de síntese de etanol, glicerol e ácidos orgânicos.

A linhagens isoladas de mosto (*P. kudriavzevii* BB1, *P. kudriavzevii* BB2 e *S. cerevisiae* BB9) e a linhagem *C. glabrata* Recol 10, isolada de cerejeira do Rio Grande (*Eugenia involucrata*), foram os que apresentaram melhor capacidade para produção de etanol, enquanto a linhagem *C. parapsilosis* Recol 29, isolada de uvaia (*Eugenia pyriformis*), apresentou maior eficiência para conversão de substrato em biomassa.

REFERÊNCIAS

- Albertyn, J., Pohl, C.H., Viljoen, B.C., 2014. *Rhodotorula*. In: Batt, C.A., Tortorello, M.L. Encyclopedia of Food Microbiology, 2^o Ed., pp. 291–295.
- Andersen, D., Renshaw, J.C., Wiebe, M.G., 2003. Rhodotorulic acid production by *Rhodotorula mucilaginosa*. Mycol. Res. 107, 949–956.
- Anjos, J., De-Sousa, H.R., Roca, C., Cássio, F., Luttkik, M., Pronk, J.T., Salema-Oom, M., Gonçalves, P., 2013. Fsy1, the sole hexose-proton transporter characterized in *Saccharomyces* yeasts, exhibits a variable fructose: H⁺ stoichiometry. Biochim. Biophys. Acta. 1828, 201–207.
- Basso, L.C., Basso, T.O., Rocha, S.N., 2011. Ethanol production in Brazil: The industrial process and its impact on yeast fermentation. In: Bernardes, M.A.S. Biofuel Production-Recent Developments and Prospects. Editora: Intech, pp. 85-100.
- Batistote, M., Cardoso, C.A.L., Ramos, D.D., Ernandes, J.R., 2010. Desempenho de leveduras obtidas em indústrias de Mato Grosso do Sul na produção de etanol em mosto a base de cana de açúcar. Ciên. Nat. 32, 83–95.
- Bellaver, L.H., De Carvalho, N.M.B., Abrahão-Neto, J., Gombert, A.K., 2004. Ethanol formation and enzyme activities around glucose-6-phosphate in *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556 exposed to glucose or lactose excess. FEMS Yeast Res. 4, 691–698.
- Berthels, N.J., Otero, R.R.C., Bauer, F.F., Thevelein, J.M., Pretorius, I.S., 2004. Discrepancy in glucose and fructose utilization during fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strains. FEMS Yeast Res. 4, 683–689.

- Bura, R., Vajzovic, A., Doty, S.L., 2012. Novel endophytic yeast *Rhodotorula mucilaginosa* strain PTD3 I: production of xylitol and ethanol. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 39, 1003–1011.
- Cardona, C.A., Sanchez, O.J., 2007. Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities. *Bioresour. Technol.* 98, 2415–2457.
- Chan, G.F., Gan, H.M., Ling, H.L., Rashid, N.A.A., 2012. Genome sequence of *Pichia kudriavzevii* M12, a potential producer of bioethanol and phytase. *Eukaryot. Cell.* 11, 1300 – 1301.
- Contreras, A., Hidalgo, C., Schmidt, S., Henschke, P.A., Curtin, C., Varela, C., 2015. The application of non-*Saccharomyces* yeast in fermentations with limited aeration as a strategy for the production of wine with reduced alcohol content. *Int. J. Food Microbiol.* 205, 7–15.
- Cordero-Bueso, G., Esteve-Zarzoso, B., Cabellos, J.M., Gil-Díaz, M., Arroyo, T., 2013. Biotechnological potential of non-*Saccharomyces* yeasts isolated during spontaneous fermentations of Malvar (*Vitis vinifera* cv. L.). *Eur. Food Res. Technol.* 236, 193–207.
- Dhaliwal, S.S., Oberoi, H.S., Sandhu, S.K., Nanda, D., Kumar, D., Uppal, S.K., 2011. Enhanced ethanol production from sugarcane juice by galactose adaptation of a newly isolated thermotolerant strain of *Pichia kudriavzevii*. *Bioresour. Technol.* 102, 5968–5975.
- Fonseca, G.G., De Carvalho, N.M.B., Gombert, A.K., 2013. Growth of the yeast *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556 on different sugar combinations as sole carbon and energy source. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 5055–5067.
- Freire, A.L., Ramos, C.L., De Almeida, E.G., Duarte, W.F., Schwan, R.F., 2014. Study of the physicochemical parameters and spontaneous fermentation during the traditional production of *yakupa*, an indigenous beverage produced by Brazilian Amerindians. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 30, 567–577.
- Gomes, F.C.O., Silva, C.L.C., Marini, M.M., Oliveira, E.S., Rosa, C.A., 2007. Use of selected indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains for the production of the traditional cachaça in Brazil. *J. Appl. Microbiol.* 103, 2438–2447.
- Jones, G.V., White, M.A., Cooper, O.R., Storchmann, K., 2005. Climate change and global wine quality. *Clim. Chang.* 73, 319–343.
- Kitagawa, T., Tokuhira, K., Sugiyama, H., Kohda, K., Isono, N., Hisamatsu, M., Takahashi, H., Imaeda, T., 2010. Construction of a β -glucosidase expression system using the multistress-tolerant yeast *Issatchenkia orientalis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 87, 1841–1853.
- Kogan, G., Kocher, A., 2007. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livest. Sci.* 109, 161–165.
- Kumdam, H., Murthy, S.N., Gummadi, S.N., 2013. Production of ethanol and arabitol by *Debaryomyces nepalensis*: influence of process parameters. *AMB Express.* 3, 1-13.

Kurtzman, C.P., Suzuki, M., 2010. *Meyerozyma*. In: Kurtzman, C., Fell, J.W., Boekhout, T. The yeasts: A taxonomic study, 5^o Ed., pp. 621-624.

Limtong, S., Yongmanitchai, W., Kawasaki, H., Fujiyama, K., 2009. *Wickerhamomyces edaphicus* sp. nov. and *Pichia jaroonii* sp. nov., two ascomycetous yeast species isolated from forest soil in Thailand. FEMS Yeast Res. 9, 504–510.

Nascimento, V.M, Silva, L.F., Gomez, J. G. C., Fonseca, G.G., 2016. Growth of *Burkholderia sacchari* LFM 101 cultivated in glucose, sucrose and glycerol. Sci. Agric. 73, 429-433.

Nolleau, V., Preziosi-Belloy, L., Navarro, J.M., 1995. The reduction of xylose to xylitol by *Candida guilliermondii* and *Candida parapsilosis*: incidence of oxygen and pH. Biotechnol. Lett. 17, p.417-422.

Nyanga, L.K., Nout, M.J., Smid, E.J., Boekhout, T., Zwietering, M.H., 2012. Yeasts preservation: alternatives for lyophilisation. World J. Microbiol. Biotechnol. 28, 3239–3244.

Oliveira, A.P.A., Silvestre, M.A., Alves-Prado, H.F., Rodrigues, A., Paz, M.F., Fonseca, G.G., Leite, R.S.R., 2015. Bioprospecting of yeasts for amylase production in solid state fermentation and evaluation of the catalytic properties of enzymatic extracts. Afr. J. Biotechnol. 14, 1215-1223.

Papon, N., Savini, V., Lanoue, A., Simkin, A.J., Crèche, J., Giglioli-Guivarc'h, N., Clastre, M., Courdavault, V., Sibirny, A.A., 2013. *Candida guilliermondii*: biotechnological applications, perspectives for biological control, emerging clinical importance and recent advances in genetics. Curr. Genet. 59, 73-90.

Ramos, C.L., Duarte, W.F., Freire, A.L., Dias, D.R., Eleutherio, E.C.A., Schwan, R.F., 2013. Evaluation of stress tolerance and fermentative behavior of indigenous *Saccharomyces cerevisiae*. Braz. J. Microbiol. 44, 935-944.

Ribeiro, C.A.F., Horii, J., 1999. Potencialidades de linhagens de levedura *Saccharomyces cerevisiae* para a fermentação do caldo de cana. Sci. Agric. 56, 255-263.

Romani, A., Pereira, F., Johansson, B., Domingues, L., 2015. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* ethanol strains PE-2 and CAT-1 for efficient lignocellulosic fermentation. Bioresour. Technol. 179, 150–158.

Shafaghat, H., Najafpour, G.D., Rezaei, P.S., Sharifzadeh, M., 2009. Growth kinetics and ethanol productivity of *Saccharomyces cerevisiae* PTCC 24860 on various carbon sources. World Appl. Sci. J. 7, 140-144.

Silva, C.A.A., Fonseca, G.G., 2016. Brazilian savannah fruits: Characteristics, properties, and potential applications. Food Sci. Biotechnol. 25, 1225-1232.

Silva, S., Negri, M., Henriques, M., Oliveira, R., Williams, D.W., Azeredo, J., 2012. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiol. Rev.* 36, 288–305.

Silva-Filho, E.A., Santos, S.K.B., Resende, A.M., Morais, J.O.F., Morais Júnior, M.A., Simões, D.A., 2005. Yeast population dynamics on industrial fuel ethanol fermentation processes assessed by PCR finger printing. *Anton. Leew.* 88, 13-23.

Silva, R.O., Batistote, M., Cereda, M.P., 2011. Wild strains of fermenting yeast isolated of sugar cane juice from an alcohol distillery from Mato Grosso, Brazil. *J. Biotec. Biodivers.* 2, 22-27.

Teixeira, M.C., Raposo, L.R., Mira, N.P., Lourenço, A.B., Sá-Correia, I., 2009. Genome-wide identification of *Saccharomyces cerevisiae* genes required for maximal tolerance to ethanol. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 5761–5772.

Tronchoni, J., Gamero, A., Arroyo-López, F.N., Barrio, E., Querol, A., 2009. Differences in the glucose and fructose consumption profiles in diverse *Saccharomyces* wine species and their hybrids during grape juice fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* 134, 237–243.

Verduyn, C., Postma, E., Scheffers, W.A., Van Dijken, J.P., 1992. Effect of benzoic acid on metabolic fluxes in yeasts: a continuous-culture study on the regulation of respiration an alcoholic fermentation. *Yeast* 8, 501-517.

Wang, D., Xu, Y., Hu, J., Zhao, G., 2004. Fermentation kinetics of different sugars by the apple wine yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Inst. Brew.* 110, 340–346.

Wang, X., Ike, M., Shiroma, R., Tokuyasu, K., Sakakibara, Y., 2013. Expression of neutral β -glucosidase from *Scytalidium thermophilum* in *Candida glabrata* for ethanol production from alkaline-pretreated rice straw. *J. Biosci. Bioeng.* 116, 362-365.

Wang, X.C., Li, A.H., Dizey, M., Ullah, N., Sun, W.X., Tao, Y.S., 2017. Evaluation of aroma enhancement for “Ecolly” dry white wines by mixed inoculation of selected *Rhodotorula mucilaginosa* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chem.* 228, 550–559.

4 FISILOGIA DE *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1 E DE OUTRAS 13 LEVEDURAS ISOLADAS DA REGIÃO CENTRO-OESTE, CULTIVADAS EM DIFERENTES AÇÚCARES EM ANAEROBIOSE

Resumo: O processo de fermentação de açúcar é realizado por leveduras na ausência de oxigênio, porém nem todas as leveduras conseguem se adaptar nessas condições. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a fisiologia de *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1 e de outras 13 leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, por meio de parâmetros cinéticos obtidos a partir de cultivos com 3 diferentes fontes únicas de carbono (glicose, frutose ou sacarose), em condições de anaerobiose. As linhagens foram cultivadas em meio mineral contendo fonte única de carbono (10 g L^{-1}) à 30°C , com injeção contínua de N_2 puro. Os frascos de cultivos foram conectados com um segundo frasco com $\text{NaOH } 2\text{M}$, que foi utilizado para análises de CO_2 . Açúcares, etanol, glicerol e ácidos orgânicos foram quantificados. Os parâmetros cinéticos avaliados foram velocidade específica de consumo de substrato (μ_S), velocidade específica de crescimento máxima (μ_{max}), tempo de duplicação (TD), fator de conversão de substrato a células ($Y_{X/S}$), fator de conversão de substrato a produtos ($Y_{P/S}$) (etanol, glicerol, acetato e succinato), concentração celular máxima (X_{max}), produtividade de etanol (P_{Eth}), produtividade de biomassa (P_X) e concentração de CO_2 . Em glicose, *S. cerevisiae* CAT-1 se destacou entre as linhagens estudadas, pois apresentou os maiores valores de μ_{max} ($0,35 \text{ h}^{-1}$), μ_S ($3,06 \text{ h}^{-1}$) e P_{Eth} ($0,69 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). *Candida glabrata* Recol 43 e *Candida glabrata* Recol 10 também se destacaram pelo rápido consumo de substrato, formação de etanol e biomassa. *Meyerozyma guilliermondii* Recol 09, *Candida parapsilosis* Recol 12, *Candida parapsilosis* Recol 37 e Isolado Recol 42 apresentaram maiores tempo de cultivo, sendo que para *C. parapsilosis* Recol 37 e o Isolado Recol 42 não houve o consumo total de substrato. Assim como em glicose, *S. cerevisiae* CAT-1 se sobressaiu em relação as demais linhagens em frutose, com valores superiores de μ_{max} ($0,25 \text{ h}^{-1}$), μ_S ($2,24 \text{ h}^{-1}$) e P_{Eth} ($0,60 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). *M. guilliermondii* Recol 09, *C. parapsilosis* Recol 37 e Isolado Recol 42 apresentaram cultivos com mais de 30 h e substrato residual. Apenas as linhagens *S. cerevisiae* CAT-1, *S. cerevisiae* BB9 e *Pichia kudriavzevii* Recol 39 foram capazes de consumir todo o substrato sacarose, apresentando P_{Eth} superiores ($0,72$, $0,51$ e $0,44 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente) em relação as demais fontes de carbono. A incapacidade de consumir todo o substrato indicou a presença do efeito Kluver. Demais metabólitos extracelulares foram detectados em diferentes concentrações.

Palavras-chave: Glicose; Frutose; Sacarose; Efeito kluver.

4.1 INTRODUÇÃO

As leveduras realizam a fermentação do açúcar com o objetivo de conseguir a energia química necessária à sua sobrevivência (Amorim e Leão, 2005). Estas são divididas em três grupos no que diz respeito a capacidade fermentativa: fermentativas obrigatórias, fermentativas

facultativas e não fermentativas (Visser et al., 1990). As fermentativas são capazes de se desenvolver em anaerobiose.

Em anaerobiose, a conversão de 1 mol de açúcar hexose em 2 moles de etanol e 2 moles de CO₂ é uma conversão redox natural. O rendimento máximo teórico é de 0,51 g de etanol por g de açúcar. A produção de etanol industrial opera em 90% do rendimento teórico (Della-Bianca et al., 2013). CO₂, biomassa e glicerol são os maiores subprodutos da fermentação alcoólica (Gombert e Van Maris, 2015), porém nem todas as leveduras são capazes de se desenvolver em condições de anaerobiose (Visser et al., 1990).

Em condições de anaerobiose é necessário a suplementação dos meios com ergosterol/Tween 80, pois sem estes componentes as leveduras não são capazes de sintetizar esteróis e ácidos graxos insaturados (Snoek e Steensma, 2007). A ausência de oxigênio afeta a biossíntese de lipídios e as leveduras são incapazes de completar a biossíntese de ácidos graxos insaturados e ergosterol. A falta desses componentes reduz a área de superfície das membranas até o limite da viabilidade (Salmon, 2006; Deesuth et al., 2016). Além disso, a composição lipídica das membranas está relacionada com a tolerância ao etanol (Mannazzu et al., 2008).

Várias cepas selvagens têm sido isoladas a partir de biorreatores industriais com o objetivo de reintroduzi-las no processo industrial (Morrissey et al., 2004; Salmon, 2006; Basso et al., 2011a). Cepas selvagens podem apresentar melhor desempenho no processo em termos de rendimento de substrato à etanol, robustez e compatibilidade geral com o processo industrial em comparação com linhagens de leveduras que têm sido tradicionalmente utilizadas no setor industrial (Della-Bianca et al., 2013). Além disso, essas linhagens isoladas podem apresentar potencial para outras aplicações biotecnológicas, que não seja apenas a produção de etanol. O estudo fisiológico destas linhagens em anaerobiose pode contribuir para uma melhor compreensão do metabolismo dessas novas linhagens, direcionando de maneira efetiva tais aplicações.

Assim, objetivou-se no presente estudo avaliar a fisiologia de *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1 e de 13 outras leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, por meio de parâmetros cinéticos obtidos em cultivos com 3 diferentes fontes únicas de carbono (glicose, frutose ou sacarose), em anaerobiose.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Microrganismos e manutenção

Utilizaram-se a levedura industrial *S. cerevisiae* Catanduva – 1 (CAT-1), cedida pela Usina São Fernando de Açúcar e Álcool, Dourados, Mato Grosso do Sul (MS), Brasil, e outras 13 leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, sendo 3 leveduras isoladas de mosto industrial no município de Barra do Bugres, Mato Grosso (MT), Brasil (Silva et al., 2011), identificadas como *Pichia kudriavzevii* BB1, *Pichia kudriavzevii* BB2 e *S. cerevisiae* BB9 e 10 leveduras isoladas de frutos diversos em Dourados, MS, Brasil, identificadas como *Rhodotorula mucilaginosa* Recol 03, *Meyerozyma guilliermondii* Recol 09, *Candida glabrata* Recol 10, *Candida parapsilosis* Recol 12 (isoladas de cereja do Rio Grande (*Eugenia involucrata*)), *Candida parapsilosis* Recol 29 (isolada de uvaia (*Eugenia pyriformis*)), *C. parapsilosis* Recol 37 (isolada de pêssego-do mato (*Hexachlamys edulis*)), *Pichia kudriavzevii* Recol 39, *Candida glabrata* Recol 41 (isoladas de acerola (*Malpighia glabra*)), Isolado Recol 42, *Candida glabrata* Recol 43 e *Pichia kudriavzevii* Recol 44 (isoladas de pequi (*Caryocar brasiliense*)).

Alíquotas-estoque de 1 mL das leveduras utilizadas foram obtidas de culturas-estoque mantidas em glicerol 20% (p/v) a -80°C (Fonseca et al., 2013).

4.2.2 Meio mineral para pré-cultivos e cultivos

O meio mineral foi preparado contendo por litro de água destilada: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 5,0 g; KH_2PO_4 , 3,0 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g; 1 mL de elementos-traço (preparada em água desmineralizada, contendo por litro: EDTA, 15 g; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 4,5 g; $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1 g; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,3 g; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,3 g; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,4 g; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4,5 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3,0 g; H_3BO_3 , 1,0 g; KI, 0,1 g), com pH final de 6,0 e autoclavado (121°C, 15 min), posteriormente adicionou-se ao meio 1 mL L⁻¹ de solução filtro-esterilizada de vitaminas (preparada em água desmineralizada, contendo por litro: D-biotina, 0,05 g; pantotenato de cálcio, 1,0 g; ácido nicotínico, 1,0 g; mio-inositol, 25 g; cloreto de tiamina, 1,0 g; piridoxina, 1,0 g; e ácido para-aminobenzóico, 0,20 g) (Verduyn et al., 1992).

4.2.3 Biorreator para cultivos

Frascos de 250 mL foram utilizados como biorreatores. Estes frascos possuíam tampas com duas conexões de aço inoxidável, sendo que em uma foi acoplada agulha para a injeção de gás nitrogênio (N₂) e retirada da amostra por meio de uma seringa estéril. A segunda conexão foi utilizada para interligar, por meio de mangueira de silicone estéril, o frasco do cultivo com um segundo frasco de 250 mL (Apêndice 10). Este último continha 200 mL hidróxido de sódio (NaOH) 2M, que foi utilizado para posteriores análises de dióxido de carbono (CO₂) (Peixoto et al., 2012).

4.2.4 Condições de cultivo

Para o preparo dos experimentos, uma alíquota-estoque foi transferida para 100 mL de meio YPD líquido (extrato de levedura, 10 g L⁻¹; peptona, 20 g L⁻¹; glicose, 20 g L⁻¹), e crescidos por 24 h a 30°C, posteriormente foi inoculada em placa de petri contendo aproximadamente 20 mL de meio YPD (extrato de levedura 10 g L⁻¹, peptona 20 g L⁻¹, glicose 20 g L⁻¹ e ágar 20 g L⁻¹) estéril, por 48 horas a 28°C.

Para os pré-cultivos foi transferido uma alçada de células da placa para um frasco tipo Erlenmeyer (500 mL) contendo 250 mL de meio mineral estéril (Verduyn et al., 1992), com pH ajustado para 6,0. A fonte de carbono, glicose, frutose ou sacarose foi previamente esterilizada separadamente na concentração 10 g L⁻¹ e adicionada ao meio. Em seguida os pré-cultivos foram incubados em agitador orbital (Marconi, Brasil) a 30°C e 200 rpm, em condições de aerobiose, até a obtenção de densidade óptica (DO) ($\lambda= 600\text{nm}$) de 5 ± 1 , medidas em espectrofotômetro (Bioespectro, Brasil). Células foram centrifugadas (ITR, Brasil) (202,9 g, 5 minutos) e ressuspensas em meio mineral.

A partir de uma alíquota de quantidade determinada do pré-cultivo para DO inicial ($\lambda= 600\text{nm}$) de 1,0 os cultivos foram realizados em condições de anaerobiose, em duplicata, em meios idênticos ao do pré-cultivo, nos biorreatores previamente descritos e sem agitação.

As condições de anaerobiose foram mantidas com a injeção contínua de N₂ ultrapuro 5.0 (99,999% de pureza) a 2 mL min⁻¹ ao longo de todo o cultivo (adaptado de Abbott et al., 2007), para o crescimento anaeróbico fez-se necessário o acréscimo de 10 mg L⁻¹ ergosterol e 420 mg L⁻¹ de Tween 80 dissolvidos ao meio, preparados assepticamente (Verduyn et al., 1990, 1992).

Os cultivos principais foram realizados a 30°C em estufa incubadora (Marconi, Brasil) até o total consumo do açúcar ou até que se atingisse 36 h de cultivo. Alíquotas de 3 mL de amostra foram coletadas em intervalos de 0,5 h (em cultivos de até 24 h) ou 1,5 h (em cultivos com mais de 24 h) para a determinação das concentrações de metabólitos extracelulares e da massa celular seca (biomassa).

4.2.5 Quantificação de metabólitos extracelulares e determinações de biomassa

As amostras coletadas foram centrifugadas em micro centrífuga refrigerada (NT805, Brasil) (5 min., 17.609 g, 5°C). O sobrenadante foi utilizado para determinar substrato residual, etanol, glicerol e ácidos orgânicos por cromatografia líquida de ultra eficiência (UHPLC) Agilent 1290, equipado com coluna Rezex ROA – Organic Acid H⁺ (8%) (Phenomenex). A fase móvel utilizada foi ácido trifluoroacético (TFA) a 5 mM, a uma vazão de 0,6 mL min⁻¹, à 55°C e o volume injetado foi de 20 µL. Estes compostos foram detectados por um detector refratômetro diferencial (RID) Agilent 1260, acoplado a um módulo de aquisição de dados (Nascimento et al., 2016).

O sedimento de biomassa obtido após centrifugação da amostra foi seco em estufa de secagem (Marconi, Brasil) (105°C) até peso constante. A massa celular seca (g L⁻¹) foi obtida pelo quociente entre a diferença de peso por volume de meio centrifugado. Biomassa (X) também foi determinada indiretamente através de medições de DO realizadas com um espectrofotômetro (Biospectro, Brasil) a 600 nm. Para este fim, os valores de absorvância medidos foram convertidos em valores de massa utilizando uma relação linear (unidades DO por grama de biomassa seca) determinada para cada experimento.

4.2.6 Determinação de parâmetros cinéticos

A fase exponencial de crescimento foi identificada como a região linear da curva de cinética de crescimento pelo tempo. A velocidade específica de crescimento máxima (μ_{\max}) foi determinada como a inclinação desta reta, e o tempo de duplicação (TD) pelo quociente do $\ln(2)$ pelo μ_{\max} . Avaliou-se a formação máxima de biomassa (X_{\max}), obtida por curva de calibração.

O fator de conversão de substrato a células ($Y_{X/S}$) foi determinado como a inclinação da linha obtida pela plotagem da concentração celular (X) em função da concentração de substrato (S) e o produto (etanol, glicerol, acetato e succinato) ($Y_{P/S}$) a partir da concentração do produto

(P) em relação concentração de substrato (S). A velocidade específica de consumo de substrato (μ_S) foi calculada de acordo com a Equação 4.1:

$$\mu_S = \frac{\mu_{m\acute{a}x}}{Y_{X/S}} \quad \text{Equa\c{c}\~{a}o 4.1}$$

Produtividade de etanol (P_{Eth}) e produtividade de biomassa (P_X) foram calculadas de acordo com as Equa\c{c}\~{o}es 4.2 e 4.3, respectivamente (Ribeiro e Horii, 1999):

$$P_{Eth} = \frac{P_{max} - P_i}{t} \quad \text{Equa\c{c}\~{a}o 4.2}$$

$$P_X = \frac{X_{max} - X_i}{t} \quad \text{Equa\c{c}\~{a}o 4.3}$$

No qual, P_{max} = concentra\c{c}\~{a}o m\acute{a}xima do produto; P_i = concentra\c{c}\~{a}o inicial do produto; t = tempo final de concentra\c{c}\~{a}o m\acute{a}xima; X_{max} = concentra\c{c}\~{a}o celular m\acute{a}xima; X_i = concentra\c{c}\~{a}o celular inicial.

4.2.7 An\acute{a}lise de CO₂ e balan\c{c}o de carbono

A an\acute{a}lise de CO₂ foi realizada por meio de titula\c{c}\~{a}o segundo a metodologia de Peixoto et al. (2012). Foram tituladas duas partes da solu\c{c}\~{a}o de NaOH (2M), sendo uma o controle, armazenada, e a outra utilizada para coleta de CO₂ nos cultivos. Esta \u00faltima teve a quantidade de NaOH reduzida pela passagem de CO₂ (Rea\c{c}\~{a}o 4.1) e sua concentra\c{c}\~{a}o foi determinada pela diferen\c{c}a entre o n\u00famero de mols de OH⁻ presentes na solu\c{c}\~{a}o antes e ap\u00f3s a coleta do g\c{a}s.



Para a titula\c{c}\~{a}o foi adicionado \u00e0 20 mL da solu\c{c}\~{a}o NaOH 2M, 2 gotas de fenolftale\c{a}ina (1%) e titulado com solu\c{c}\~{a}o de \u00e1cido clor\c{a}drico (HCl) 2M. A titula\c{c}\~{a}o ocorreu at\c{e} mudan\c{c}a de colora\c{c}\~{a}o de rosa para incolor.

O balan\c{c}o de carbono foi apresentado em gramas por litro, levando em considera\c{c}\~{a}o a biomassa m\acute{a}xima obtida, metab\u00f3litos e CO₂ formados.

4.2.8 Análises estatística

Os cultivos com glicose, frutose, sacarose e a relação dos três cultivos foram submetidos à Análise de Componentes Principais (PCA) realizado com o software Statistica versão 6.0 (Statsoft, USA) (Ramos et al., 2013). PCA foi aplicado aos parâmetros: velocidade específica de crescimento máxima (μ_{\max}), velocidade específica de consumo de substrato (μ_s), fator de conversão de substrato a célula ($Y_{X/S}$), fator de conversão de substrato em etanol ($Y_{\text{Eth}/S}$), fator de conversão de substrato em glicerol ($Y_{\text{Gli}/S}$), concentração máxima de células formadas (X), produtividade de biomassa (P_X), produtividade de etanol (P_{Eth}) e tempo de cultivo (T).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Cultivos com glicose como fonte única de carbono

Os parâmetros cinéticos obtidos neste estudo com fonte de carbono glicose em condições de anaerobiose são apresentados na Tabela 4.1 e o balanço de carbono na Tabela 4.2.

S. cerevisiae CAT-1 foi a levedura que apresentou a maior velocidade específica de crescimento máxima (μ_{\max}) ($0,35 \text{ h}^{-1}$) e a maior velocidade específica de consumo de substrato (μ_s) ($3,06 \text{ h}^{-1}$). *S. cerevisiae* CAT-1 apresentou $Y_{\text{Eth}/S}$ de $0,38 \text{ gEth gS}^{-1}$ e a maior produtividade dentre as linhagens avaliadas ($0,69 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

C. glabrata Recol 43, *C. parapsilosis* Recol 29 e *C. glabrata* Recol 10 também apresentaram rápido consumo de substrato ($1,69$, $1,40$ e $1,22 \text{ h}^{-1}$, respectivamente), formação de etanol ($0,38$, $0,39$ e $0,37 \text{ gEth gS}^{-1}$, respectivamente) e biomassa ($0,13$, $0,12$ e $0,12 \text{ gMCS gS}^{-1}$, respectivamente). As linhagens que tiveram maior P_{Eth} , apresentaram também a maior P_X .

M. guilliermondii Recol 09, *C. parapsilosis* Recol 12, *C. parapsilosis* Recol 37 e Isolado Recol 42 foram as leveduras que apresentaram os cultivos com maior tempo, sendo que nos cultivos com *C. parapsilosis* Recol 37 e o Isolado Recol 42 não houve o consumo total de substrato, apresentando substrato residual de $5,89$ e $5,01 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente (Tabela 4.2). Além disso, foi observado que essas linhagens apresentaram os menores valores de μ_{\max} ($0,02$ a $0,09 \text{ h}^{-1}$) e μ_s ($0,25$ a $0,93 \text{ h}^{-1}$), indicando menor afinidade ao substrato nas condições analisadas.

É importante destacar que essas linhagens foram capazes de produzir etanol, porém quando avaliada a produtividade de etanol (P_{Eth}) a resposta foi quase nula ($0,04$ a $0,09 \text{ gEth L}^{-1}$

h⁻¹). Quanto à taxa de conversão de substrato à glicerol, essas foram as linhagens que apresentaram maior $Y_{Gli/S}$ (0,04 a 0,17 gGli gS⁻¹).

Em relação a conversão de substrato à acetato e succinato, os resultados indicaram pequena formação desses metabólitos.

Todas a linhagens fecharam balanço de carbono entre 90,30 e 103,80% (Tabela 4.2), com exceção de *S. cerevisiae* BB9 e *C. parapsilosis* Recl 12 que fecharam com 86,10 e 82,4% respectivamente. Isto poderia indicar um maior gasto de carbono e energia, não contabilizados, para a manutenção destas linhagens, mas que não pode ser aqui confirmado. As linhagens que apresentaram menor formação do CO₂, foram as mesmas que não consumiram todo o substrato, *C. parapsilosis* Recl 37 (1,45 g L⁻¹) e o Isolado Recl 42 (1,05 g L⁻¹).

Tabela 4.1. Parâmetros cinéticos dos cultivos realizado com glicose como fonte de carbono com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e *S. cerevisiae* CAT-1, em condições de anaerobiose.

Levedura	μ_{\max} (h ⁻¹)	TD (h)	μ_s (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	$Y_{GH/S}$ (gGli gS ⁻¹)	$Y_{Ac/S}$ (gAc gS ⁻¹)	$Y_{Suc/S}$ (gSuc gS ⁻¹)	X (g L ⁻¹)	P _X (gMCS L ⁻¹ h ⁻¹)	P _{Eth} (gEth L ⁻¹ h ⁻¹)	T (h)
<i>S. c. CAT-1</i>	0,35±0,03	1,95±0,18	3,06±0,20	0,11±0,00	0,38±0,00	0,02±0,00	0,04±0,00	0,002±0,000	1,76±0,17	0,25±0,03	0,69±0,01	5,0
<i>P. k. BB1</i>	0,10±0,00	6,55±0,41	1,16±0,07	0,10±0,00	0,36±0,00	0,02±0,00	0±0	0,004±0,000	1,61±0,04	0,10±0,00	0,41±0,01	9,5
<i>P. k. BB2</i>	0,18±0,00	3,68±0,03	1,65±0,18	0,11±0,01	0,31±0,00	0,03±0,00	0,01±0,00	0,005±0,000	1,63±0,06	0,08±0,00	0,21±0,02	12,5
<i>S. c. BB9</i>	0,10±0,00	6,76±0,00	0,80±0,05	0,08±0,00	0,39±0,02	0,03±0,00	0±0	0,003±0,000	1,57±0,20	0,07±0,00	0,34±0,02	11,0
<i>M. g. Recol 09</i>	0,02±0,00	31,30±0,89	0,34±0,02	0,06±0,00	0,37±0,00	0,07±0,00	0,01±0,00	0,018±0,000	1,45±0,00	0,02±0,00	0,09±0,00	36,0
<i>C. g. Recol 10</i>	0,14±0,04	4,87±0,37	1,22±0,29	0,12±0,00	0,37±0,01	0,02±0,00	0,01±0,00	0,001±0,000	1,67±0,00	0,15±0,00	0,47±0,03	7,5
<i>C. p. Recol 12</i>	0,09±0,01	7,59±0,93	0,93±0,12	0,09±0,00	0,28±0,12	0,04±0,00	0±0	0±0	0,89±0,06	0,01±0,01	0,06±0,01	33,0
<i>C. p. Recol 29</i>	0,16±0,00	4,10±0,13	1,40±0,05	0,12±0,00	0,39±0,02	0,03±0,00	0,02±0,02	0,003±0,000	1,62±0,03	0,16±0,00	0,54±0,00	6,5
<i>C. p. Recol 37</i>	0,02±0,00	29,28±0,57	0,35±0,04	0,06±0,00	0,27±0,02	0,11±0,00	0±0	0±0	0,66±0,05	0±0	0,04±0,00	36,0
<i>P. k. Recol 39</i>	0,13±0,02	5,41±0,20	1,69±0,29	0,07±0,00	0,37±0,01	0,03±0,00	0,02±0,01	0,003±0,000	1,32±0,06	0,07±0,00	0,35±0,01	10,0
<i>C. g. Recol 41</i>	0,20±0,01	3,46±0,24	1,61±0,04	0,12±0,00	0,38±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	0,001±0,000	1,86±0,01	0,14±0,00	0,42±0,00	8,5
<i>Iso Recol 42</i>	0,02±0,00	31,67±1,22	0,25±0,00	0,08±0,00	0,22±0,02	0,17±0,03	0,05±0,05	0±0	0,89±0,02	0±0	0,05±0,01	34,0
<i>C. g. Recol 43</i>	0,22±0,02	3,14±0,30	1,69±0,23	0,13±0,00	0,38±0,01	0,02±0,00	0±0	0,002±0,000	1,91±0,08	0,21±0,00	0,57±0,04	6,0
<i>P. k. Recol 44</i>	0,18±0,02	3,76±0,48	1,64±0,12	0,11±0,00	0,35±0,02	0,03±0,00	0,02±0,00	0,003±0,000	1,50±0,06	0,12±0,00	0,38±0,02	8,0

μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; TD: tempo de duplicação; μ_s : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; $Y_{Gli/S}$: fator de conversão de substrato em glicerol; $Y_{Ac/S}$: fator de conversão de substrato em acetato; $Y_{Suc/S}$: fator de conversão de substrato em succinato; X: concentração máxima de células formadas; MCS: massa celular seca; P_X: produtividade de biomassa; P_{Eth}: produtividade de etanol; T: tempo de cultivo; *S. c. CAT-1*: *S. cerevisiae* CAT-1; *P. k. BB1*: *P. kudriavzevii* BB1; *P. k. BB2*: *P. kudriavzevii* BB2; *S. c. BB9*: *S. cerevisiae* BB9; *M. g. Recol 09*: *M. guilliermondii* Recol 09; *C. g. Recol 10*: *Candida glabrata* Recol 10; *C. p. Recol 12*: *Candida parapsilosis* Recol 12; *C. p. Recol 29*: *C. parapsilosis* Recol 29; *C. p. Recol 37*: *C. parapsilosis* Recol 37; *P. k. Recol 39*: *P. kudriavzevii* 39; *C. g. Recol 41*: *Candida glabrata* Recol 41; *C. g. Recol 43*: *C. glabrata* Recol 43; *P. k. Recol 44*: *P. kudriavzevii* 44; Iso: Isolado.

Dados apresentados com média ± desvio padrão

Tabela 4.2. Balanço de carbono (g L^{-1}) e recuperação de carbono (%) com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e *S. cerevisiae* CAT-1, em condições de anaerobiose, utilizando glicose como substrato.

Levedura	Glicose inicial (g L^{-1})	Glicose residual (g L^{-1})	Biomassa (g L^{-1})	Metabólitos* (g L^{-1})	CO_2 (g L^{-1})	Carbono recuperado (%)
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	-10	0,16±0,01	1,76±0,17	4,07±0,08	3,28±0,17	92,70±1,40
<i>P. kudriavzevii</i> BB1	-10	0,36±0,00	1,61±0,04	5,09±0,04	3,32±0,28	103,80±1,95
<i>P. kudriavzevii</i> BB2	-10	0,35±0,01	1,63±0,06	3,74±0,14	3,31±0,00	90,30±0,95
<i>S. cerevisiae</i> BB9	-10	0,15±0,03	1,57±0,20	2,90±0,10	3,99±0,21	86,10±3,09
<i>M. guilliermondii</i> Recol 09	-10	0,92±0,03	1,45±0,00	4,91±0,08	3,10±0,15	103,80±1,72
<i>C. glabrata</i> Recol 10	-10	0,14±0,00	1,67±0,00	4,13±0,02	3,85±0,15	97,90±0,46
<i>C. parapsilosis</i> Recol 12	-10	0,68±0,01	0,89±0,06	2,57±0,29	4,10±0,03	82,40±1,58
<i>C. parapsilosis</i> Recol 29	-10	0,20±0,02	1,62±0,03	4,13±0,32	3,76±0,09	97,10±3,45
<i>C. parapsilosis</i> Recol 37	-10	5,89±0,51	0,66±0,05	2,29±0,25	1,45±0,06	102,90±1,46
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 39	-10	0,51±0,22	1,32±0,06	4,35±0,16	3,45±0,09	96,30±3,89
<i>C. glabrata</i> Recol 41	-10	0,39±0,00	1,86±0,01	4,12±0,06	3,80±0,03	101,70±1,10
Isolado Recol 42	-10	5,01±0,18	0,89±0,02	3,26±0,25	1,05±0,03	102,19±0,17
<i>C. glabrata</i> Recol 43	-10	0,15±0,03	1,91±0,08	4,47±0,11	3,34±0,24	98,70±0,13
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 44	-10	0,15±0,02	1,50±0,06	4,04±0,14	3,56±0,06	92,50±0,50

Dados apresentados com média \pm desvio padrão.

*Soma das concentrações de etanol, glicerol, acetato e succínico (g L^{-1}).

4.3.2 Cultivos com frutose como fonte única de carbono

Resultados obtidos em frutose como única fonte de carbono em anaerobiose são apresentados na Tabela 4.3 para os parâmetros cinéticos e Tabela 4.4 para o balanço de carbono. Assim como em glicose, *S. cerevisiae* CAT-1 apresentou maiores valores de μ_{max} ($0,25 \text{ h}^{-1}$) e μ_{S} ($2,24 \text{ h}^{-1}$), além disso apresentou $Y_{\text{Eth/S}}$ de $0,40 \text{ gEth gS}^{-1}$ e P_{Eth} de $0,60 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

As linhagens *C. glabrata* Recol 10, *C. parapsilosis* Recol 29, *C. glabrata* Recol 41 e *C. glabrata* Recol 43 também se adaptaram bem às condições analisadas, pois apresentaram μ_{max} entre $0,19$ e $0,22 \text{ h}^{-1}$, μ_{S} entre $1,24$ e $1,97 \text{ h}^{-1}$, $Y_{\text{Eth/S}}$ de $0,37$ a $0,41 \text{ gEth gS}^{-1}$ e P_{Eth} entre $0,51$ e $0,60 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Além disso, *C. parapsilosis* Recol 29, *C. glabrata* Recol 41 e *C. glabrata* Recol 43 foram destaques na produção de biomassa com $Y_{\text{X/S}}$ de $0,13$ a $0,14 \text{ gMCS gS}^{-1}$ e P_{X} de $0,54$ a $0,60 \text{ gEth L}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Com as taxas de $Y_{\text{Eth/S}}$ também é possível observar que *P. kudriavzevii* Recol 39 ($0,43 \text{ gEth gS}^{-1}$) e *S. cerevisiae* BB9 ($0,40 \text{ gEth gS}^{-1}$) apresentaram produção de etanol, com tempos de cultivo de $9,5 \text{ h}$ e $10,5 \text{ h}$, respectivamente.

De acordo com os dados é possível observar que $Y_{Eth/S}$ em cultivos com fonte de carbono frutose (Tabela 4.3) foram superiores que em cultivos com fonte de carbono glicose (Tabela 4.1), exceto para *C. parapsilosis* Reol 29.

C. parapsilosis Reol 12 utilizou 20 h para consumir todo o substrato frutose, enquanto que para glicose foram 33 h nas mesmas condições de cultivo, apresentando em frutose a segunda maior taxa de $Y_{X/S}$ (0,13 gMCS gS⁻¹).

M. guilliermondii Reol 09, *C. parapsilosis* Reol 37 e o Isolado Reol 42 apresentaram cultivos com mais de 30 h e substrato residual (Tabela 4.4), sendo que estas foram as linhagens cujos cultivos apresentaram as maiores taxas de $Y_{Gli/S}$ (0,07 a 0,14 gGli gS⁻¹).

Succinato foi produzido em pequenas quantidades e para a acetado foi observado taxas entre 0,01 e 0,05 gAc gS⁻¹ para algumas linhagens.

Os balanços de carbono nos cultivos com frutose em anaerobiose fecharam entre 90 e 109%. As linhagens que não conseguiram consumir todo o substrato produziram menos CO₂ que as demais.

Tabela 4.3. Parâmetros cinéticos dos cultivos realizado com frutose como fonte de carbono com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e *S. cerevisiae* CAT-1, em condições de anaerobiose.

Levedura	μ_{\max} (h ⁻¹)	TD (h)	μ_s (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	$Y_{Gh/S}$ (gGli gS ⁻¹)	$Y_{Ac/S}$ (gAc gS ⁻¹)	$Y_{Suc/S}$ (gSuc gS ⁻¹)	X (g L ⁻¹)	P _X (gMCS L ⁻¹ h ⁻¹)	P _{Eth} (gEth L ⁻¹ h ⁻¹)	T (h)
<i>S. c. CAT-1</i>	0,25±0,02	2,77±0,28	2,24±0,20	0,11±0,00	0,40±0,00	0,02±0,00	0±0	0,001±0,000	1,39±0,03	0,16±0,01	0,60±0,01	6,0
<i>P. k. BB1</i>	0,10±0,00	6,68±0,31	1,25±0,03	0,08±0,00	0,39±0,00	0,04±0,01	0,02±0,00	0±0	1,39±0,06	0,08±0,00	0,48±0,04	9,0
<i>P. k. BB2</i>	0,07±0,00	9,87±0,95	0,62±0,07	0,11±0,00	0,39±0,01	0,03±0,00	0,03±0,00	0,009±0,003	1,72±0,04	0,09±0,00	0,30±0,02	11,5
<i>S. c. BB9</i>	0,10±0,00	6,72±0,67	1,24±0,07	0,08±0,00	0,40±0,01	0,03±0,00	0,04±0,00	0,004±0,000	1,12±0,12	0,06±0,01	0,35±0,01	9,5
<i>M. g. Recol 09</i>	0,02±0,00	27,67±0,62	0,24±0,00	0,10±0,00	0,38±0,02	0,07±0,00	0,05±0,00	0,021±0,000	1,23±0,01	0,01±0,00	0,06±0,00	33,0
<i>C. g. Recol 10</i>	0,20±0,01	3,44±0,17	1,97±0,07	0,10±0,00	0,40±0,00	0,01±0,00	0,01±0,01	0,002±0,000	1,29±0,08	0,11±0,01	0,51±0,00	7,5
<i>C. p. Recol 12</i>	0,12±0,00	5,77±0,38	0,92±0,13	0,13±0,00	0,29±0,10	0,03±0,00	0±0	0±0	1,66±0,00	0,05±0,00	0,13±0,03	20,0
<i>C. p. Recol 29</i>	0,19±0,01	3,56±0,24	1,30±0,09	0,14±0,00	0,37±0,02	0,01±0,00	0,02±0,01	0,004±0,000	1,90±0,10	0,19±0,01	0,60±0,00	6,0
<i>C. p. Recol 37</i>	0,04±0,00	16,09±0,24	0,70±0,17	0,06±0,00	0,40±0,05	0,09±0,01	0,05±0,01	0±0	0,86±0,00	0±0	0,05±0,00	36,0
<i>P. k. Recol 39</i>	0,09±0,01	7,55±0,83	1,18±0,01	0,07±0,00	0,43±0,00	0,03±0,00	0,06±0,03	0,005±0,000	1,25±0,02	0,06±0,00	0,38±0,01	10,5
<i>C. g. Recol 41</i>	0,20±0,00	3,34±0,03	1,24±0,01	0,13±0,00	0,40±0,01	0,03±0,00	0±0	0,001±0,000	1,94±0,01	0,16±0,00	0,54±0,02	7,0
<i>Iso Recol 42</i>	0,02±0,00	27,99±0,59	0,19±0,00	0,12±0,00	0,44±0,00	0,14±0,00	0±0	0±0	1,49±0,05	0,02±0,00	0,08±0,00	34,0
<i>C. g. Recol 43</i>	0,22±0,00	3,11±0,12	1,56±0,13	0,14±0,00	0,41±0,00	0,01±0,00	0±0	0±0	1,90±0,02	0,18±0,00	0,54±0,00	7,0
<i>P. k. Recol 44</i>	0,18±0,00	3,74±0,30	1,85±0,07	0,10±0,01	0,32±0,02	0,02±0,00	0±0	0,003±0,000	1,59±0,13	0,15±0,01	0,40±0,04	7,5

μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; TD: tempo de duplicação, μ_s : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; $Y_{Gh/S}$: fator de conversão de substrato em glicerol; $Y_{Ac/S}$: fator de conversão de substrato em acetato; $Y_{Suc/S}$: fator de conversão de substrato em succinato; X: concentração máxima de células formadas; MCS: massa celular seca; P_X: produtividade de biomassa; P_{Eth}: produtividade de etanol; T: tempo de cultivo; *S. c. CAT-1*: *S. cerevisiae* CAT-1; *P. k. BB1*: *P. kudriavzevii* BB1; *P. k. BB2*: *P. kudriavzevii* BB2; *S. c. BB9*: *S. cerevisiae* BB9; *M. g. Recol 09*: *M. guilliermondii* Recol 09; *C. g. Recol 10*: *Candida glabrata* Recol 10; *C. p. Recol 12*: *Candida parapsilosis* Recol 12; *C. p. Recol 29*: *C. parapsilosis* Recol 29; *C. p. Recol 37*: *C. parapsilosis* Recol 37; *P. k. Recol 39*: *P. kudriavzevii* 39; *C. g. Recol 41*: *Candida glabrata* Recol 41; *C. g. Recol 43*: *C. glabrata* Recol 43; *P. k. Recol 44*: *P. kudriavzevii* 44; Iso: Isolado.

Dados apresentados com média ± desvio padrão.

Tabela 4.4. Balanço de carbono (g L^{-1}) e recuperação de carbono (%) com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e *S. cerevisiae* CAT-1, em condições de anaerobiose, utilizando frutose como substrato.

Levedura	Frutose inicial (g L^{-1})	Frutose residual (g L^{-1})	Biomassa (g L^{-1})	Metabólitos* (g L^{-1})	CO_2 (g L^{-1})	Carbono recuperado (%)
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	-10	0,21±0,02	1,39±0,03	4,35±0,07	3,54±0,09	94,90±0,03
<i>P. kudriavzevii</i> BB1	-10	0,17±0,02	1,39±0,06	5,31±0,47	3,32±0,09	101,90±3,23
<i>P. kudriavzevii</i> BB2	-10	0,29±0,00	1,72±0,04	4,40±0,36	3,03±0,12	94,40±2,08
<i>S. cerevisiae</i> BB9	-10	0,67±0,12	1,12±0,12	4,41±0,39	3,49±0,03	96,90±2,02
<i>M. guilliermondii</i> Recol 09	-10	4,45±0,89	1,23±0,01	2,85±0,01	1,51±0,03	100,40±3,96
<i>C. glabrata</i> Recol 10	-10	0,25±0,03	1,29±0,08	4,24±0,01	4,24±0,40	100,20±3,02
<i>C. parapsilosis</i> Recol 12	-10	0,21±0,05	1,66±0,00	3,51±0,22	3,52±0,06	90,00±1,06
<i>C. parapsilosis</i> Recol 29	-10	0,21±0,01	1,90±0,10	4,88±0,18	3,36±0,03	103,50±0,43
<i>C. parapsilosis</i> Recol 37	-10	5,75±0,28	0,86±0,00	2,87±0,22	0,96±0,06	104,40±3,81
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 39	-10	0,25±0,00	1,25±0,02	5,40±0,02	3,71±0,03	106,10±0,37
<i>C. glabrata</i> Recol 41	-10	0,22±0,05	1,94±0,01	4,39±0,06	3,56±0,06	101,10±0,65
Isolado Recol 42	-10	3,93±0,32	1,49±0,05	4,43±0,25	1,05±0,09	109,00±1,21
<i>C. glabrata</i> Recol 43	-10	0,31±0,05	1,90±0,02	4,07±0,01	3,45±0,09	97,30±1,44
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 44	-10	0,51±0,01	1,59±0,13	3,97±0,22	3,56±0,06	96,30±3,31

Dados apresentados com média \pm desvio padrão.

*Soma das concentrações de etanol, glicerol, acetato e succinico (g L^{-1}).

4.3.3 Cultivos com sacarose como fonte única de carbono

Os parâmetros cinéticos de cultivos com sacarose em anaerobiose são apresentados na Tabela 4.5 e os balanços de carbono na Tabela 4.6.

Para a fonte de carbono sacarose apenas *S. cerevisiae* CAT-1, *S. cerevisiae* BB9 e *P. kudriavzevii* Recol 39 foram capazes de consumir todo o substrato. Essas cinéticas levaram 5,5, 9,5 e 9 h, respectivamente. As três linhagens se mostraram adaptadas ao substrato sacarose, pois apresentaram valores para μ_{max} , μ_{S} e $Y_{\text{X/S}}$ similares aos demais cultivos, com $Y_{\text{Eth/S}}$ de 0,43, 0,41 e 0,35 gEth gS^{-1} , respectivamente, atingindo P_{Eth} de 0,72, 0,51 e 0,44 $\text{gEth L}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectivamente.

As demais linhagens avaliadas não foram capazes de consumir todo o substrato e apresentaram substrato residual (Tabela 4.6). Dentre essas, *P. kudriavzevii* BB1, *M. guilliermondii* Recol 09, *C. parapsilosis* Recol 12 e Isolado Recol 42 apresentaram formação de biomassa e produção de etanol (Tabela 4.5), porém em pequenas quantidades. Para *P. kudriavzevii* BB1 restou apenas 2,96 g L^{-1} de substrato residual e apresentou $Y_{\text{Eth/S}}$ de 0,26 gEth gS^{-1} .

As linhagens *C. glabrata* Recol 10 e *P. kudriavzevii* Recol 44 apresentaram $Y_{X/S}$ de 0,10 e 0,09 gMCS gS⁻¹, respectivamente, direcionando seu gasto energético para a formação de biomassa, já que a produção de etanol foi quase nula.

P. kudriavzevii BB2, *C. parapsilosis* Recol 37 e *C. glabrata* Recol 43 não apresentaram formação de metabólitos extracelulares e biomassa consideráveis (Tabela 4.6). Aparentemente essas linhagens não conseguiram se adaptar às condições analisadas.

Quanto a formação de CO₂ (Tabela 4.6), as linhagens *S. cerevisiae* CAT-1, *S. cerevisiae* BB9 e *P. kudriavzevii* Recol 39 apresentaram conteúdos de 3,49 a 3,87 g L⁻¹, enquanto *P. kudriavzevii* BB1 e *C. glabrata* Recol 10 a formação de 2,68 e 2,66 g L⁻¹, respectivamente. Nas demais linhagens a formação de CO₂ foi menor que 1,06 g L⁻¹.

Tabela 4.5. Parâmetros cinéticos dos cultivos realizado com sacarose como fonte de carbono com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e *S. cerevisiae* CAT-1, em condições de anaerobiose.

Levedura	μ_{\max} (h ⁻¹)	TD (h)	μ_s (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (gMCS gS ⁻¹)	$Y_{Eth/S}$ (gEth gS ⁻¹)	$Y_{Gli/S}$ (gGli gS ⁻¹)	$Y_{Ac/S}$ (gAc gS ⁻¹)	$Y_{Suc/S}$ (gSuc gS ⁻¹)	X (g L ⁻¹)	P _X (gMCS L ⁻¹ h ⁻¹)	P _{Eth} (gEth L ⁻¹ h ⁻¹)	T (h)
<i>S. c. CAT-1</i>	0,328±0,01	2,11±0,11	2,08±0,15	0,15±0,00	0,43±0,02	0,03±0,00	0,01±0,00	0,001±0,000	2,06±0,00	0,24±0,01	0,72±0,05	5,5
<i>P. k. BB1</i>	0,027±0,00	24,93±1,45	0,24±0,02	0,11±0,00	0,26±0,02	0,01±0,00	0±0	0±0	1,29±0,06	0,02±0,00	0,06±0,00	33,0
<i>P. k. BB2</i>	0,007±0,00	93,68±1,79	0,15±0,05	0,05±0,01	0,06±0,03	0±0	0±0	0±0	0,70±0,02	0±0	0±0	33,0
<i>S. c. BB9</i>	0,149±0,00	4,62±0,04	1,29±0,11	0,11±0,01	0,41±0,02	0,03±0,00	0,02±0,00	0,004±0,000	1,70±0,09	0,13±0,04	0,51±0,01	9,5
<i>M. g. Recol 09</i>	0,015±0,00	45,63±1,69	0,15±0,00	0,09±0,00	0,53±0,02	0,08±0,00	0,02±0,01	0,022±0,000	1,22±0,03	0,01±0,00	0,08±0,00	34,0
<i>C. g. Recol 10</i>	0,078±0,00	8,87±0,40	0,75±0,00	0,10±0,00	0±0	0±0	0,08±0,00	0±0	0,91±0,08	0,01±0,00	0±0	32,5
<i>C. p. Recol 12</i>	0,027±0,00	25,48±0,00	0,22±0,01	0,12±0,00	0,38±0,05	0,04±0,01	0,06±0,00	0±0	1,30±0,12	0,02±0,02	0,01±0,00	36,0
<i>C. p. Recol 29</i>	0,011±0,00	63,06±0,83	0,26±0,01	0,04±0,00	0,27±0,02	0±0	0±0	0±0	0,60±0,01	0±0	0,01±0,00	30,0
<i>C. p. Recol 37</i>	0,004±0,00	158,26±1,50	0,73±0,06	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0,65±0,01	0±0	0±0	34,0
<i>P. k. Recol 39</i>	0,151±0,00	4,57±0,16	1,58±0,03	0,09±0,00	0,35±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	0,001±0,000	2,02±0,03	0,14±0,00	0,44±0,01	9,0
<i>C. g. Recol 41</i>	0,005±0,00	126,19±6,48	0,16±0,01	0,03±0,00	0,22±0,00	0±0	0±0	0±0	0,65±0,01	0±0	0±0	34,0
Iso Recol 42	0,039±0,00	17,71±0,37	0,31±0,00	0,12±0,01	0,42±0,05	0,05±0,00	0,12±0,02	0±0	1,25±0,00	0,01±0,00	0,05±0,00	34,0
<i>C. g. Recol 43</i>	0,043±0,00	16,13±0,87	0,98±0,19	0,04±0,00	0,01±0,00	0,01±0,01	0,01±0,01	0±0	0,86±0,02	0,01±0,00	0±0	32,0
<i>P. k. Recol 44</i>	0,011±0,00	60,08±0,38	0,12±0,01	0,09±0,00	0,01±0,00	0,00±0,00	0±0	0±0	0,85±0,00	0±0	0±0	30,0

μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; TD: tempo de duplicação; μ_s : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; $Y_{Gli/S}$: fator de conversão de substrato em glicerol; $Y_{Ac/S}$: fator de conversão de substrato em acetato; $Y_{Suc/S}$: fator de conversão de substrato em succinato; X: concentração máxima de células formadas; MCS: massa celular seca; P_X: produtividade de biomassa; P_{Eth}: produtividade de etanol; T: tempo de cultivo; *S. c. CAT-1*: *S. cerevisiae* CAT-1; *P. k. BB1*: *P. kudriavzevii* BB1; *P. k. BB2*: *P. kudriavzevii* BB2; *S. c. BB9*: *S. cerevisiae* BB9; *M. g. Recol 09*: *M. guilliermondii* Recol 09; *C. g. Recol 10*: *Candida glabrata* Recol 10; *C. p. Recol 12*: *Candida parapsilosis* Recol 12; *C. p. Recol 29*: *C. parapsilosis* Recol 29; *C. p. Recol 37*: *C. parapsilosis* Recol 37; *P. k. Recol 39*: *P. kudriavzevii* 39; *C. g. Recol 41*: *Candida glabrata* Recol 41; *C. g. Recol 43*: *C. glabrata* Recol 43; *P. k. Recol 44*: *P. kudriavzevii* 44; Iso: Isolado.

Dados apresentados com média ± desvio padrão.

Tabela 4.6. Balanço de carbono (g L^{-1}) e recuperação de carbono (%) com diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste e com *S. cerevisiae* CAT-1, em condições de anaerobiose, utilizando sacarose como substrato.

Levedura	Sacarose inicial (g L^{-1})	Sacarose residual (g L^{-1})	Biomassa (g L^{-1})	Metabólitos* (g L^{-1})	CO_2 (g L^{-1})	Carbono recuperado (%)
<i>S. cerevisiae</i> CAT-1	-10	0,41±0,12	2,06±0,00	4,62±0,02	3,87±0,18	109,60±1,21
<i>P. kudriavzevii</i> BB1	-10	2,96±0,69	1,29±0,06	2,28±0,14	2,68±0,18	92,10±2,97
<i>P. kudriavzevii</i> BB2	-10	8,21±0,41	0,70±0,02	0,21±0,04	0,52±0,06	96,40±3,73
<i>S. cerevisiae</i> BB9	-10	0,18±0,03	1,70±0,09	5,36±0,27	3,49±0,03	107,30±1,24
<i>M. guilliermondii</i> Recol 09	-10	5,29±0,03	1,22±0,03	3,97±0,27	0,50±0,03	109,80±3,11
<i>C. glabrata</i> Recol 10	-10	5,90±0,15	0,91±0,08	0,94±0,02	2,66±0,26	104,10±3,17
<i>C. parapsilosis</i> Recol 12	-10	7,94±0,21	1,30±0,12	1,09±0,14	0,46±0,03	107,90±3,11
<i>C. parapsilosis</i> Recol 29	-10	7,08±0,02	0,60±0,01	0,86±0,08	0,94±0,03	104,83±2,08
<i>C. parapsilosis</i> Recol 37	-10	8,68±0,34	0,65±0,01	0,01±0,00	0,39±0,06	98,20±8,30
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 39	-10	0,14±0,00	2,02±0,03	4,54±0,24	3,65±0,06	103,50±1,71
<i>C. glabrata</i> Recol 41	-10	8,18±0,38	0,65±0,01	0,33±0,01	0,52±0,02	96,80±1,42
Isolado Recol 42	-10	5,71±0,03	1,25±0,00	2,82±0,06	0,39±0,01	101,70±1,30
<i>C. glabrata</i> Recol 43	-10	7,31±0,34	0,86±0,02	0,14±0,06	1,06±0,00	103,70±2,71
<i>P. kudriavzevii</i> Recol 44	-10	8,07±0,77	0,85±0,00	0,17±0,03	0,46±0,03	95,50±1,79

Dados apresentados com média \pm desvio padrão.

*Soma das concentrações de etanol, glicerol, acetato e succinico (g L^{-1}).

4.4 DISCUSSÃO

4.4.1 Cultivos com glicose ou frutose como fontes únicas de carbono

Com base nos cultivos de glicose foi possível observar a formação de biomassa, etanol, glicerol, acetato e succinato, sendo que estes dois últimos em apenas algumas linhagens (Tabelas 4.1 e 4.3).

Na literatura são reportados estudos em anaerobiose com a linhagem industrial *S. cerevisiae* PE-2. Della-Bianca et al. (2014) avaliando os parâmetros cinéticos dessa linhagem em pH 5, com meio sintético e fonte de carbono glicose (20 g L^{-1}), obtiveram $Y_{X/S}$ 0,11 ($\text{g MCS g glicose}^{-1}$), corroborando os dados desse trabalho, pois a linhagem *S. cerevisiae* CAT-1 apresentou valor idêntico para $Y_{X/S}$, a partir desse açúcar.

Ainda com *S. cerevisiae* PE-2 é reportado na literatura um estudo utilizando meio YPD, 20 g L^{-1} , em anaerobiose, no qual foram obtidos os resultados: μ_{\max} $0,45 \text{ h}^{-1}$, $Y_{X/S}$ $0,15 \text{ g MCS g glicose}^{-1}$, $Y_{\text{Gli}/S}$ $0,05 \text{ g glicerol g glicose}^{-1}$ e $Y_{\text{Eth}/S}$ $0,45 \text{ g etanol g glicose}^{-1}$ (Della-Bianca et al., 2014). Os valores obtidos no estudo de Della-Bianca et al. (2014) foram superior ao obtido

nesse estudo com *S. cerevisiae* CAT-1 (μ_{\max} 0,35 h⁻¹, $Y_{X/S}$ 0,11 gMCS gS⁻¹, $Y_{Gli/S}$ 0,02 gGli gS⁻¹ e $Y_{Eth/S}$ 0,38 gEth gS⁻¹), porém YPD é um meio rico em nutrientes para leveduras, justificando as maiores taxas, porém próximas aos dados obtidos em meio mineral com *S. cerevisiae* CAT-1.

S. cerevisiae CEN.PK113-7D foi avaliada em anaerobiose com injeção de 0,5 L h⁻¹ de N₂ em cultivos com meio sintético com 15 g L⁻¹ de glicose e foram obtidos para μ_{\max} 0,319 h⁻¹, μ_s de 2,425 h⁻¹, $Y_{X/S}$ de 0,13 gMCS gS⁻¹ e X de 1,97 g L⁻¹ (Zakhartsev et al., 2015), valores que corroboram os obtidos nesse estudo.

O crescimento lento das linhagens *M. guilliermondii* Recol 09 e *C. parapsilosis* Recol 12, *C. parapsilosis* Recol 37 e Isolado Recol 42 e até mesmo a falta do consumo total dos substratos por *C. parapsilosis* Recol 37 e Isolado Recol 42 em glicose e em condições de anaerobiose (Tabela 4.1) podem indicar a necessidade de uma quantidade limitada de oxigênio (Visser et al., 1990).

S. cerevisiae CBS 1171, *Candida utilis* CBS 621, *Torulaspota delbrueckii* CBS 1146 e *Candida tropicalis* CBS 94 foram avaliadas em anaerobiose, com substrato glicose (Visser et al., 1990). Nessa avaliação, as linhagens *C. utilis*, *T. delbrueckii* e *C. tropicalis* apresentaram crescimento lento, com μ_{\max} de 0,01, 0,03 e 0,05 h⁻¹, respectivamente e $Y_{X/S}$ de 0,03, 0,06 e 0,07 g g glicose⁻¹, respectivamente, valores esses próximos ao encontrados no presente estudo com as linhagens *M. guilliermondii* Recol 09, *C. parapsilosis* Recol 12, *C. parapsilosis* Recol 37 e Isolado Recol 42 (Tabela 4.1). Ainda sobre o estudo de Visser et al. (1990), *S. cerevisiae* apresentou capacidade de crescimento em condições anaeróbicas, pois verificou-se μ_{\max} de 0,40 h⁻¹ e $Y_{X/S}$ de 0,10 g g glicose⁻¹.

Dekkera bruxellensis CBS 11270 é uma linhagem descrita na literatura como anaeróbia facultativa, porém não foi observado crescimento em meio mineral sob anaerobiose completa, porém quando foi adicionado quantidade limitada de oxigênio, a mesma foi capaz de consumir o substrato e produzir etanol (Blomqvist et al., 2012). Oxigênio mesmo em baixos níveis, provavelmente, pode resolver problemas redox que as células possam ter sob estritas condições anaeróbicas em meio mineral (Visser et al. 1990; Blomqvist et al., 2012).

A formação de glicerol é característica em cultivos anaeróbicos. Glicerol é o terceiro maior subproduto da fermentação alcoólica, depois da produção de CO₂ e biomassa (Gombert e Van Maris, 2015). Em culturas anaeróbicas de *S. cerevisiae*, o glicerol formado é descrito como

um dissipador de redox para reoxidação do excesso NADH que é formado nas reações biossintéticas (Van Dijken e Scheffers, 1986).

Glicerol também é formado pela produção de biomassa, assim a formação de glicerol em anaerobiose também está relacionada ao crescimento (Van Dijken e Scheffers, 1986), já que a formação de glicerol é essencial para reoxidar o NADH resultante do crescimento a partir de açúcares (Gombert e Van Maris, 2015), confirmando a formação de biomassa nos cultivos em anaerobiose desse estudo.

As taxas de formação de glicerol foram maiores com a linhagem *M. guilliermondii* Recol 09, *C. parapsilosis* Recol 37 e Isolado Recol 42 (em substrato glicose e frutose, valores entre 0,07 e 0,14 gGli gS⁻¹), que apresentaram cultivos com pelo menos 30 h, assim a maior formação de glicerol nessas linhagens, pode estar ligada a função protetora exercida pelo glicerol para as células em resposta à alta pressão osmótica (Fonseca et al., 2013) que pode ocorrer no processo, além disso a formação de glicerol é um dos parâmetros da fermentação alcoólica que indica o grau de estresse microbiano (Deesuth et al., 2016).

É estimado que 4 a 8% dos açúcares consumidos pela levedura são desviados para formação de glicerol (Basso et al., 2011a), corroborando a concentração de glicerol formado em anaerobiose nesse estudo que com substrato glicose apresentou entre 2,4 e 7,0% e com frutose entre 1,3 e 8,0%.

O consumo mais rápido de frutose por *C. parapsilosis* Recol 12, quando comparado com glicose, pode ser explicado pela via de conversão da frutose na fase preparatória da glicólise, que pode ser fosforilada pela hexoquinase ou pela enzima frutoquinase, que catalisa a fosforilação da frutose (Nelson e Cox, 2014) ou pela utilização das duas vias simultaneamente.

Taxas de $Y_{Eth/S}$ superiores em frutose podem ocorrer devido a menor produção de biomassa e/ou glicerol (Tabela 4.3) em relação aos cultivos de glicose (Tabela 4.1). Qualquer redução na produção de biomassa e formação de glicerol vai resultar no aumento de rendimento do etanol (Gombert e Van Maris, 2015).

4.4.2 Cultivos com sacarose como fonte única de carbono

A utilização do açúcar sacarose pelas leveduras é um dos mais importantes nos processos industriais, visto que sacarose é a principal matéria-prima utilizada para a produção de bebidas e álcool combustível (Stambuk et al., 2000).

Os cultivos com fonte de carbono sacarose em anaerobiose foram eficientes apenas para as linhagens *S. cerevisiae* CAT-1, *S. cerevisiae* BB9 e *P. kudriavzevii* Recol 39, enquanto que as demais linhagens não foram capazes de consumir todo o substrato em cultivos com mais de 30 h. Isso pode ser explicado pelo efeito Kluver, no qual leveduras respiro-fermentativas são capazes de fermentar certos dissacarídeos em aerobiose, mas não em anaerobiose (Kluver e Custers, 1940). Leveduras podem apresentar efeito Kluver para alguns açúcares e para outros não, *i.e.* o efeito Kluver está associado a combinação de espécies de leveduras e de açúcares (Fukuhara, 2003).

No caso de efeito Kluver, a levedura não fermenta e não cresce em certos açúcares na ausência de oxigênio (Fukuhara, 2003) ou apresenta uma baixa taxa no transporte e metabolismo de certos açúcares (Goffrini et al., 2002), como ocorrido neste estudo com algumas linhagens sendo cultivadas por pelo menos 30 h.

Uma proposta para o efeito Kluver é a necessidade de oxigênio para a captação do açúcar pela linhagem (Barnett, 1992), além do nível das enzimas da fermentação (piruvato descarboxilase), que pode estar muito baixo para manter o crescimento fermentativo (Sims e Barnett, 1991). Ainda nesse estudo Sims e Barnett (1991) avaliaram que as linhagens de leveduras que apresentam efeito Kluver tiveram menor atividade da enzima piruvato descarboxilase comparada com as que não apresentaram.

Muitas linhagens de leveduras apresentam efeito Kluver para sacarose (Kaliterna et al., 1995). Em uma avaliação com 137 leveduras respiro-fermentativas, 31 foram descritas por não serem capazes de fermentar essa fonte de carbono em condições de anaerobiose (Barnett et al., 1990).

S. cerevisiae é descrita como Kluver negativa (Fukuhara, 2003; Snoek e Steensma, 2007) e em cultivos com sacarose em condições de anaerobiose não houve inibição da fermentação (Basso et al., 2011b), assim como nesse estudo com as linhagens *S. cerevisiae* CAT-1, *S. cerevisiae* BB9, além de *P. kudriavzevii* Recol 39. Essa característica nessas linhagens pode ser em função do metabolismo predominante, no qual metaboliza a sacarose por meio de hidrólise extracelular através de invertase. A hidrólise extracelular produz glicose e frutose, que entram na célula por difusão facilitada através de transportadores da família de genes *HXT* (Kaliterna et al., 1995; Basso et al., 2011b). As invertases são traduzidas a partir dos genes da família *SUC* e o gene *SUC2* é descrito por estar presente em todas as leveduras do gênero *Saccharomyces*.

S. cerevisiae também podem hidrolisar sacarose intracelularmente, mesmo em anaerobiose (Basso et al., 2011b) por transporte ativo, no qual a sacarose é captada diretamente através do co-transporte com íons H^+ , pelos transportadores Malx1p e Agt1p, e hidrolisada internamente por ação da invertase intracelular ou maltase (Stambuk et al., 2000).

Na literatura são descritos para *S. cerevisiae* CEN.PK113-7D valores de $Y_{Eth/S}$ 0,38 (g de etanol g de sacarose) (Basso et al., 2011b). Os valores de $Y_{Eth/S}$ corroboram os obtidos nas linhagens *S. cerevisiae* CAT-1 e *S. cerevisiae* BB9 (0,43 e 0,41 gEth gS⁻¹, respectivamente).

4.4.3 Análise de Componentes Principais (PCA)

4.4.3.1 PCA para cultivos com glicose

A PCA foi aplicada para diferenciar as linhagens cultivadas com glicose utilizando os parâmetros cinéticos. A análise de PCA para glicose resultou em um modelo de dois componentes principais que descreveu 87,24% da variação total dos dados. O primeiro componente principal (PC1) apresentou um autovalor de 8,34% e representou 75,88% da variabilidade dos dados no conjunto e o segundo (PC2) com autovalor de 1,24%, representando 11,36% da variabilidade dos dados. De acordo com Kaiser (1960), apenas os autovalores de $\geq 1,0$ são considerados significativos da variância dos dados.

A Tabela 4.7 apresenta a carga das variáveis para os dois componentes principais (PC1 e PC2). Os parâmetros P_X , P_{Eth} , T (h) e X apresentaram cargas elevadas para PC1 ($>0,95$), enquanto PC2 enfatizou μ_{max} , S_{res} e CO_2 .

Tabela 4.7. Carga das variáveis baseadas em correlações, para os dois principais componentes (PC1 e PC2) em glicose.

Variáveis	PC1	PC2
μ_{max}	0,8568	-0,4555
μ_s	0,8316	-0,4026
$Y_{X/S}$	0,8057	-0,2778
$Y_{Eth/S}$	0,8187	0,4067
$Y_{Gli/S}$	-0,8716	-0,3272
T (h)	-0,9286	0,0508
P_X	0,9185	-0,3199
P_{Eth}	0,9259	-0,1948
X	0,9109	0,1322
S_{res}	-0,8534	-0,4281
CO_2	0,8484	0,4320

*As cargas mais significativas para cada PC estão destacadas em negrito.

μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_s : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; $Y_{Glic/S}$: fator de conversão de substrato em glicerol; X : concentração máxima de células formadas; P_X : produtividade de biomassa; P_{Eth} : produtividade de etanol; T : tempo de cultivo; CO_2 : dióxido de carbônico; S_{res} : substrato residual.

A Figura 4.1 apresenta a projeção dos dados de comparação PC1 x PC2, que revelou 4 grupos distintos. *C. glabrata* 37 e Isolado Recol 42 foram influenciadas pela presença de substrato residual. *M. guilliermondii* Recol 09 e *C. parapsilosis* Recol 12 resposta pelo tempo de tempo de cultivo, pois essas linhagens levaram 36 e 33 h, respectivamente para o total consumo do substrato. *S. cerevisiae* CAT-1 foi separada dos demais grupos correlacionados aos maiores valores de produtividades (P_X e P_{Eth}) e μ_{\max} , μ_s e $Y_{X/S}$. Além disso, houve formação de um grande grupo com as demais linhagens indicando adaptação as condições de cultivos fermentativos.

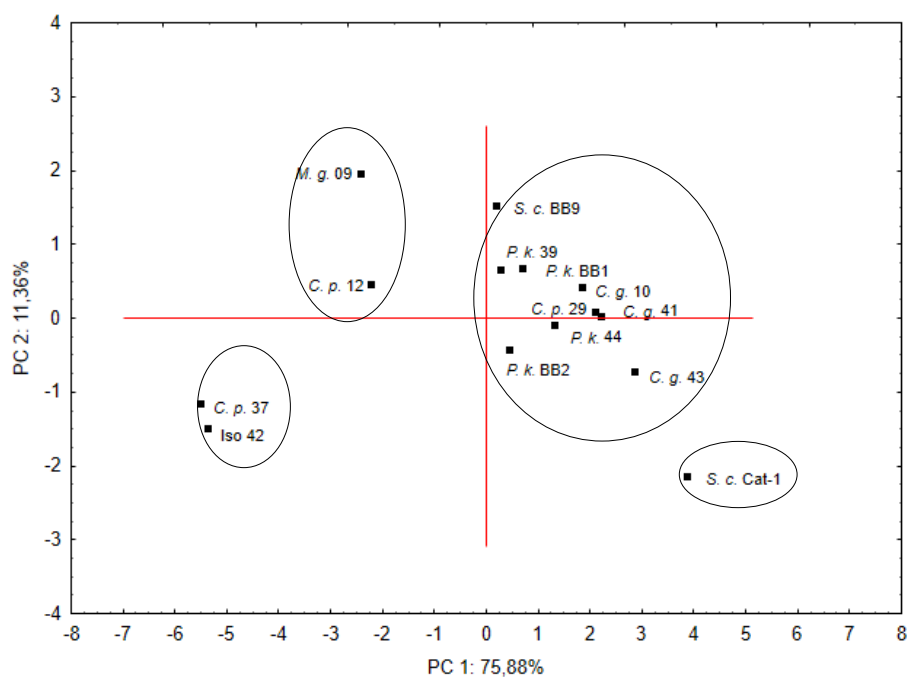


Figura 4.1. Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros cinéticos em glicose de *S. cerevisiae* CAT-1 e outras 13 diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, em planos formados por eixos de PC1 e PC2.

S. c. CAT-1: *S. cerevisiae* CAT-1; *P. k. BB1*: *P. kudriavzevii* BB1; *P. k. BB2*: *P. kudriavzevii* BB2; *S. c. BB9*: *S. cerevisiae* BB9; *M. g. 09*: *M. guilliermondii* Recol 09; *C. g. 10*: *C. glabrata* Recol 10; *C. p. 12*: *C. parapsilosis* Recol 12; *C. p. 29*: *C. parapsilosis* Recol 29; *C. p. 37*: *C. parapsilosis* Recol 37; *P. k. 39*: *P. kudriavzevii* Recol 39; *C. g. 41*: *C. glabrata* Recol 41; *C. g. 43*: *C. glabrata* Recol 43; *P. k. 44*: *P. kudriavzevii* Recol 44; Iso 42: Isolado Recol 42.

4.4.3.2 PCA para cultivos com frutose

Para frutose, a análise de PCA resultou em um modelo de dois componentes principais que descreveu 80,50% da variação total dos dados. O primeiro componente principal (PC1)

apresentou um autovalor de 7,19% e representou 65,41% da variabilidade dos dados e o segundo componente (PC2) com autovalor de 1,66%, representou 15,09% da variabilidade dos dados.

Os parâmetros μ_{\max} , T (h), P_X , P_{Eth} e S_{res} apresentaram as cargas mais influentes para PC1 e para PC2 foram os parâmetros $Y_{X/S}$ e X (Tabela 4.8).

Tabela 4.8. Carga das variáveis baseadas em correlações, para os dois componentes principais (PC1 e PC2) em frutose.

Variáveis	PC1	PC2
μ_{\max}	0,9131	0,0274
μ_S	0,8169	0,4268
$Y_{X/S}$	0,4883	-0,8191
$Y_{\text{Eth}/S}$	-0,2020	0,3356
$Y_{\text{Gli}/S}$	-0,8852	-0,1530
T (h)	-0,9515	-0,2081
P_X	0,9225	-0,1627
P_{Eth}	0,9200	0,1850
X	0,6424	-0,7288
S_{res}	-0,9079	-0,0557
CO_2	0,8895	0,1774

*As cargas mais significativas para cada PC estão destacadas em negrito.

μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_S : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{\text{Eth}/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; $Y_{\text{Gli}/S}$: fator de conversão de substrato em glicerol; X: concentração máxima de células formadas; P_X : produtividade de biomassa; P_{Eth} : produtividade de etanol; T: tempo de cultivo; CO_2 : dióxido de carbônico; S_{res} : substrato residual.

A comparação dos dados PC1 x PC2 está apresentado na Figura 4.2. Nesta PCA foi formado 6 grupos distintos. *C. glabrata* Recol 41, *C. glabrata* Recol 43 e *C. parapsilosis* Recol 29 formaram um grupo relacionado a produção de biomassa (X, P_X e $Y_{X/S}$). *C. glabrata* Recol 10, *P. kudriavzevii* Recol 44, *P. kudriavzevii* BB1 e *S. cerevisiae* CAT-1 formaram um grupo positivamente influenciado pelos parâmetros μ_{\max} , μ_S , CO_2 e P_{Eth} . *P. kudriavzevii* Recol 39 e *S. cerevisiae* BB9 formaram um grupo pela formação de etanol, porém com produtividade de etanol menores quando comparada com o grupo de *S. cerevisiae* CAT-1. *M. guilliermondii* Recol 09 e Isolado Recol 42 foram agrupadas pelos parâmetros de tempo de cultivo (superior a 30 h) e $Y_{\text{Gli}/S}$. Por fim, *P. kudriavzevii* BB2 e *C. parapsilosis* Recol 12 foram agrupadas devido o tempo de cultivo de 11,5 e 20 h de cultivos, respectivamente, e *C. parapsilosis* Recol 37 ficou isolada dos outros pontos.

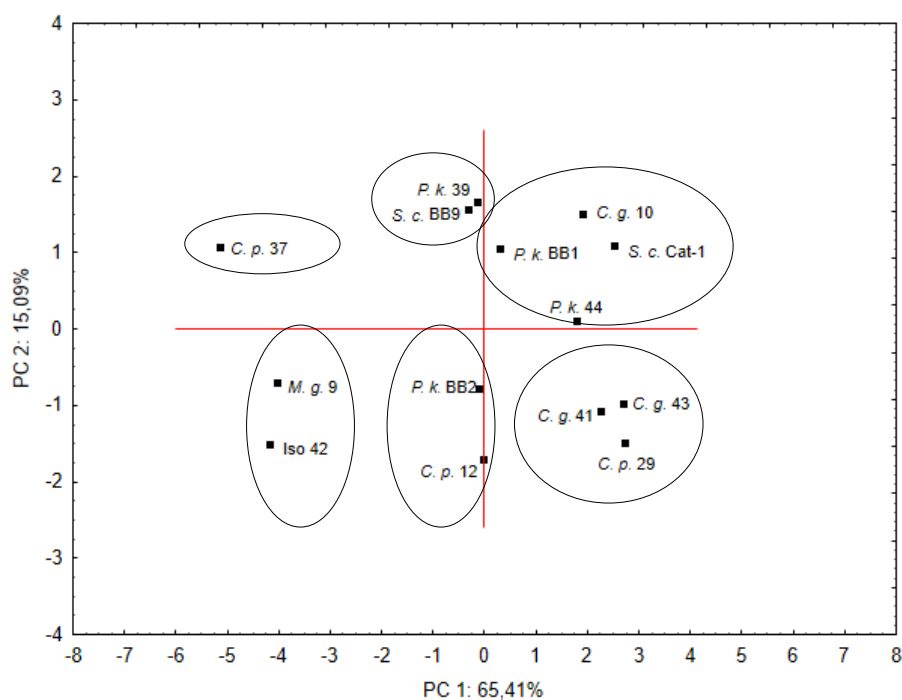


Figura 4.2. Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros cinéticos em frutose de *S. cerevisiae* CAT-1 e outras 13 diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, em planos formados por eixos de PC1 e PC2.

S. c. CAT-1: *S. cerevisiae* CAT-1; *P. k.* BB1: *P. kudriavzevii* BB1; *P. k.* BB2: *P. kudriavzevii* BB2; *S. c.* BB9: *S. cerevisiae* BB9; *M. g.* 09: *M. guilliermondii* Recl 09; *C. g.* 10: *C. glabrata* Recl 10; *C. p.* 12: *C. parapsilosis* Recl 12; *C. p.* 29: *C. parapsilosis* Recl 29; *C. p.* 37: *C. parapsilosis* Recl 37; *P. k.* 39: *P. kudriavzevii* Recl 39; *C. g.* 41: *C. glabrata* Recl 41; *C. g.* 43: *C. glabrata* Recl 43; *P. k.* 44: *P. kudriavzevii* Recl 44; Iso 42: Isolado Recl 42.

4.4.3.3 PCA para cultivos com sacarose

A análise de PCA com cultivos com sacarose resultou em um modelo de dois componentes principais que descreveu 89,08% da variação total dos dados. O primeiro componente principal (PC1) apresentou um autovalor de 7,80% e representou 70,96% da variabilidade dos dados no conjunto e o segundo (PC2) com autovalor de 1,99%, representou 18,12% da variabilidade dos dados.

A Tabela 4.9 apresenta a carga das variáveis para os dois componentes principais (PC1 e PC2).

Tabela 4.9. Carga das variáveis baseadas em correlações, para os dois componentes principais (PC1 e PC2) em sacarose.

Variáveis	PC1	PC2
μ_{\max}	0,9394	0,1850
μ_S	0,8538	0,3981
$Y_{X/S}$	0,6997	-0,4781
$Y_{Eth/S}$	0,5785	-0,7251
$Y_{Gli/S}$	0,3227	-0,8990
T (h)	-0,9152	-0,2871
P_X	0,9698	0,1312
P_{Eth}	0,9731	0,1010
X	0,9466	-0,2023
S_{res}	-0,9406	0,02329
CO ₂	0,8715	0,29308

*As cargas mais significativas para cada PC estão destacadas em negrito.

μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_S : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; $Y_{Gli/S}$: fator de conversão de substrato em glicerol; X: concentração máxima de células formadas; P_X : produtividade de biomassa; P_{Eth} : produtividade de etanol; T: tempo de cultivo; CO₂: dióxido de carbônico; S_{res} : substrato residual.

Para essa análise, as linhagens formaram 4 grupos. *S. cerevisiae* CAT-1, *S. cerevisiae* BB9 e *P. kudriavzevii* Recl 39 formaram um grupo influenciado positivamente pelos parâmetros μ_{\max} , μ_S , $Y_{Eth/S}$, CO₂, P_X e P_{Eth} . Outro grupo foi formado por *P. kudriavzevii* BB1, Isolado Recl 42 e *C. parapsilosis* Recl 12. Essas linhagens apresentaram tempo de cultivo acima de 30 h e baixo consumo de substrato. *P. kudriavzevii* BB1 ficou isolada das demais linhagens, pois apesar do tempo de cultivo elevado (33 h), consumiu 70% do substrato inicial e produziu biomassa e etanol. As demais linhagens formaram um grupo relacionado a presença de substrato residual e tempos longos de cultivo.

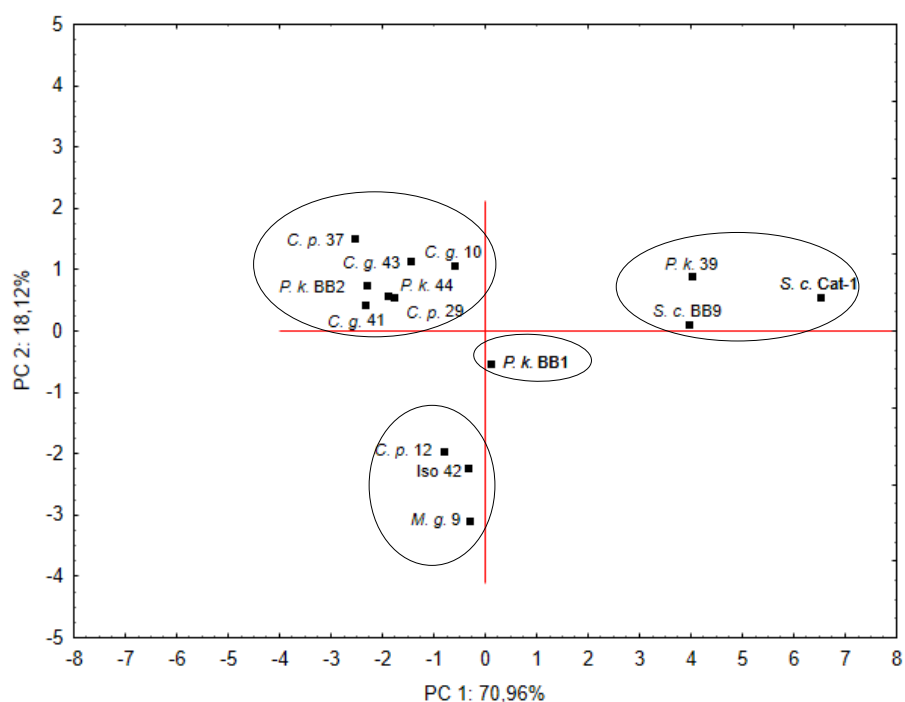


Figura 4.3. Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros cinéticos em sacarose de *S. cerevisiae* CAT-1 e outras 13 diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, em planos formados por eixos de PC1 e PC2.

S. c. CAT-1: *S. cerevisiae* CAT-1; *P. k.* BB1: *P. kudriavzevii* BB1; *P. k.* BB2: *P. kudriavzevii* BB2; *S. c.* BB9: *S. cerevisiae* BB9; *M. g.* 09: *M. guilliermondii* Recol 09; *C. g.* 10: *C. glabrata* Recol 10; *C. p.* 12: *C. parapsilosis* Recol 12; *C. p.* 29: *C. parapsilosis* Recol 29; *C. p.* 37: *C. parapsilosis* Recol 37; *P. k.* 39: *P. kudriavzevii* Recol 39; *C. g.* 41: *C. glabrata* Recol 41; *C. g.* 43: *C. glabrata* Recol 43; *P. k.* 44: *P. kudriavzevii* Recol 44; Iso 42: Isolado Recol 42.

4.4.3.4 PCA para cultivos com glicose, frutose e sacarose

Com o intuito de agrupar as linhagens com melhor adaptação aos três substratos, realizou-se uma análise simultânea de PCA com todas as linhagens e substratos (glicose, frutose e sacarose).

A PCA com cultivos com os três substratos gerou um modelo de dois componentes principais que descreveu 82,40% da variação total dos dados. O primeiro componente principal (PC1) apresentou um autovalor de 7,52% e representou 68,44% da variabilidade dos dados no conjunto e o segundo (PC2) com autovalor de 1,53%, representando 13,96% da variabilidade dos dados.

A Tabela 4.10 apresenta a carga das variáveis para os dois componentes principais (PC1 e PC2).

Tabela 4.10. Carga das variáveis baseadas em correlações, para os dois componentes principais (PC1 e PC2) em glicose, frutose e sacarose.

Variáveis	PC1	PC2
μ_{\max}	0,9231	-0,1742
μ_s	0,8586	-0,3048
$Y_{X/S}$	0,7047	0,3746
$Y_{Eth/S}$	0,5891	0,65045
$Y_{Gli/S}$	-0,2267	0,8495
T (h)	-0,9314	0,1979
P_X	0,9468	-0,1182
P_{Eth}	0,9588	-0,0731
X	0,8831	0,2097
S_{res}	-0,9010	-0,1562
CO_2	0,8765	0,0095

*As cargas mais significativas estão destacadas em negrito.

μ_{\max} : velocidade específica de crescimento máxima; μ_s : velocidade específica de consumo de substrato; $Y_{X/S}$: fator de conversão de substrato a célula; $Y_{Eth/S}$: fator de conversão de substrato em etanol; $Y_{Gli/S}$: fator de conversão de substrato em glicerol; X: concentração máxima de células formadas; P_X : produtividade de biomassa; P_{Eth} : produtividade de etanol; T: tempo de cultivo; CO_2 : dióxido de carbônico; S_{res} : substrato residual.

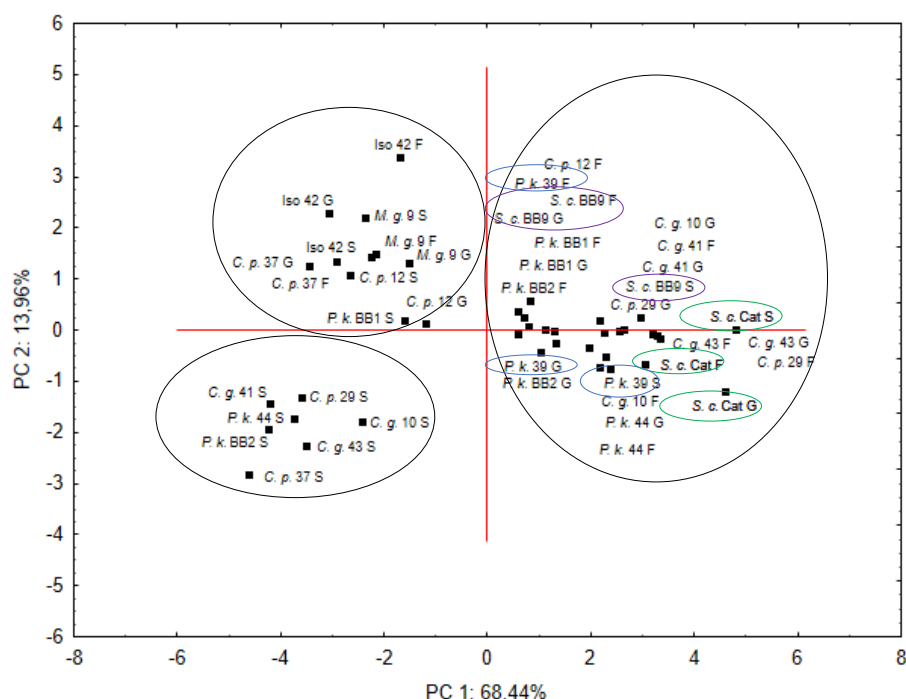


Figura 4.4. Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros cinéticos em glicose, frutose e sacarose de *S. cerevisiae* CAT-1 e outras 13 diferentes leveduras isoladas da Região Centro-Oeste, em planos formados por eixos do PC1 e PC2.

S. c. CAT-1: *S. cerevisiae* CAT-1; *P. k. BB1*: *P. kudriavzevii* BB1; *P. k. BB2*: *P. kudriavzevii* BB2; *S. c. BB9*: *S. cerevisiae* BB9; *M. g. 09*: *M. guilliermondii* Recol 09; *C. g. 10*: *C. glabrata* Recol 10; *C. p. 12*: *C. parapsilosis* Recol 12; *C. p. 29*: *C. parapsilosis* Recol 29; *C. p. 37*: *C. parapsilosis* Recol 37; *P. k. 39*: *P. kudriavzevii* Recol 39; *C. g. 41*: *C. glabrata* Recol 41; *C. g. 43*: *C. glabrata* Recol 43; *P. k. 44*: *P. kudriavzevii* Recol 44; Iso 42: Isolado Recol 42.

Com esta análise de PCA foram observados 3 grupos. Importante destacar que apenas *S. cerevisiae* CAT-1, *S. cerevisiae* BB9 e *P. kudriavzevii* Recol 39 ficaram no mesmo grupo com as 3 fontes de carbono, grupo este influenciado pelos parâmetros μ_{\max} , μ_S , $Y_{X/S}$, $Y_{\text{Eth}/S}$, X , CO_2 , P_X e P_{Eth} que indicam adaptação ao substrato analisado.

CONCLUSÃO

S. cerevisiae CAT-1 apresentou melhor desempenho dentre as linhagens estudadas, em todos os substratos, corroborando seu potencial industrial.

Em frutose, a taxa de conversão de substrato a etanol foi superior para todas as linhagens, devido a via de entrada da frutose na via glicolítica.

M. guilliermondii Recol 09, *C. parapsilosis* Recol 12, *C. parapsilosis* Recol 37 e Isolado Recol 42 apresentaram menor potencial biotecnológico por apresentarem cultivos com maior tempo, tanto em substrato glicose como em frutose.

S. cerevisiae CAT-1, *S. cerevisiae* BB9 e *P. kudriavzevii* Recol 39 apresentaram potencial biotecnológico, pois foram as únicas linhagens entre as avaliadas que se adaptaram ao substrato sacarose em anaerobiose, além disso, também se desenvolveram em glicose e frutose. As demais linhagens possivelmente apresentam efeito Kluyver.

REFERÊNCIAS

- Abbott, D.A., Knijnenburg, T.A., Poorter, L.M.L., Reinders, M.J.T., Pronk, J.T., Van Maris, A.J.A., 2007. Generic and specific transcriptional responses to different weak organic acids in anaerobic chemostat cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Yeast Res. 7, 819–833.
- Amorim, H., Leão, R.M., 2005. Fermentação alcoólica: ciência e tecnologia. Fermentec, Piracicaba.
- Barnett, J.A., 1992. Some controls on oligosaccharide utilization by yeasts: the physiological basis of the Kluyver effect. FEMS Microbiol. Lett. 79, 371-378.
- Barnett, J.A., Payne, R.W., Yarrow, D., 1990. Yeasts: Characteristics and Identification. 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge.
- Basso, L.C., Basso, T.O., Rocha, S.N., 2011a. Ethanol production in Brazil: The industrial process and its impact on yeast fermentation. In: Bernardes, M.A.S. Biofuel Production-Recent Developments and Prospects. Editora: Intech, pp. 85-100.

Basso, T.O.; De Kok, S., Dario, M., Espírito-Santo, J.C.A., Muller, G., Schlong, P.S., Silva, C.P., Tonso, A., Daran, J., Gombert, A.K., Maris, A.J.A.V., Pronk, J.T., Stambuk, B.U., 2011b. Engineering topology and kinetics of sucrose metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* for improved ethanol yield. *Metab. Eng.* 13, 694–703.

Blomqvist, J., Nogué, V.S., Gorwa-Grauslund, M., Passoth, V., 2012. Physiological requirements for growth and competitiveness of *Dekkera bruxellensis* under oxygen limited or anaerobic conditions. *Yeast* 29, 265–274.

Della-Bianca, B.E., Basso, T.O., Stambuk, B.U., Basso, L.C., Gombert, A.K., 2013. What do we know about the yeast strains from the Brazilian fuel ethanol industry? *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 979-991.

Della-Bianca, B.E., Hulster, E., Pronk, J.T., Van Maris, A.J.A., Gombert, A.K., 2014. Physiology of the fuel ethanol strain *Saccharomyces cerevisiae* PE-2 at low pH indicates a context-dependent performance relevant for industrial applications. *FEMS Yeast Res.* 8, 1196–1205.

Deesuth, O., Laopaiboon, P., Laopaiboon, L., 2016. High ethanol production under optimal aeration conditions and yeast composition in a very high gravity fermentation from sweet sorghum juice by *Saccharomyces cerevisiae*. *Ind. Crops Prod.* 92, 263–270.

Fonseca, G.G., De Carvalho, N.M.B., Gombert, A.K., 2013. Growth of the yeast *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556 on different sugar combinations as sole carbon and energy source. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 5055–5067.

Fukuhara, H., 2003. The Kluyver effect revisited. *FEMS Yeast Res.* 3, 327-331.

Goffrini, P., Ferrero, I., Donnini, C., 2002. Respiration-dependent utilization of sugars in yeasts: a determinant role for sugar transporters. *J. Bacteriol.* 184, 427–432.

Gombert, A.K., Van Maris, A.J.A., 2015. Improving conversion yield of fermentable sugars into fuel ethanol in 1st generation yeast-based production processes. *Curr. Opin. Biotechnol.* 33, 81–86.

Kaliterna, J., Weusthuis, R.A., Castrillo, J.I., Van Dijken, J.P., Pronk, J.T., 1995. Coordination of sucrose uptake and respiration in the yeast *Debaryomyces yamadae*. *Microbiology* 141, 1567-1574.

Kaiser, H.F., 1960. The application of electronic computers to factors analysis. *Educ. Psychol. Meas.* 20, 141-151.

Kluyver, A.J., Custers, M.T.J., 1940. The suitability of disaccharides as respiratory and assimilation substrates for yeasts which do not ferment these sugars. *Anton. Leeuw.* 6, 121-162.

Mannazzu, I., Angelozzi, D., Belviso, S., Budroni, M., Farris, G. A., Goffrini, P., Lodi, T., Marzona, M., Bardi, L., 2008. Behaviour of *Saccharomyces cerevisiae* wine strains during

adaptation to unfavourable conditions of fermentation on synthetic medium: Cell lipid composition, membrane integrity, viability and fermentative activity. *Int. J. Food Microbiol.* 121, 84–91.

Morrissey, W.F., Davenport, B., Querol, A., Dobson, A.D.W., 2004. The role of indigenous yeasts in traditional Irish cider fermentations. *J. Appl. Microbiol.* 97, 647–655.

Nascimento, V.M, Silva, L.F., Gomez, J. G. C., Fonseca, G.G., 2016. Growth of *Burkholderia sacchari* LFM 101 cultivated in glucose, sucrose and glycerol. *Sci. Agric.* 73, 429-433.

Nelson, D.L.; Cox, M.M., 2014. Principles of Biochemistry of Lehninger. 6th ed. W. H. Freeman and Company, New York.

Peixoto, C.R.M., Rosa, G.R., Silva, C.N., Santos, B.T., Engelmann, T.L., 2012. Miniprojeto para ensino de química geral experimental baseado na fermentação do caldo de cana-de-açúcar. *Quím. Nova* 35, 1686-1691.

Ramos, C.L., Duarte, W.F., Freire, A.L., Dias, D.R., Eleutherio, E.C.A., Schwan, R.F., 2013. Evaluation of stress tolerance and fermentative behavior of indigenous *Saccharomyces cerevisiae*. *Braz. J. Microbiol.* 44, 935-944.

Ribeiro, C.A.F., Horii, J., 1999. Potencialidades de linhagens de levedura *Saccharomyces cerevisiae* para a fermentação do caldo de cana. *Sci. Agric.* 56, 255-263.

Salmon, J.M., 2006. Interactions between yeast, oxygen and polyphenols during alcoholic fermentations: Practical implications. *LWT* 39, 959–965.

Silva, R.O., Batistote, M., Cereda, M.P., 2011. Wild strains of fermenting yeast isolated of sugar cane juice from an alcohol distillery from Mato Grosso, Brazil. *J. Biotec. Biodivers.* 2, 22-27.

Sims, A.P., Barnett, J.A., 1991. Levels of activity of enzymes involved in anaerobic utilization of sugars by six yeast species: observations towards understanding the Kluyver effect. *FEMS Microbiol Lett.* 61, 295-298.

Snoek, I.S.I., Steensma, H.Y., 2007. Factors involved in anaerobic growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 24, 1–10.

Stambuk, B.U., Batista, A.S., Araujo, P.S., 2000. Kinetics of active sucrose transport in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biosci. Bioeng.* 2, 212-214.

Van Dijken J.P., Scheffers, W.A., 1986. Redox balances in the metabolism of sugars by yeasts. *FEMS Microbiol. Lett.* 32, 199-224.

Verduyn, C., Postma, E., Scheffers, W.A., Van Dijken, J.P., 1992. Effect of benzoic acid on metabolic fluxes in yeasts: a continuous-culture study on the regulation of respiration an alcoholic fermentation. *Yeast* 8, 501-517.

Verduyn, C., Postma, E., Scheffers, W.A., Van Dijken, J.P., 1990. Physiology of *Saccharomyces cerevisiae* in anaerobic glucose limited chemostat cultures. J. Gen. Microbiol. 136, 395- 403.

Visser, W., Scheffers, W.A., Van Der Vegte, W.H.B., Van Dijken, J.P., 1990. Oxygen requirements of yeasts. Appl. Environ. Microbiol. 56, 3785-3792.

Zakharov, M., Yang, X., Reuss, M., Pörtner, H.O., 2015. Metabolic efficiency in yeast *Saccharomyces cerevisiae* in relation to temperature dependent growth and biomass yield. J Therm. Biol. 52, 117-129.

CONCLUSÃO GERAL

Os parâmetros cinéticos, apesar de sua simplicidade comparada a outras ferramentas para a avaliação fisiológica de microrganismos, são de grande valia para uma melhor compreensão acerca do metabolismo microbiano. A compilação de dados cinéticos obtidos a partir de cultivos de leveduras em meio mineral contendo diferentes açúcares, somada à uma *clusterização* sistêmica dos dados, utilizando-se ferramentas estatísticas, permitiu-nos sumarizar diversas conclusões a respeito da fisiologia de diferentes espécies *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces*.

A respeito do trabalho experimental, destaca-se:

Frutose foi um substrato que apresentou comportamento distinto, pois em aerobiose todas as linhagens se desenvolveram, enquanto que em anaerobiose as linhagens apresentaram maior formação de etanol do que em glicose. Isso provavelmente ocorreu devido à via de entrada da frutose na glicólise. Porém ainda são poucos os trabalhos realizados com esse açúcar.

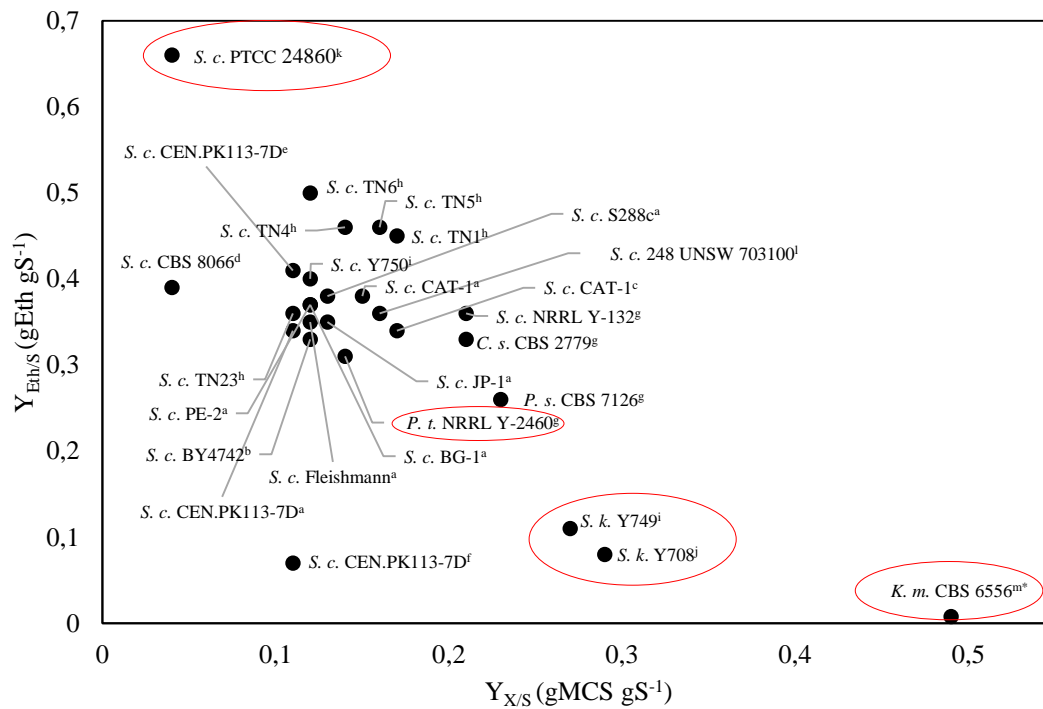
Para produção de biomassa *C. parapsilosis* Recol 29 foi a linhagem que apresentou maior potencial, tanto em cultivos em aerobiose com frutose, como em anaerobiose com glicose e frutose.

M. guilliermondii Recol 09, *C. parapsilosis* Recol 12, *C. parapsilosis* Recol 37 e Isolado Recol 42 não são indicadas as condições de anaerobiose, pois não se desenvolveram em nenhum dos substratos analisados.

S. cerevisiae CAT- 1, *S. cerevisiae* BB9 e *P. kudriavzevii* Recol 39 apresentaram potencial biotecnológico, pois foram as únicas linhagens que se adaptaram aos 3 substratos analisados (glicose, frutose e sacarose) em condições de anaerobiose.

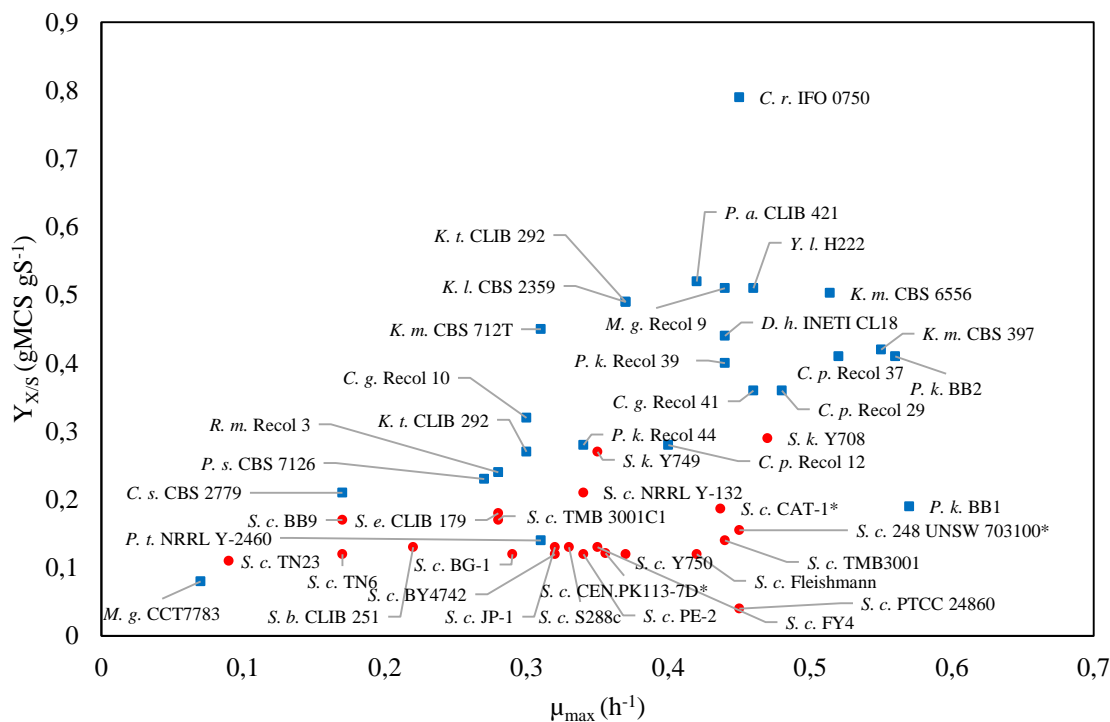
APÊNDICES

Apêndice 1: Relação de $Y_{X/S}$ e $Y_{Eth/S}$ com substrato glicose, em aerobiose e 30°C (Capítulo 2).



S. c.: *Saccharomyces cerevisiae*; *S. k.*: *Saccharomyces kluyveri*; *P. t.*: *Pachysolen tannophilus*; *P. s.*: *Pichia stipitis*; *K. m.*: *Kluyveromyces marxianus*; ^aDella-Bianca e Gombert, 2013; ^bVelagapudi et al., 2006; ^cNascimento, 2016; ^dCot et al., 2007; ^eKümmel et al., 2010; ^fRaghevendran et al., 2004; ^gLigthelm et al., 1988; ^hNissen et al., 2000; ⁱMøller et al., 2001; ^jMøller et al., 2002; ^kShafaghat et al., 2009; ^lBarford e Hall, 1981; ^mFonseca et al., 2013; *Calculado.

Apêndice 2: Relação de $Y_{X/S}$ e μ_{\max} com substrato glicose, em aerobiose e 30°C (Capítulo 2).



C. g.: *Candida glabrata*; *C. p.*: *Candida parapsilosis*; *C. r.*: *Candida rugosa*; *C. s.*: *Candida shehatae*; *D. h.*: *D. hansenii*; *K. l.*: *Kluyveromyces lactis*; *K. m.*: *Kluyveromyces marxianus*; *K. t.*: *Kluyveromyces thermotolerans*; *M. g.*: *Meyerozyma guilliermondii*; *R. m.*: *Rhodotorula mucilaginosa*; *S. c.*: *Saccharomyces cerevisiae*; *S. b.*: *Saccharomyces bayanus* var *uvarum*; *S. k.*: *Saccharomyces kluyveri*; *S. e.*: *Saccharomyces exiguus*; *P. a.*: *Pichia angusta*; *P. k.*: *P. kudriavzevii*; *P. s.*: *Pichia stipitis*; *P. t.*: *Pachysolen tannophilus*; *Y. l.*: *Yarrowia lipolytica*; Bakker et al., 2000; Barford e Hall, 1981; Bellaver et al., 2004; Camargo, 2013; Christen e Sauer, 2011; Cot et al., 2007; Della-Bianca e Gombert, 2013; Fonseca et al., 2007; Fonseca et al., 2013; Gombert et al., 2001; Jansen et al., 2005; Ligthelm et al., 1988; Martini et al., 2016; Møller et al., 2001; Møller et al., 2002; Nascimento, 2016; Nobre et al., 1999; Orłowski e Barford, 1991; Raghevendran et al., 2004; Rocha et al., 2011; Shafaghat et al., 2009; Sonderegger e Sauer, 2003; Van Maris et al., 2001; Velagapudi et al., 2006; *Dados calculados através da média dos resultados obtidos pelos autores; Leveduras *Saccharomyces* (●); Leveduras não-*Saccharomyces* (■).

Apêndice 3. Dados experimentais referentes às cinéticas de crescimento e consumo de substratos com frutose, em aerobiose (Capítulo 3).

Fru: Frutose; X: Concentração de células; Eth: Etanol; Gli: Glicerol; Ac: Acetato; *S. c.* CAT-1: *S. cerevisiae* CAT-1; *P. k.* BB1: *P. kudriavzevii* BB1; *P. k.* BB2: *P. kudriavzevii* BB2; *S. c.* BB9: *S. cerevisiae* BB9; *M. g.* Recol 09: *M. guilliermondii* Recol 09; *C. g.* Recol 10: *Candida glabrata* Recol 10; *C. p.* Recol 12: *Candida parapsilosis* Recol 12; *C. p.* Recol 29: *C. parapsilosis* Recol 29; *C. p.* Recol 37: *C. parapsilosis* Recol 37; *P. k.* Recol 39: *P. kudriavzevii* 39; *C. g.* Recol 41: *Candida glabrata* Recol 41; *C. g.* Recol 43: *C. glabrata* Recol 43; *P. k.* Recol 44: *P. kudriavzevii* 44; Iso Recol 42: Isolado Recol 42.

Tempo (h)	<i>S. c.</i> Cat-1 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10	0	0	0	0
1	9,430	0,023	0,188	0	0
2	8,671	0,032	0,101	0,026	0
3	9,190	0,051	0,241	0,060	0
3,5	8,642	0,070	0,402	0,052	0,025
4	8,823	0,080	0,499	0,061	0
4,5	8,758	0,102	0,572	0,129	0
5	8,642	0,133	0,553	0,152	0
5,5	8,302	0,165	0,686	0,195	0
6	7,582	0,207	0,745	0,237	0
6,5	7,659	0,256	0,879	0,310	0
7	7,064	0,313	0,842	0,390	0,023
7,5	6,450	0,374	1,357	0,511	0,054
8	5,412	0,446	1,687	0,609	0,032
8,5	4,703	0,650	1,704	0,741	0,084
9	3,519	0,855	1,937	0,868	0,090
9,5	1,793	1,003	2,494	0,864	0,108
10	0,878	1,196	2,864	1,048	0,121
10,5	0,265	1,341	2,153	1,026	0,110
11	0,231	1,414	2,982	1,050	0,127
11,5	0,199	1,444	2,928	1,000	0,123
12	0,194	1,405	3,089	1,002	0,129

Tempo (h)	<i>P. k.</i> BB1 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0	0	0	0
1	9,547	0,049	0	0	0
2	9,519	0,073	0,057	0	0
3	9,446	0,128	0,080	0,033	0
3,5	9,390	0,169	0	0	0
4	9,215	0,220	0	0	0
4,5	8,643	0,269	0,082	0,056	0
5	9,292	0,332	0,166	0,091	0,078
5,5	7,374	0,397	0,275	0,122	0,200
6	7,947	0,472	0,506	0,147	0,098
6,5	6,985	0,787	0,706	0,229	0,298
7	5,981	1,101	1,035	0,344	0,261
7,5	3,995	1,340	1,017	0,444	0
8	3,310	1,731	1,487	0,582	0
8,5	1,961	1,485	1,956	0,796	0
9	0,751	1,855	2,279	1,037	0
9,5	0,296	1,923	3,010	1,080	0
10	0,157	1,959	2,422	0,861	0
10,5	0	1,965	0	0	0

Tempo (h)	<i>P. k.</i> BB1 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0,050	0	0	0
1	9,486	0,053	0	0	0
2	9,358	0,076	0	0	0
3	9,366	0,113	0	0	0
3,5	9,254	0,145	0	0	0
4	9,232	0,178	0	0	0
4,5	9,061	0,239	0	0,027	0
5	8,967	0,297	0,029	0,027	0
5,5	8,643	0,365	0,127	0,055	0
6	8,696	0,435	0,069	0,092	0,080
6,5	7,953	0,625	0,303	0,152	0,094
7	7,374	0,815	0,640	0,237	0,211
7,5	6,605	1,098	0,731	0,320	0,327
8	5,595	1,245	1,039	0,464	0,086
8,5	4,126	1,435	1,653	0,683	0,098
9	2,634	1,629	2,029	0,838	0,209
9,5	1,108	1,848	2,628	1,039	0,205
10	0,326	1,949	3,026	1,090	0,396
10,5	0,161	1,991	2,670	0,998	0,241
11	0,141	1,968	2,882	0,869	0,071
11,5	0,139	2,065	2,608	0,756	0
12	0,115	2,069	2,591	0,572	0
12,5	0,115	2,034	2,591	0,347	0

Tempo (h)	R. m. Recol 03 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0,050	0	0	0
1	9,841	0,056	0	0	0
2	9,568	0,067	0	0	0
3	8,515	0,091	0	0	0
3,5	8,604	0,099	0	0	0
4	7,934	0,113	0	0	0
4,5	7,814	0,127	0	0	0
5	8,293	0,150	0	0	0
5,5	7,774	0,172	0	0	0
6	7,326	0,193	0	0	0
6,5	6,599	0,212	0	0	0
7	7,167	0,238	0	0	0
7,5	7,187	0,265	0	0	0
8	7,166	0,303	0	0	0
8,5	7,114	0,335	0	0	0
9	7,114	0,371	0	0	0
9,5	7,128	0,401	0	0	0
10	6,752	0,433	0	0	0
10,5	6,746	0,464	0	0	0
11	5,931	0,698	0	0	0
11,5	5,007	0,931	0	0	0
12	5,116	0,966	0	0	0
12,5	4,690	1,044	0	0	0
13	4,556	1,129	0	0	0
13,5	4,587	1,214	0	0	0
14	4,361	1,289	0	0	0
14,5	4,225	1,365	0	0	0
15	3,414	1,536	0	0	0
15,5	3,661	1,623	0	0	0
16	2,726	1,676	0	0	0
16,5	1,652	1,791	0	0	0
17	0,625	1,758	0	0	0

Tempo (h)	M. g. Recol 09 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0,050	0	0	0
1	9,519	0,066	0	0	0
2	9,444	0,086	0	0	0
3	9,343	0,127	0	0	0
3,5	9,337	0,144	0	0	0
4	9,252	0,175	0	0	0
4,5	9,357	0,211	0	0	0
5	9,353	0,251	0	0	0
5,5	9,284	0,298	0	0	0
6	8,884	0,344	0	0	0
6,5	9,074	0,403	0	0	0
7	8,654	0,463	0	0	0
7,5	8,588	0,669	0	0	0
8	7,795	0,875	0,147	0	0
8,5	7,475	1,025	0,150	0	0
9	7,090	1,113	0,341	0	0
9,5	7,168	1,253	0,205	0	0
10	7,658	1,349	0,308	0	0
10,5	5,790	1,468	0,265	0	0
11	6,114	1,608	1,054	0	0
11,5	3,647	1,698	0,457	0	0
12	1,664	1,784	0,315	0	0
12,5	1,604	1,874	0,411	0	0
13	1,103	1,913	0	0	0
13,5	0,785	2,005	1,188	0	0
14	1,598	2,095	1,386	0	0
14,5	0,456	2,131	0,945	0	0
15	0,557	2,184	2,071	0	0
15,5	0,367	2,094	1,945	0	0

Tempo (h)	C. g. Recol 10 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0,050	0	0	0
1	9,748	0,060	0	0	0
2	9,716	0,070	0,082	0	0
3	9,597	0,088	0,144	0,028	0
3,5	7,492	0,100	0,169	0,028	0
4	9,180	0,120	0,267	0,079	0
4,5	9,169	0,143	0,239	0,119	0
5	9,014	0,172	0,328	0,144	0
5,5	7,971	0,206	0,312	0,147	0
6	6,264	0,247	0,448	0,139	0
6,5	7,517	0,304	0,530	0,239	0
7	6,541	0,365	0,630	0,262	0
7,5	6,881	0,433	0,924	0,399	0
8	5,168	0,498	0,892	0,363	0
8,5	4,999	0,743	1,073	0,516	0
9	3,635	0,989	1,533	0,553	0
9,5	2,371	1,189	1,674	0,558	0
10	0,916	1,389	1,254	0,429	0
10,5	0,290	1,606	1,073	0,371	0
11	0,308	1,744	1,448	0,699	0
11,5	0,231	1,761	1,729	0,616	0
12	0,185	1,778	2,569	0,608	0
12,5	0,139	1,854	1,623	0,336	0
13	0,137	1,890	1,722	0,160	0
13,5	0,180	1,960	3,148	0,060	0
14	0,171	1,906	1,570	0	0

Tempo (h)	C. p. Reol 12 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0,050	0	0	0
1	8,894	0,057	0,064	0	0
2	9,468	0,078	0,078	0	0
3	9,392	0,106	0	0	0
3,5	9,411	0,127	0	0	0
4	9,118	0,149	0	0	0
4,5	7,470	0,183	0	0	0
5	7,787	0,220	0,131	0	0
5,5	6,515	0,261	0,069	0	0
6	5,903	0,306	0	0	0
6,5	7,125	0,357	0,146	0	0
7	6,215	0,401	0	0	0
7,5	6,788	0,453	0,070	0	0
8	6,801	0,615	0	0	0
8,5	5,563	0,778	0,063	0	0
9	5,909	0,890	0,072	0	0
9,5	5,672	1,018	0,155	0	0
10	5,397	1,138	0,196	0	0
10,5	5,130	1,318	0,204	0	0
11	4,940	1,390	0,270	0	0
11,5	5,182	1,473	0,387	0	0
12	3,470	1,548	0,344	0	0
12,5	4,067	1,668	0,491	0	0
13	2,667	1,716	0,509	0	0
13,5	2,219	1,785	0,546	0	0
14	1,953	1,843	0,561	0	0
14,5	2,552	1,925	0,734	0	0
15	0,851	1,999	0,686	0	0
15,5	0,767	2,045	0,683	0	0
16	0,713	2,078	0,815	0	0
16,5	0,470	2,141	0,957	0	0

Tempo (h)	<i>C. p.</i> Recol 29 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0	0	0	0
1	9,507	0,048	0	0	0
2	9,492	0,065	0	0	0
3	9,380	0,094	0	0	0
3,5	9,362	0,124	0	0	0
4	9,661	0,147	0	0	0
4,5	9,190	0,192	0	0	0
5	9,180	0,246	0	0	0
5,5	9,037	0,304	0	0	0
6	8,933	0,352	0	0	0
6,5	8,740	0,439	0	0	0
7	8,531	0,497	0,054	0	0
7,5	8,312	0,752	0	0	0
8	7,321	1,008	0,067	0	0
8,5	7,079	1,111	0,256	0,046	0
9	6,741	1,265	0,303	0,099	0
9,5	6,576	1,395	0,421	0,120	0
10	5,345	1,491	0,506	0,149	0
10,5	5,006	1,654	0,601	0,167	0
11	4,630	1,713	0,643	0,198	0
11,5	4,323	1,834	0,831	0,242	0,336
12	3,717	1,885	1,095	0,297	0,339
12,5	3,278	2,120	1,092	0,312	0,308
13	2,452	2,214	1,136	0,354	0,320
13,5	2,161	2,328	1,471	0,404	0,304
14	0,677	2,384	1,200	0,369	0,298
14,5	0,147	2,353	1,793	0,446	0,307

Tempo (h)	C. p. Recol 37 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0,050	0	0	0
1	9,447	0,056	0	0	0
2	9,650	0,075	0	0	0
3	9,513	0,099	0	0	0
3,5	7,912	0,123	0	0	0
4	8,155	0,141	0	0	0
4,5	7,763	0,169	0	0	0
5	7,997	0,201	0,056	0	0
5,5	7,905	0,238	0,073	0	0
6	7,415	0,296	0	0	0
6,5	7,398	0,348	0	0	0
7	7,243	0,409	0,147	0	0
7,5	6,609	0,473	0,068	0	0
8	6,651	0,641	0,056	0	0
8,5	6,202	0,809	0	0	0
9	6,664	0,941	0,164	0	0
9,5	6,018	1,008	0,122	0	0
10	5,804	1,128	0,200	0	0
10,5	5,079	1,248	0,233	0	0
11	2,954	1,215	0,243	0	0
11,5	2,646	1,346	0,393	0	0
12	2,868	1,523	0,525	0	0
12,5	1,828	1,645	0,611	0	0
13	1,154	1,658	0,635	0	0
13,5	0,769	1,750	0,834	0	0
14	0,957	1,636	1,103	0	0

Tempo (h)	<i>P. k. Reol 39 Fru</i> (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0,050	0	0	0
1	9,569	0,061	0	0	0
2	9,395	0,077	0	0	0
3	9,446	0,113	0	0	0
3,5	9,477	0,131	0	0	0
4	8,248	0,152	0	0	0
4,5	9,029	0,189	0	0	0
5	8,865	0,226	0	0	0
5,5	8,358	0,271	0	0	0
6	8,325	0,321	0	0	0
6,5	8,139	0,384	0	0	0
7	7,278	0,430	0	0	0
7,5	6,778	0,599	0	0	0
8	7,364	0,768	0	0	0
8,5	7,558	0,890	0,075	0	0
9	7,287	0,898	0	0	0
9,5	7,030	1,123	0	0	0
10	6,738	1,231	0,178	0	0
10,5	6,589	1,366	0,174	0	0
11	5,701	1,458	0,252	0	0
11,5	4,125	1,408	1,078	0	0
12	3,759	1,675	0,360	0	0
12,5	3,322	1,714	0,532	0	0
13	2,124	1,889	0,516	0	0
13,5	0,896	1,559	0,954	0	0
14	0,435	1,930	0,436	0	0
14,5	0,244	1,980	1,064	0	0
15	0,180	1,788	1,864	0	0

Tempo (h)	C. g. Recol 41 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0,038	0	0	0
1	9,572	0,038	0	0	0
2	9,524	0,053	0,126	0	0
3	9,417	0,073	0,089	0	0
3,5	9,363	0,093	0,254	0	0
4	9,338	0,116	0,110	0	0
4,5	9,286	0,145	0,234	0	0
5	9,179	0,181	0,133	0	0
5,5	9,011	0,221	0,201	0	0
6	8,884	0,277	0,191	0	0
6,5	8,654	0,317	0,265	0	0
7	8,485	0,374	0,284	0	0
7,5	8,115	0,442	0,362	0	0
8	7,790	0,639	0,452	0	0
8,5	7,071	0,835	0,644	0	0
9	6,468	1,079	0,859	0	0
9,5	4,592	1,084	0,986	0	0
10	3,319	1,009	1,105	0	0
10,5	3,557	1,324	1,998	0	0
11	2,124	1,598	1,969	0	0
11,5	1,199	1,706	2,214	0	0
12	0,308	1,796	2,914	0	0
12,5	0,285	1,898	3,130	0	0
13	0,206	1,905	2,881	0	0
13,5	0,182	1,841	3,134	0	0

Tempo (h)	Iso Recol 42 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0,045	0	0	0
1	9,507	0,046	0	0	0
2	8,910	0,057	0	0	0
3	9,218	0,077	0	0	0
3,5	7,759	0,091	0	0	0
4	8,850	0,108	0	0	0
4,5	8,746	0,133	0	0	0
5	8,433	0,162	0	0	0
5,5	8,214	0,188	0	0	0
6	8,417	0,224	0	0	0
6,5	6,872	0,268	0	0	0
7	8,869	0,318	0	0	0
7,5	8,714	0,359	0	0	0
8	7,265	0,424	0,066	0	0
8,5	7,223	0,568	0,132	0	0
9	8,465	0,713	0,160	0	0
9,5	7,589	0,835	0,228	0	0
10	6,206	0,893	0,235	0,066	0
10,5	6,535	1,063	0,550	0	0
11	5,480	1,230	0,407	0	0
11,5	6,513	1,315	0,389	0	0
12	4,013	1,465	0,414	0,035	0
12,5	4,855	1,593	1,176	0,103	0
13	2,935	1,680	0,829	0,090	0
13,5	3,716	1,874	1,058	0,100	0
14	2,376	1,814	1,693	0,147	0
14,5	1,839	1,931	1,022	0,124	0
15	0,915	1,963	1,504	0,132	0
15,5	0,778	1,968	2,048	0,079	0

Tempo (h)	C. g. Reol 43 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0,050	0	0	0
1	9,468	0,054	0,408	0	0
2	9,353	0,067	0,389	0,071	0
3	8,953	0,089	0,454	0,082	0
3,5	9,166	0,098	0,429	0,097	0
4	9,059	0,116	0,563	0,104	0
4,5	8,867	0,135	0,472	0,113	0
5	7,934	0,156	0,465	0,117	0
5,5	8,240	0,182	0,586	0,142	0
6	8,533	0,216	0,407	0,166	0
6,5	8,238	0,259	0,792	0,203	0
7	7,974	0,302	0,800	0,226	0
7,5	7,681	0,359	0,738	0,269	0
8	7,142	0,416	0,999	0,300	0
8,5	4,321	0,475	0,803	0,229	0
9	4,254	0,696	0,695	0,293	0
9,5	5,240	0,918	1,899	0,445	0
10	3,761	1,110	1,448	0,467	0
10,5	3,195	1,213	2,161	0,604	0
11	1,753	1,490	2,511	0,589	0
11,5	0,680	1,690	2,406	0,546	0
12	0,354	1,849	2,863	0,655	0
12,5	0,182	1,750	2,488	0,473	0
13	0,072	2,124	1,829	0,233	0
13,5	0,088	2,300	1,000	0,175	0
14	0,062	2,235	1,305	0,053	0

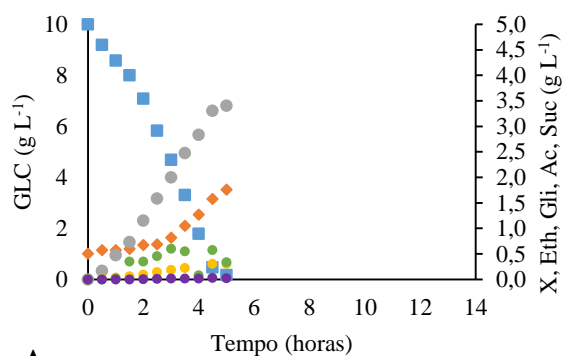
Tempo (h)	<i>P. k. Reol 44 Fru</i> (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)
0	10,000	0,050	0	0	0
1	9,507	0,067	0	0	0
2	9,280	0,076	0	0	0
3	9,220	0,099	0	0	0
3,5	9,196	0,116	0,064	0	0
4	9,204	0,133	0	0	0
4,5	9,214	0,158	0,220	0	0
5	8,841	0,183	0	0	0
5,5	8,787	0,216	0	0	0
6	8,217	0,249	0,077	0	0
6,5	7,854	0,298	0,134	0	0
7	7,791	0,352	0,055	0	0
7,5	7,859	0,407	0,131	0	0
8	7,741	0,605	0,143	0	0
8,5	6,502	0,804	0,095	0	0
9	6,087	0,866	0,194	0	0
9,5	6,185	1,025	0,293	0	0
10	4,699	1,169	0,368	0	0
10,5	3,696	1,335	0,484	0	0
11	2,656	1,514	0,428	0	0
11,5	2,591	1,805	0,707	0	0
12	0,388	1,775	0,600	0	0
12,5	0,251	1,886	1,001	0	0

Apêndice 4. Cinéticas de crescimento, formação de metabólitos e consumo de substrato para cultivos em substrato glicose, em anaerobiose (Capítulo 4).

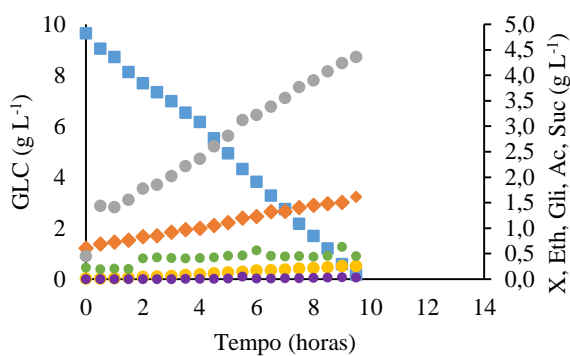
A. *S. cerevisiae* Cat-1; **B.** *P. kudriavzevii* BB1; **C.** *P. kudriavzevii* BB2; **D.** *S. cerevisiae* BB9; **E.** *M. guilliermondii* Recol 9; **F.** *C. glabrata* Recol 10; **G.** *C. parapsilosis* Recol 12; **H.** *C. parapsilosis* Recol 29; **I.** *C. parapsilosis* Recol 37; **J.** *P. kudriavzevii* Recol 39; **K.** *C. glabrata* Recol 41; **L.** Isolado Recol 42; **M.** *C. glabrata* Recol 43; **N.** *P. kudriavzevii* Recol 44. Gli (■); X (◆); Eth (●); Gli (●); Ac (●); Suc (●).

Gli: Glicose; X: concentração celular; Eth: Etanol; Gli: Glicerol; Ac: Acetato; Suc: Succinato.

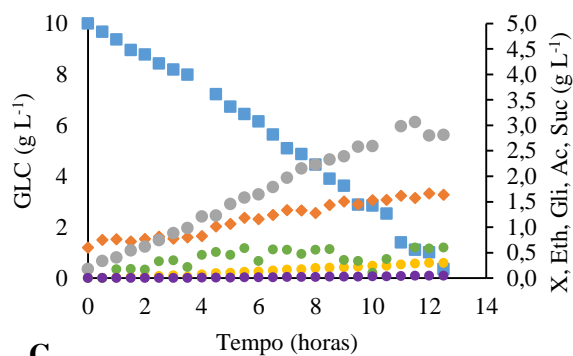
*Gráficos no eixo “Tempo” são apresentados com 14 h ou 40 h, dependendo do tempo de cultivo.



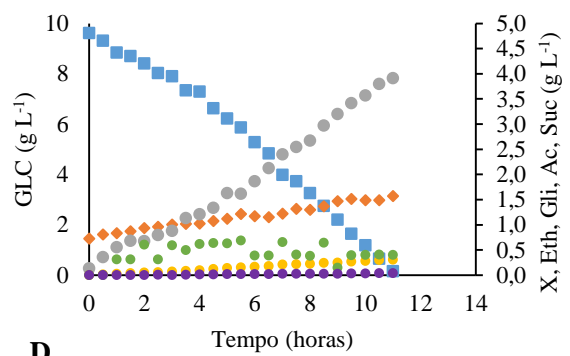
A



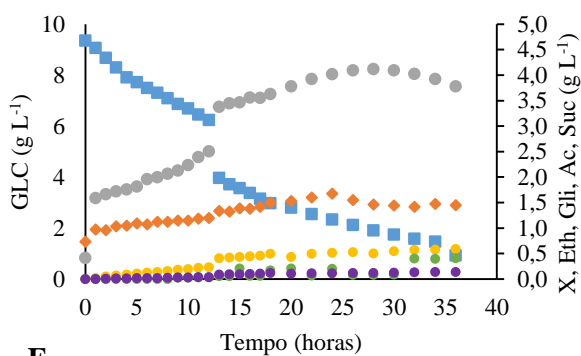
B



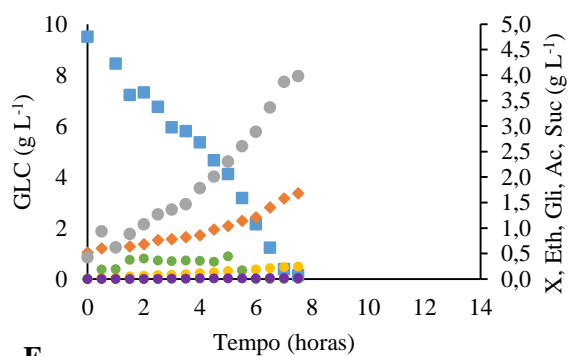
C



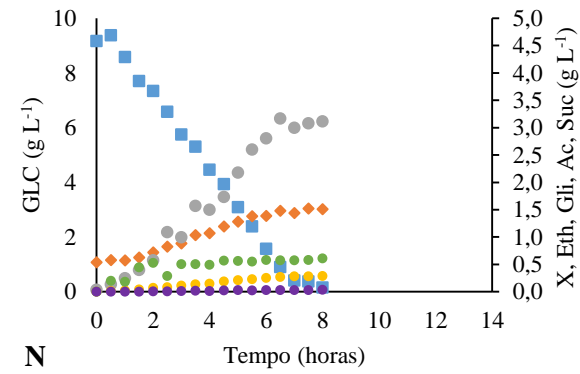
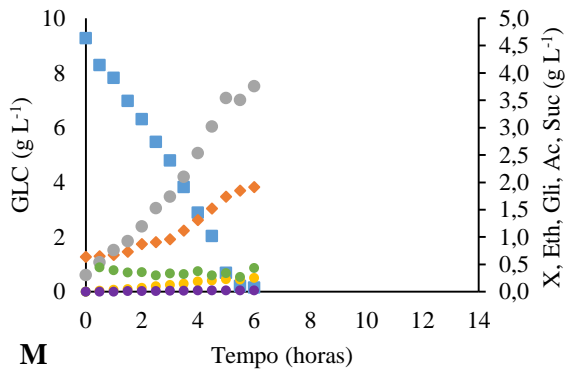
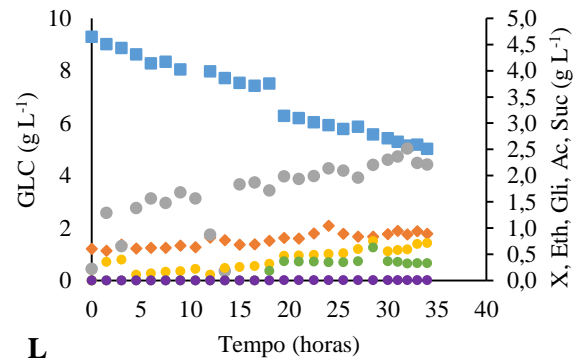
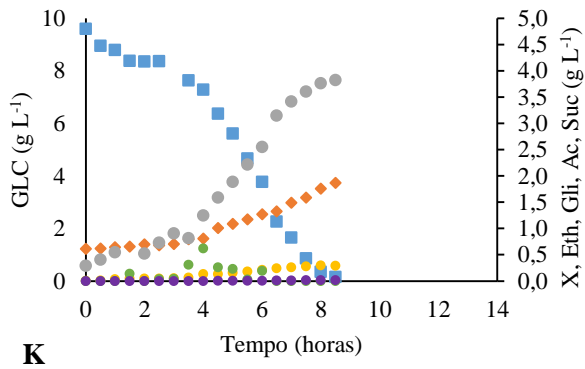
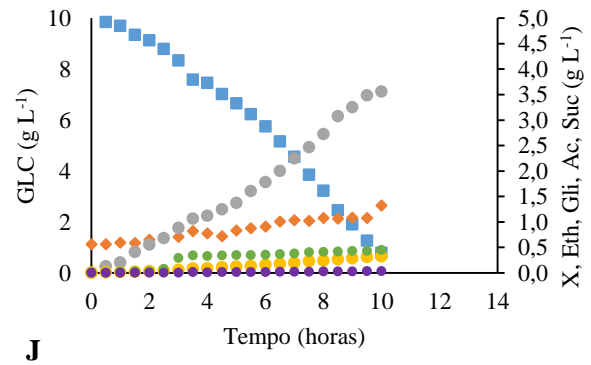
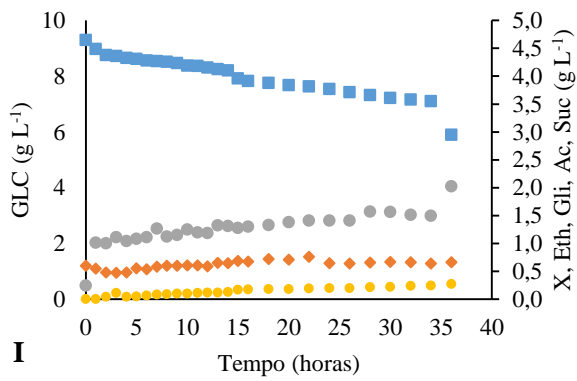
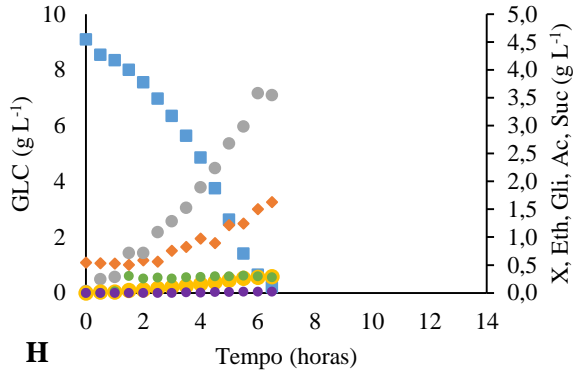
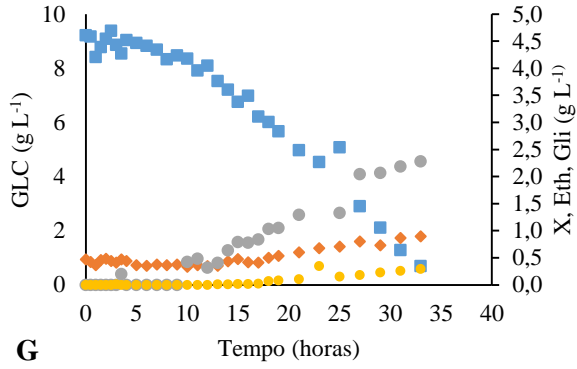
D



E



F

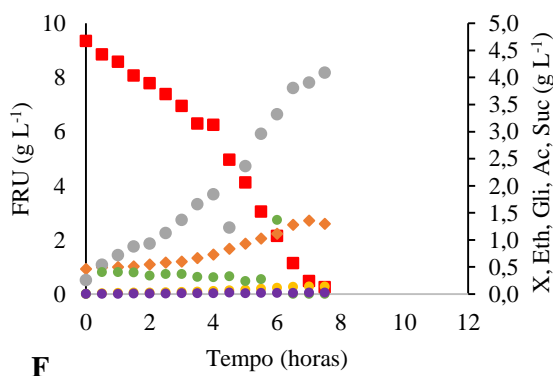
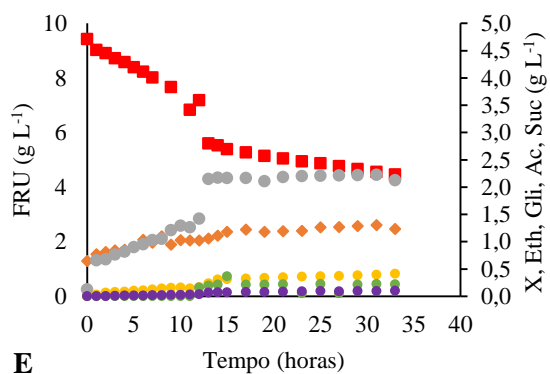
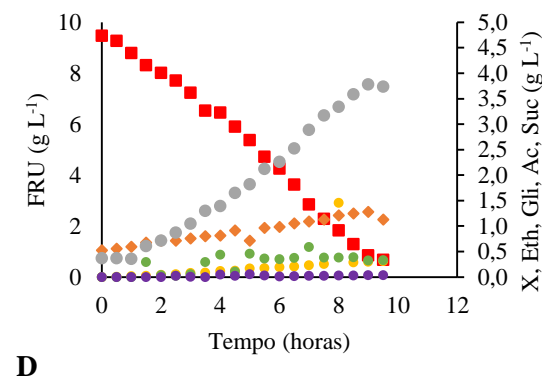
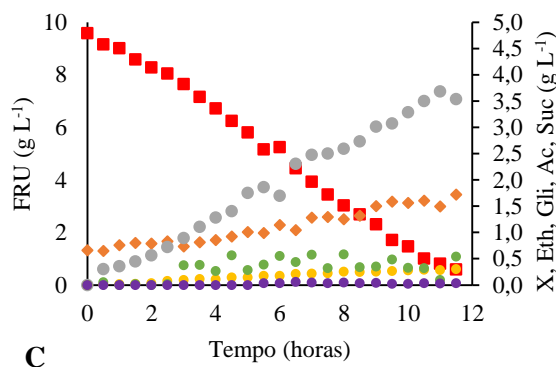
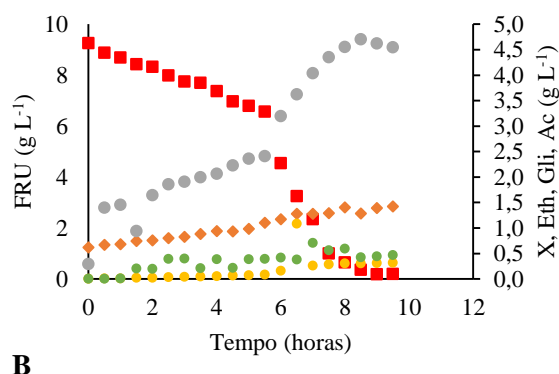
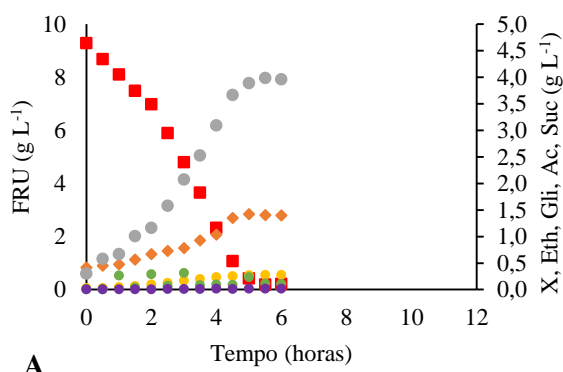


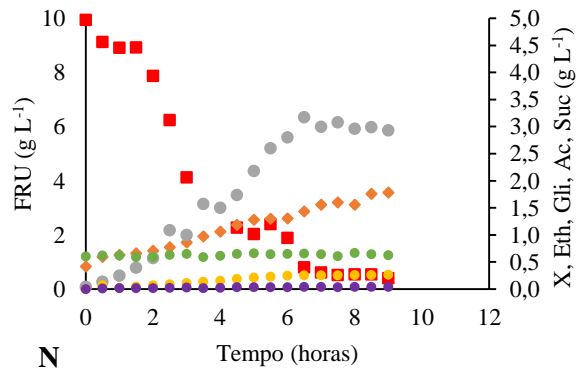
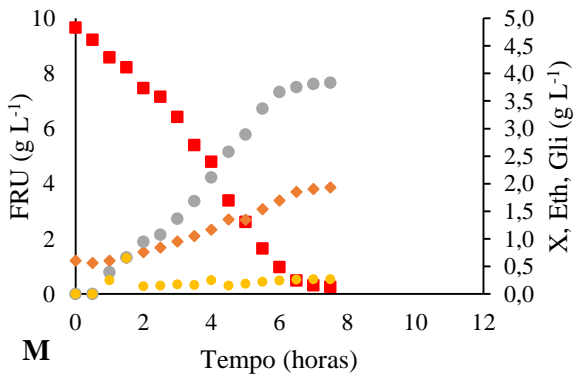
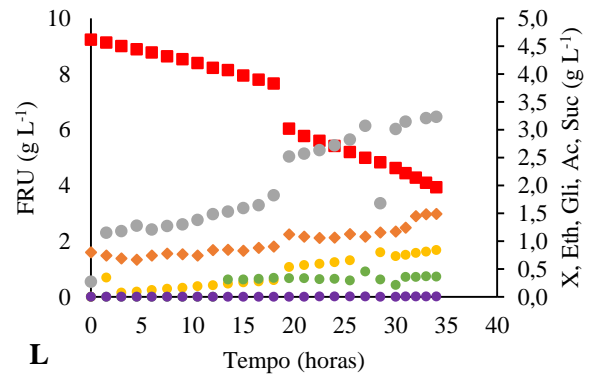
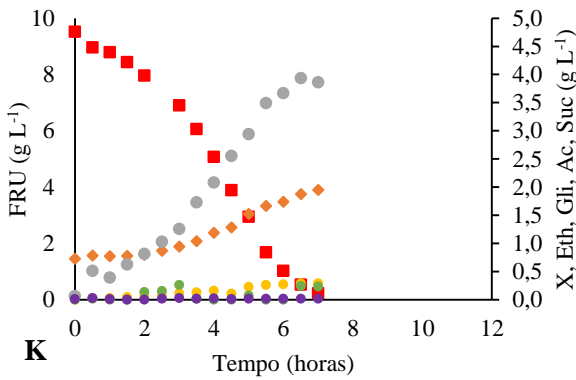
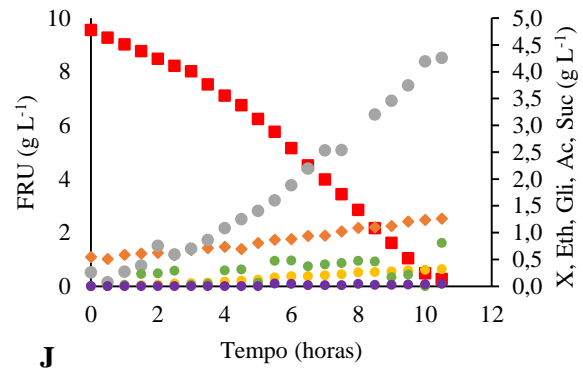
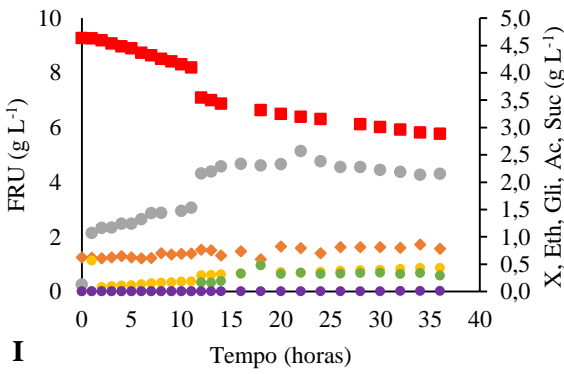
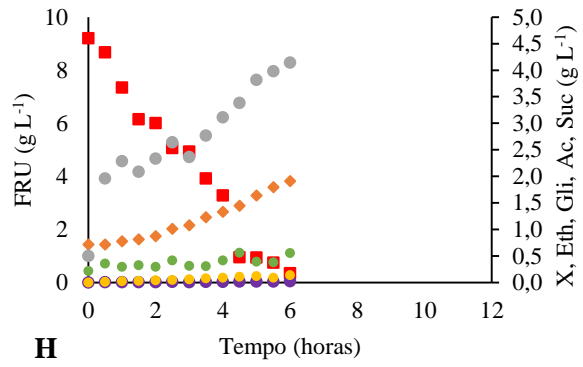
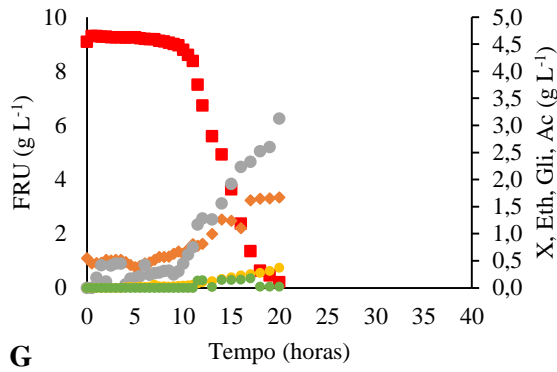
Apêndice 5. Cinéticas de crescimento, formação de metabólitos e consumo de substrato para cultivos em substrato frutose, em anaerobiose (Capítulo 4).

A. *S. cerevisiae* Cat-1; **B.** *P. kudriavzevii* BB1; **C.** *P. kudriavzevii* BB2; **D.** *S. cerevisiae* BB9; **E.** *M. guilliermondii* Recol 9; **F.** *C. glabrata* Recol 10; **G.** *C. parapsilosis* Recol 12; **H.** *C. parapsilosis* Recol 29; **I.** *C. parapsilosis* Recol 37; **J.** *P. kudriavzevii* Recol 39; **K.** *C. glabrata* Recol 41; **L.** Isolado Recol 42; **M.** *C. glabrata* Recol 43; **N.** *P. kudriavzevii* Recol 44. Fru (■); X (◆); Eth (●); Gli (●); Ac (●); Suc (●).

Fru: Frutose; X: concentração celular; Eth: Etanol; Gli: Glicerol; Ac: Acetato; Suc: Succinato.

*Gráficos no eixo “Tempo” são apresentados com 12 h ou 40 h, dependendo do tempo de cultivo.



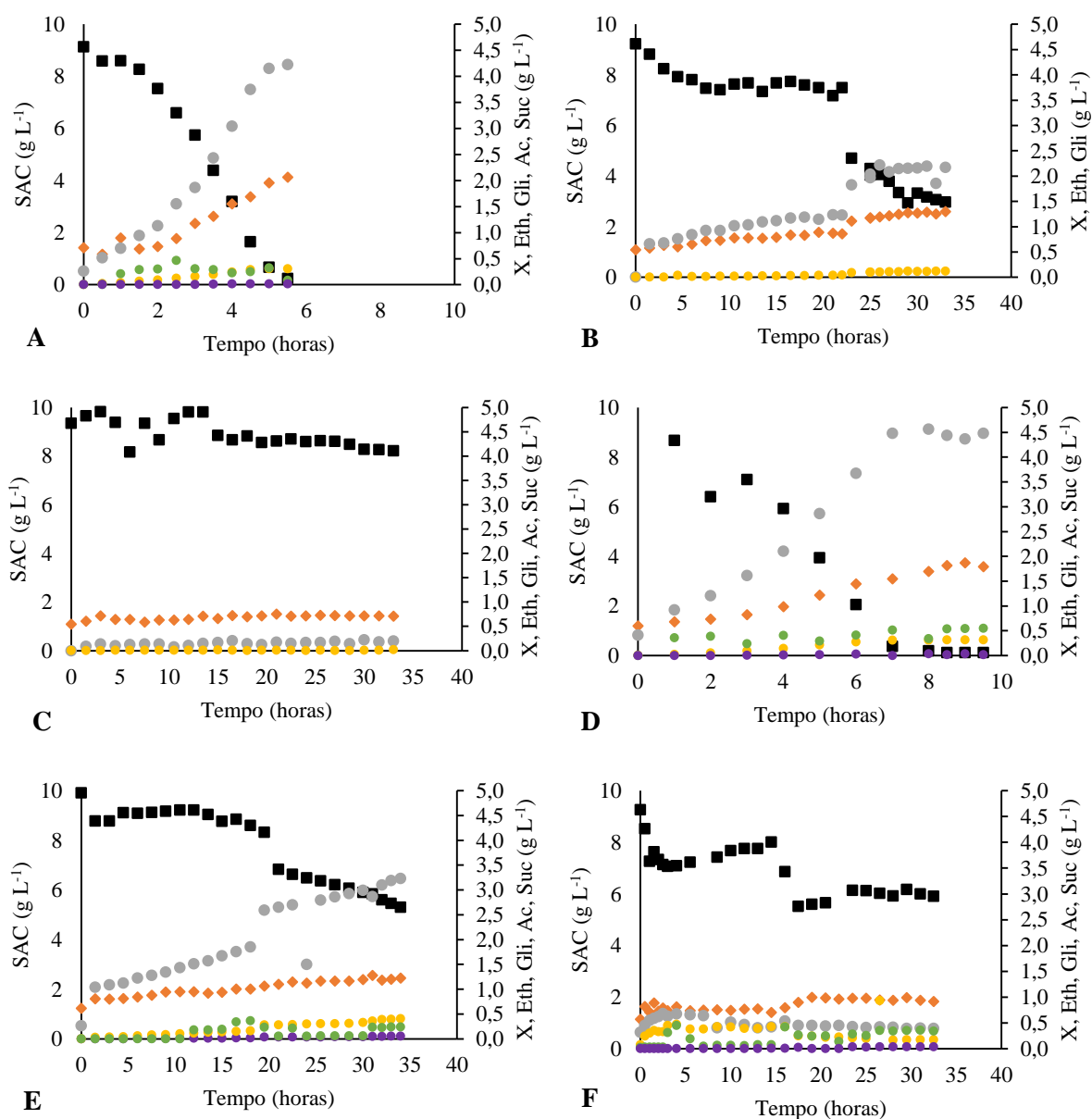


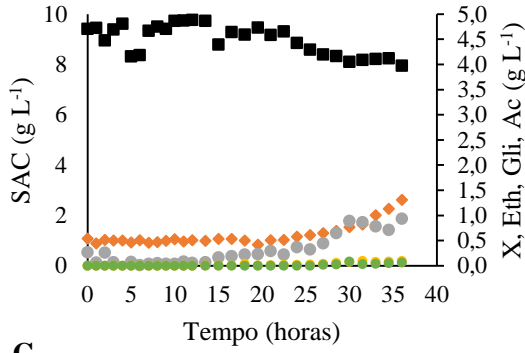
Apêndice 6. Cinéticas de crescimento, formação de metabólitos e consumo de substrato para cultivos em substrato sacarose, em anaerobiose (Capítulo 4).

A. *S. cerevisiae* Cat-1; **B.** *P. kudriavzevii* BB1; **C.** *P. kudriavzevii* BB2; **D.** *S. cerevisiae* BB9; **E.** *M. guilliermondii* Recol 9; **F.** *C. glabrata* Recol 10; **G.** *C. parapsilosis* Recol 12; **H.** *C. parapsilosis* Recol 29; **I.** *C. parapsilosis* Recol 37; **J.** *P. kudriavzevii* Recol 39; **K.** *C. glabrata* Recol 41; **L.** Isolado Recol 42; **M.** *C. glabrata* Recol 43; **N.** *P. kudriavzevii* Recol 44. Sac (■); X (◆); Eth (●); Gli (●); Ac (●); Suc (●).

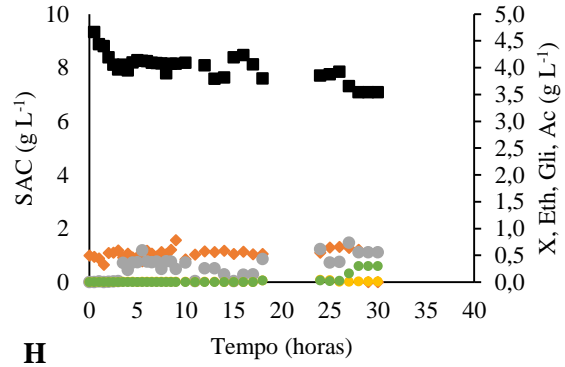
Sac: Sacarose; X: concentração celular; Eth: Etanol; Gli: Glicerol; Ac: Acetato; Suc: Succinato.

*Gráficos no eixo “Tempo” são apresentados com 10 h ou 40 h, dependendo do tempo de cultivo.

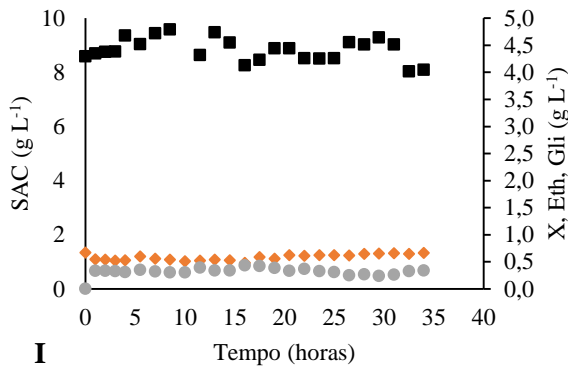




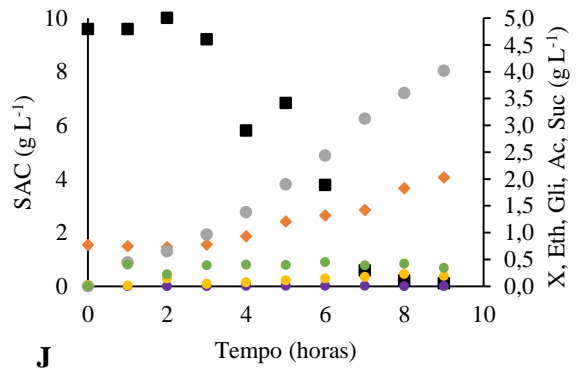
G



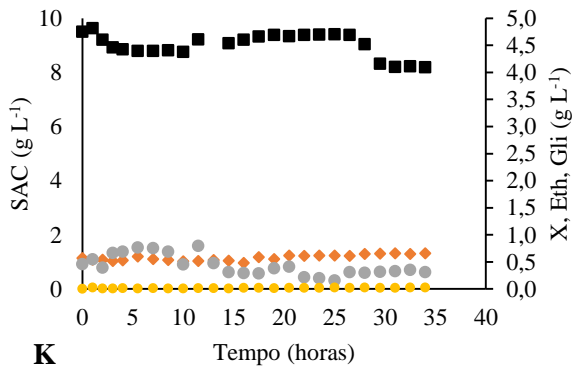
H



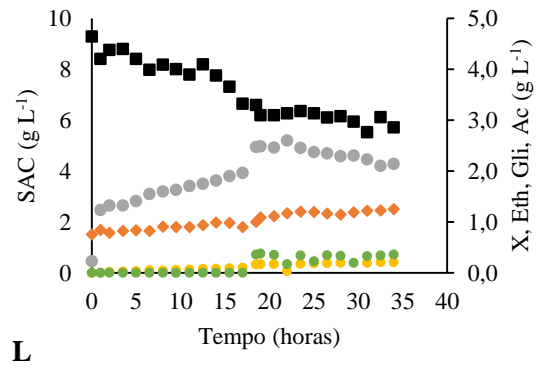
I



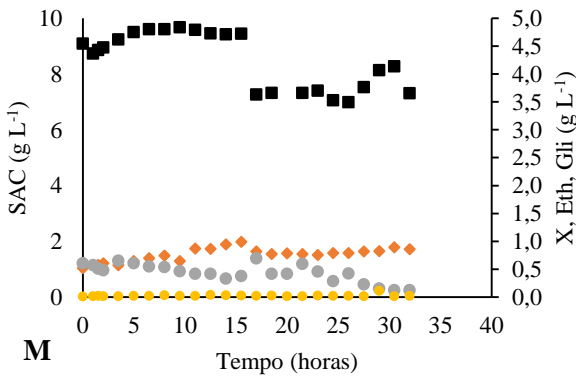
J



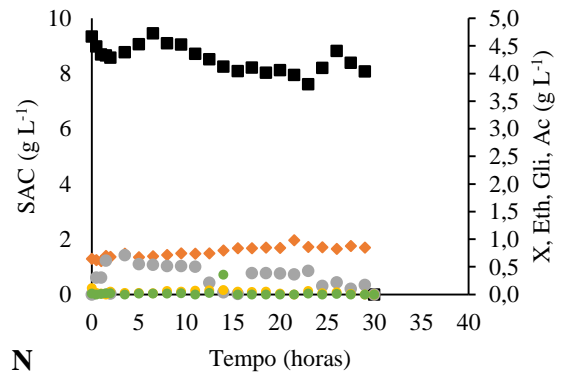
K



L



M



N

Apêndice 7. Dados experimentais referentes às cinéticas de crescimento e consumo de substratos com glicose, em anaerobiose (Capítulo 4).

Glc: Glicose; X: Concentração de células; Eth: Etanol; Gli: Glicerol; Ac: Acetato; Suc: Succinato; *S. c.* CAT-1: *S. cerevisiae* CAT-1; *P. k.* BB1: *P. kudriavzevii* BB1; *P. k.* BB2: *P. kudriavzevii* BB2; *S. c.* BB9: *S. cerevisiae* BB9; *M. g.* Recol 09: *M. guilliermondii* Recol 09; *C. g.* Recol 10: *Candida glabrata* Recol 10; *C. p.* Recol 12: *Candida parapsilosis* Recol 12; *C. p.* Recol 29: *C. parapsilosis* Recol 29; *C. p.* Recol 37: *C. parapsilosis* Recol 37; *P. k.* Recol 39: *P. kudriavzevii* 39; *C. g.* Recol 41: *Candida glabrata* Recol 41; *C. g.* Recol 43: *C. glabrata* Recol 43; *P. k.* Recol 44: *P. kudriavzevii* 44; Iso Recol 42: Isolado Recol 42.

Tempo (h)	<i>S. c.</i> Cat Glc (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	10,000	0,507	0	0	0	0
0,5	9,199	0,579	0,168	0,018	0	0
1	8,585	0,576	0,478	0,036	0,015	0
1,5	8,001	0,603	0,732	0,061	0,350	0
2	7,093	0,674	1,151	0,091	0,351	0,006
2,5	5,837	0,688	1,584	0,143	0,456	0,008
3	4,693	0,822	2,001	0,184	0,600	0,016
3,5	3,305	1,052	2,476	0,226	0,550	0,019
4	1,785	1,275	2,833	0,025	0,078	0,018
4,5	0,469	1,581	3,307	0,304	0,578	0,027
5	0,167	1,764	3,407	0,306	0,338	0,022

Tempo (h)	<i>P. k.</i> BB1 Glc (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,652	0,608	0,449	0,010	0,227	0
0,5	9,047	0,693	1,439	0,012	0,197	0
1	8,719	0,728	1,414	0,019	0,207	0
1,5	8,129	0,766	1,557	0,028	0,203	0
2	7,693	0,835	1,776	0,041	0,408	0
2,5	7,332	0,851	1,852	0,050	0,423	0
3	6,989	0,922	2,022	0,063	0,415	0
3,5	6,529	0,973	2,216	0,080	0,410	0,003
4	6,168	1,000	2,359	0,093	0,417	0,006
4,5	5,529	1,057	2,604	0,112	0,428	0,008
5	4,942	1,113	2,816	0,129	0,456	0,010
5,5	4,318	1,198	3,124	0,147	0,464	0,050
6	3,815	1,233	3,225	0,166	0,562	0,013
6,5	3,283	1,326	3,388	0,176	0,460	0,014
7	2,755	1,328	3,552	0,190	0,447	0,017
7,5	2,176	1,406	3,767	0,205	0,453	0,019
8	1,693	1,449	3,903	0,219	0,437	0,023
8,5	1,208	1,483	4,075	0,232	0,455	0,028
9	0,593	1,509	4,237	0,257	0,632	0,034
9,5	0,170	1,613	4,362	0,254	0,450	0,032

Tempo (h)	<i>P. k.</i> BB2 Glc (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,988	0,597	0,178	0	0	0
0,5	9,664	0,747	0,337	0,003	0	0
1	9,365	0,761	0,405	0,012	0,171	0
1,5	8,948	0,716	0,544	0,019	0,176	0
2	8,780	0,769	0,618	0,029	0,165	0
2,5	8,420	0,814	0,747	0,041	0,331	0
3	8,186	0,772	0,882	0,051	0,345	0
3,5	7,985	0,800	0,980	0,027	0,214	0,004
4	7,985	0,823	1,206	0,069	0,452	0,012
4,5	7,220	1,011	1,226	0,095	0,514	0,009
5	6,725	1,064	1,455	0,104	0,452	0,011
5,5	6,433	1,182	1,577	0,125	0,586	0,013
6	6,147	1,159	1,644	0,127	0,336	0,012
6,5	5,638	1,238	1,787	0,148	0,564	0,017
7	5,089	1,337	1,967	0,163	0,552	0,019
7,5	4,868	1,330	2,152	0,171	0,471	0,019
8	4,447	1,279	2,225	0,194	0,556	0,022
8,5	3,904	1,436	2,324	0,201	0,566	0,025
9	3,625	1,505	2,389	0,211	0,351	0,026
9,5	2,884	1,446	2,578	0,219	0,337	0,028
10	2,841	1,529	2,591	0,238	0,102	0,033
10,5	2,536	1,534	2,591	0,243	0,376	0,033
11	1,397	1,619	2,978	0,263	3,534	0,041
11,5	1,112	1,571	3,061	0,288	0,600	0,046
12	1,012	1,663	2,797	0,296	0,582	0,044
12,5	0,358	1,635	2,808	0,296	0,598	0,047

Tempo (h)	S. c. BB9 Glc (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,609	0,724	0,134	0	0	0
0,5	9,309	0,805	0,357	0,010	0	0
1	8,835	0,829	0,553	0,027	0,308	0
1,5	8,703	0,868	0,678	0,034	0,309	0
2	8,398	0,935	0,672	0,049	0,603	0
2,5	8,025	0,957	0,796	0,053	0,307	0,003
3	7,893	1,003	0,875	0,068	0,590	0
3,5	7,341	1,014	1,130	0,079	0,492	0,004
4	7,287	1,023	1,204	0,096	0,618	0,010
4,5	6,624	1,072	1,333	0,120	0,634	0,012
5	6,219	1,116	1,626	0,137	0,625	0,015
5,5	5,855	1,212	1,615	0,153	0,688	0,018
6	5,273	1,169	1,863	0,163	0,388	0,016
6,5	4,836	1,150	2,122	0,179	0,385	0,018
7	3,980	1,216	2,394	0,207	0,653	0,022
7,5	3,720	1,312	2,543	0,214	0,404	0,021
8	3,255	1,296	2,668	0,220	0,379	0,022
8,5	2,740	1,367	2,968	0,242	0,642	0,026
9	2,200	1,469	3,197	0,248	0,144	0,026
9,5	1,644	1,511	3,416	0,267	0,392	0,029
10	1,179	1,489	3,568	0,280	0,400	0,033
10,5	0,642	1,488	3,796	0,296	0,408	0,036
11	0,154	1,572	3,908	0,302	0,398	0,038

Tempo (h)	M. g. Recol 09 Glc (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,358	0,731	0,415	0	0	0
1	9,063	0,970	1,586	0,014	0	0
2	8,683	0,959	1,665	0,050	0	0,006
3	8,304	1,035	1,717	0,067	0	0,009
4	7,912	1,045	1,758	0,088	0	0,011
5	7,727	1,089	1,812	0,106	0	0,014
6	7,504	1,071	1,958	0,124	0	0,017
7	7,311	1,125	1,994	0,139	0	0,020
8	7,097	1,121	2,068	0,158	0	0,024
9	6,865	1,145	2,129	0,181	0,024	0,028
10	6,690	1,149	2,233	0,194	0,025	0,031
11	6,454	1,186	2,391	0,217	0,028	0,035
12	6,237	1,198	2,508	0,231	0,029	0,038
13	3,961	1,338	3,378	0,408	0,055	0,088
14	3,714	1,325	3,447	0,421	0,057	0,094
15	3,569	1,385	3,469	0,430	0,205	0,095
16	3,373	1,378	3,561	0,443	0,061	0,098
17	3,152	1,416	3,553	0,459	0,063	0,105
18	2,972	1,501	3,630	0,496	0,167	0,115
20	2,794	1,534	3,781	0,431	0,207	0,108
22	2,549	1,600	3,927	0,497	0,070	0,113
24	2,338	1,679	4,017	0,511	0,200	0,114
26	2,115	1,549	4,096	0,528	0,078	0,119
28	1,908	1,464	4,117	0,499	0,082	0,120
30	1,742	1,441	4,092	0,548	0,086	0,125
32	1,578	1,421	4,024	0,568	0,399	0,131
34	1,469	1,475	3,924	0,578	0,397	0,138
36	0,924	1,451	3,783	0,589	0,404	0,138

Tempo (h)	C. g. Reol 10 Glc (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,508	0,518	0,428	0,002	0	0
0,5	4,901	0,601	0,937	0,014	0,187	0
1	8,454	0,619	0,621	0,026	0,194	0
1,5	7,222	0,642	0,884	0,049	0,372	0
2	7,319	0,681	1,073	0,059	0,403	0
2,5	6,756	0,762	1,265	0,075	0,362	0
3	5,959	0,783	1,364	0,081	0,347	0,006
3,5	5,807	0,823	1,470	0,095	0,363	0,007
4	5,363	0,858	1,784	0,110	0,355	0,008
4,5	4,657	0,975	2,010	0,129	0,338	0,009
5	4,119	1,042	2,303	0,156	0,444	0,013
5,5	3,180	1,141	2,605	0,167	0,170	0,014
6	2,142	1,210	2,886	0,184	0	0,014
6,5	1,229	1,406	3,364	0,214	0	0,016
7	0,383	1,581	3,867	0,234	0	0,018
7,5	0,148	1,680	3,981	0,242	0	0,018

Tempo (h)	<i>C. p.</i> Reol 12 Glc (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,215	0,470	0	0	0	0
0,5	9,169	0,422	0	0	0	0
1	8,408	0,363	0	0	0	0
1,5	8,777	0,456	0	0	0	0
2	9,085	0,480	0	0	0	0
2,5	9,380	0,439	0	0	0	0
3	8,865	0,413	0	0,010	0	0
3,5	8,543	0,473	0,197	0	0	0
4	9,039	0,444	0	0	0	0
5	8,928	0,361	0	0	0	0
6	8,826	0,350	0	0	0	0
7	8,683	0,374	0	0	0	0
8	8,330	0,363	0	0	0	0
9	8,473	0,375	0	0	0	0
10	8,351	0,336	0,423	0	0	0
11	7,911	0,363	0,482	0	0	0
12	8,092	0,346	0,316	0	0	0
13	7,532	0,354	0,407	0,010	0	0
14	7,206	0,436	0,635	0,012	0	0
15	6,754	0,479	0,791	0,014	0	0
16	6,976	0,420	0,777	0,018	0	0
17	6,219	0,409	0,835	0,020	0	0
18	6,012	0,499	1,033	0,068	0	0
19	5,675	0,536	1,048	0,082	0	0
21	4,967	0,601	1,292	0,102	0	0
23	4,541	0,680	2,654	0,346	0	0
25	5,074	0,709	1,327	0,149	0	0
27	2,909	0,804	2,042	0,180	0	0
29	2,113	0,729	2,066	0,230	0	0
31	1,279	0,864	2,187	0,258	0	0
33	0,690	0,899	2,281	0,293	0	0

Tempo (h)	<i>C. p.</i> Reol 29 Glc (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,092	0,543	0,032	0	0	0
0,5	8,535	0,529	0,247	0,015	0	0
1	8,338	0,525	0,284	0,013	0,027	0
1,5	8,002	0,503	0,716	0,042	0,302	0
2	7,555	0,584	0,713	0,057	0,256	0
2,5	6,963	0,562	1,088	0,079	0,275	0
3	6,345	0,754	1,282	0,100	0,257	0
3,5	5,634	0,822	1,523	0,126	0,277	0,008
4	4,849	0,971	1,890	0,156	0,284	0,006
4,5	3,752	0,893	2,239	0,191	0,299	0,014
5	2,622	1,213	2,681	0,226	0,294	0,014
5,5	1,410	1,245	2,983	0,262	0,308	0,019
6	0,649	1,503	3,581	0,280	0,294	0,023
6,5	0,201	1,628	3,544	0,290	0,280	0,022

Tempo (h)	<i>C. p.</i> Reol 37 Glc (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,286	0,600	0,242	0	0	0
1	8,972	0,547	1,013	0	0	0
2	8,753	0,479	1,002	0,041	0	0
3	8,720	0,470	1,109	0,112	0	0
4	8,647	0,477	1,037	0,041	0	0
5	8,609	0,553	1,082	0,045	0	0
6	8,554	0,534	1,108	0,063	0	0
7	8,534	0,580	1,262	0,084	0	0
8	8,511	0,596	1,123	0,086	0	0
9	8,463	0,600	1,150	0,099	0	0
10	8,372	0,604	1,246	0,101	0	0
11	8,363	0,604	1,197	0,112	0	0
12	8,299	0,587	1,186	0,115	0	0
13	8,247	0,648	1,318	0,115	0	0
14	8,202	0,646	1,309	0,125	0	0
15	7,918	0,681	1,278	0,168	0	0
16	7,822	0,674	1,300	0,171	0	0
18	7,753	0,720	1,328	0,178	0	0
20	7,676	0,708	1,377	0,179	0	0
22	7,621	0,761	1,405	0,188	0	0
24	7,539	0,646	1,405	0,196	0	0
26	7,419	0,636	1,406	0,198	0	0
28	7,311	0,656	1,571	0,211	0	0
30	7,215	0,665	1,563	0,221	0	0
32	7,160	0,658	1,511	0,234	0	0
34	7,099	0,640	1,493	0,241	0	0
36	5,896	0,663	2,021	0,272	0	0

Tempo (h)	<i>P. k. Reol 39 Glc</i> (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	10,037	0,560	0	0	0	0
0,5	9,833	0,562	0,126	0,005	0	0
1	9,694	0,591	0,201	0,012	0,027	0
1,5	9,342	0,584	0,409	0,020	0,025	0
2	9,123	0,646	0,555	0,032	0,023	0
2,5	8,779	0,685	0,680	0,041	0,075	0
3	8,330	0,703	0,881	0,058	0,288	0,003
3,5	7,574	0,819	1,065	0,081	0,339	0,010
4	7,455	0,775	1,116	0,085	0,327	0,008
4,5	7,008	0,715	1,247	0,105	0,339	0,011
5	6,652	0,830	1,372	0,120	0,343	0,012
5,5	6,223	0,873	1,601	0,134	0,347	0,012
6	5,740	0,908	1,779	0,155	0,354	0,015
6,5	5,156	1,006	1,998	0,177	0,363	0,017
7	4,546	1,028	2,243	0,198	0,377	0,019
7,5	3,840	1,021	2,463	0,225	0,404	0,022
8	3,219	1,074	2,719	0,242	0,408	0,023
8,5	2,453	1,061	3,075	0,267	0,416	0,026
9	1,896	1,081	3,251	0,286	0,428	0,028
9,5	1,259	1,074	3,484	0,310	0,424	0,032
10	0,775	1,323	3,558	0,320	0,447	0,033

Tempo (h)	C. g. Reol 41 Glc (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,594	0,611	0,287	0,002	0	0
0,5	8,947	0,621	0,404	0,009	0	0
1	8,790	0,645	0,548	0,033	0	0
1,5	8,378	0,655	3,778	0,046	0,138	0
2	8,349	0,699	0,519	0,046	0	0
2,5	8,358	0,680	0,730	0,044	0,034	0
3	4,156	0,702	0,904	0,050	0,038	0
3,5	7,637	0,793	0,816	0,066	0,310	0
4	7,277	0,809	1,244	0,128	0,619	0
4,5	6,362	1,008	1,585	0,131	0,258	0,003
5	5,613	1,089	1,884	0,154	0,225	0,003
5,5	4,665	1,170	2,216	0,180	0,030	0,005
6	3,774	1,267	2,550	0,209	0,192	0,006
6,5	2,263	1,327	3,143	0,242	0	0,010
7	1,645	1,492	3,413	0,258	0	0,012
7,5	0,861	1,585	3,603	0,277	0	0,013
8	0,351	1,760	3,761	0,293	0	0,013
8,5	0,157	1,868	3,821	0,292	0	0,013

Tempo (h)	Iso Reol 42 Glc (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,294	0,603	0,220	0	0	0
1,5	9,005	0,568	1,291	0,356	0	0
3	8,861	0,683	0,655	0,398	0	0
4,5	8,623	0,609	1,382	0,114	0	0
6	8,277	0,624	1,566	0,137	0	0
7,5	8,334	0,626	1,480	0,163	0	0
9	8,044	0,668	1,679	0,176	0	0
10,5	3,955	0,635	1,562	0,218	0	0
12	7,969	0,818	0,874	0,109	0	0
13,5	7,719	0,770	0,180	0,241	0	0
15	7,530	0,682	1,833	0,257	0	0
16,5	7,425	0,693	1,870	0,275	0	0
18	7,509	0,755	1,713	0,321	0,183	0
19,5	6,271	0,811	1,982	0,473	0,367	0,008
21	6,150	0,798	1,934	0,477	0,364	0,008
22,5	6,033	0,897	1,990	0,489	0,364	0,008
24	5,918	1,045	2,139	0,509	0,352	0,008
25,5	5,780	0,891	2,096	0,522	0,349	0,007
27	5,862	0,837	1,957	0,598	0,367	0,008
28,5	5,571	0,839	2,207	0,751	0,631	0,010
30	5,419	0,886	2,301	0,558	0,365	0,006
31	5,286	0,949	2,364	0,582	0,353	0,008
32	5,140	0,883	2,517	0,591	0,327	0,007
33	5,181	0,943	2,239	0,695	0,328	0,009
34	5,013	0,894	2,208	0,713	0,329	0,010

Tempo (h)	C. g. Reol 43 Glc (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,272	0,639	0,303	0	0	0
0,5	8,292	0,653	0,541	0,021	0,449	0
1	7,826	0,677	0,760	0,037	0,395	0,004
1,5	6,977	0,732	0,928	0,051	0,352	0,013
2	6,317	0,875	1,198	0,073	0,356	0,012
2,5	5,488	0,909	1,527	0,098	0,301	0,015
3	4,804	0,959	1,738	0,122	0,335	0,018
3,5	3,830	1,120	2,103	0,148	0,326	0,020
4	2,898	1,313	2,538	0,190	0,379	0,026
4,5	2,045	1,522	3,025	0,205	0,298	0,023
5	0,698	1,742	3,542	0,230	0,341	0,025
5,5	0,217	1,851	3,507	0,222	0,273	0,023
6	0,159	1,915	3,760	0,255	0,436	0,028

Tempo (h)	<i>P. k. Reol 44 Glc</i> (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,168	0,541	0,038	0	0	0
0,5	9,381	0,582	0,137	0,015	0,199	0
1	8,583	0,576	0,246	0,023	0,181	0
1,5	7,701	0,630	0,398	0,045	0,445	0,004
2	7,349	0,725	0,573	0,070	0,529	0,008
2,5	6,577	0,826	1,089	0,085	0,289	0,010
3	5,757	0,887	0,999	0,114	0,504	0,011
3,5	5,307	1,038	1,572	0,138	0,506	0,018
4	4,458	1,070	1,503	0,151	0,491	0,014
4,5	3,935	1,195	1,736	0,187	0,567	0,023
5	3,094	1,284	2,179	0,211	0,565	0,031
5,5	2,387	1,385	2,602	0,229	0,553	0,027
6	1,575	1,386	2,803	0,255	0,584	0,030
6,5	0,910	1,481	3,171	0,272	0,578	0,033
7	0,417	1,441	2,998	0,280	0,577	0,033
7,5	0,382	1,521	3,079	0,280	0,579	0,032
8	0,152	1,510	3,116	0,286	0,608	0,034

Apêndice 8. Dados experimentais referentes às cinéticas de crescimento e consumo de substrato com frutose, em anaerobiose (Capítulo 4).

Fru: Frutose; X: Concentração de células; Eth: Etanol; Gli: Glicerol; Ac: Acetato; Suc: Succinato; S. c. CAT-1: *S. cerevisiae* CAT-1; P. k. BB1: *P. kudriavzevii* BB1; P. k. BB2: *P. kudriavzevii* BB2; S. c. BB9: *S. cerevisiae* BB9; M. g. Recol 09: *M. guilliermondii* Recol 09; C. g. Recol 10: *Candida glabrata* Recol 10; C. p. Recol 12: *Candida parapsilosis* Recol 12; C. p. Recol 29: *C. parapsilosis* Recol 29; C. p. Recol 37: *C. parapsilosis* Recol 37; P. k. Recol 39: *P. kudriavzevii* 39; C. g. Recol 41: *Candida glabrata* Recol 41; C. g. Recol 43: *C. glabrata* Recol 43; P. k. Recol 44: *P. kudriavzevii* 44; Iso Recol 42: Isolado Recol 42.

Tempo (h)	S.c. Cat Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,277	0,412	0,301	0,028	0	0
0,5	8,679	0,452	0,578	0,025	0	0
1	8,097	0,476	0,665	0,042	0,263	0
1,5	7,484	0,561	1,006	0,066	0,035	0
2	6,972	0,666	1,160	0,094	0,288	0,004
2,5	5,893	0,727	1,574	0,125	0,067	0,008
3	4,797	0,783	2,069	0,166	0,308	0,008
3,5	3,643	0,926	2,522	0,198	0,084	0,011
4	2,322	1,037	3,088	0,231	0,091	0,012
4,5	1,069	1,350	3,661	0,253	0,088	0,010
5	0,414	1,423	3,889	0,267	0,232	0,016
5,5	0,182	1,401	3,982	0,272	0,109	0,016
6	0,211	1,393	3,958	0,274	0,108	0,016

Tempo (h)	<i>P. k.</i> BB1 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,245	0,615	0,291	0	0	0
0,5	8,868	0,664	1,396	0,005	0	0
1	8,680	0,682	1,455	0,010	0,009	0
1,5	8,419	0,744	0,935	0,017	0,201	0
2	8,316	0,754	1,640	0,021	0,193	0
2,5	7,977	0,799	1,857	0,032	0,391	0
3	7,743	0,824	1,903	0,038	0,394	0
3,5	7,695	0,880	1,992	0,043	0,210	0
4	7,366	0,935	2,060	0,052	0,385	0
4,5	6,969	0,931	2,222	0,061	0,216	0
5	6,785	0,983	2,359	0,072	0,382	0
5,5	6,558	1,103	2,409	0,080	0,387	0
6	4,544	1,169	3,193	0,157	0,415	0
6,5	3,245	1,276	3,619	1,080	0,380	0
7	2,333	1,276	4,032	0,258	0,704	0
7,5	0,998	1,291	4,348	0,284	0,559	0
8	0,637	1,402	4,552	0,303	0,590	0
8,5	0,348	1,282	4,703	0,304	0,424	0
9	0,173	1,392	4,622	0,309	0,441	0

Tempo (h)	<i>P. k.</i> BB2 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,585	0,664	0	0	0	0
0,5	9,158	0,647	0,301	0,008	0,051	0
1	9,007	0,760	0,360	0,014	0	0
1,5	8,580	0,799	0,451	0,022	0,017	0
2	8,277	0,787	0,565	0,035	0	0
2,5	8,045	0,830	0,721	0,079	0,016	0
3	7,649	0,732	0,893	0,097	0,377	0
3,5	7,158	0,814	1,108	0,115	0,384	0
4	6,718	0,855	1,282	0,108	0,263	0
4,5	6,246	0,922	1,406	0,141	0,566	0
5	5,807	1,012	1,754	0,141	0,283	0
5,5	5,165	0,991	1,862	0,176	0,386	0,033
6	5,242	1,145	1,699	0,176	0,550	0,033
6,5	4,438	1,043	2,307	0,213	0,437	0,060
7	3,934	1,284	2,478	0,218	0,576	0,046
7,5	3,446	1,293	2,503	0,222	0,323	0,033
8	3,030	1,252	2,595	0,251	0,581	0,047
8,5	2,683	1,319	2,735	0,246	0,339	0,037
9	2,307	1,502	3,011	0,253	0,348	0,038
9,5	1,714	1,586	3,075	0,264	0,486	0,023
10	1,469	1,565	3,284	0,276	0,327	0,023
10,5	1,005	1,608	3,499	0,287	0,321	0,031
11	0,806	1,493	3,685	0,285	0,095	0,029
11,5	0,593	1,721	3,534	0,300	0,539	0,033

Tempo (h)	S. c. BB9 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,464	0,526	0,371	0	0	0
0,5	9,270	0,556	0,370	0,006	0	0
1	8,793	0,592	0,355	0,014	0	0
1,5	8,309	0,676	0,608	0,020	0,295	0
2	8,011	0,714	0,714	0,040	0,037	0
2,5	7,713	0,715	0,870	0,052	0,022	0,021
3	7,235	0,756	1,046	0,077	0,056	0,006
3,5	6,526	0,800	1,296	0,085	0,295	0
4	6,450	0,814	1,390	0,117	0,435	0,045
4,5	5,896	0,916	1,652	0,124	0,103	0,024
5	5,377	0,711	1,820	0,167	0,454	0,051
5,5	4,723	0,962	2,118	0,171	0,359	0,027
6	4,258	0,986	2,256	0,192	0,350	0,013
6,5	3,627	1,052	2,526	0,205	0,375	0,017
7	2,847	1,094	2,886	0,229	0,586	0,025
7,5	2,285	1,130	3,169	0,252	0,381	0,025
8	1,824	1,210	3,340	1,454	0,383	0,026
8,5	1,291	1,245	3,584	0,283	0,387	0,028
9	0,845	1,280	3,782	0,299	0,321	0,033
9,5	0,676	1,130	3,737	0,313	0,330	0,035

Tempo (h)	M. g. Recol 09 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,417	0,644	0,122	0	0	0
1	9,022	0,769	0,658	0,030	0	0
2	8,898	0,811	0,674	0,064	0	0
3	8,717	0,839	0,762	0,076	0	0,008
4	8,575	0,853	0,818	0,085	0	0,010
5	8,389	0,904	0,900	0,098	0	0,011
6	8,223	1,035	0,950	0,107	0	0,012
7	8,010	0,978	1,027	0,123	0	0,015
8	4,135	1,098	1,050	0,140	0	0,018
9	7,663	0,944	1,207	0,150	0	0,023
10	4,326	1,024	1,289	0,158	0	0,025
11	6,827	1,020	1,260	0,143	0	0,030
12	7,176	1,020	1,421	0,165	0,156	0,034
13	5,596	1,054	2,146	0,235	0,195	0,065
14	5,522	1,109	2,172	0,305	0,209	0,072
15	5,386	1,178	2,167	0,311	0,366	0,072
17	5,265	1,218	2,161	0,321	0,211	0,076
19	5,132	1,179	2,107	0,332	0,209	0,075
21	5,043	1,190	2,183	0,348	0,216	0,083
23	4,940	1,198	2,201	0,357	0,053	0,087
25	4,864	1,261	2,206	0,366	0,222	0,094
27	4,762	1,269	2,211	0,372	0,056	0,089
29	4,654	1,285	2,214	0,383	0,214	0,093
31	4,552	1,303	2,222	0,396	0,223	0,093
33	4,456	1,234	2,124	0,410	0,219	0,102

Tempo (h)	C. g. Recol 10 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,345	0,461	0,257	0	0	0
0,5	8,839	0,493	0,540	0,013	0,399	0
1	8,571	0,498	0,716	0,018	0,404	0
1,5	8,060	0,507	0,873	0,024	0,398	0,004
2	7,775	0,544	0,925	0,023	0,337	0,004
2,5	7,377	0,578	1,123	0,028	0,368	0,009
3	6,937	0,596	1,364	0,033	0,367	0,010
3,5	6,285	0,659	1,654	0,044	0,315	0,010
4	6,243	0,727	1,839	0,051	0,305	0,011
4,5	4,960	0,833	1,225	0,065	0,326	0,025
5	4,116	0,926	2,360	0,079	0,237	0,014
5,5	3,036	1,023	2,956	0,097	0,272	0,017
6	2,136	1,110	3,315	0,115	1,368	0,020
6,5	1,138	1,275	3,799	0,129	0	0,020
7	0,471	1,354	3,900	0,137	0	0,022
7,5	0,252	1,297	4,088	0,139	0	0,024

Tempo (h)	C. p. Reol 12 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,087	0,545	0	0	0	0
0,5	9,299	0,453	0	0	0	0
1	9,303	0,460	0,183	0	0	0
1,5	9,280	0,465	0,417	0	0	0
2	9,276	0,520	0,118	0	0	0
2,5	9,258	0,508	0,412	0	0	0
3	9,249	0,518	0,448	0	0	0
3,5	9,249	0,518	0,448	0	0	0
4	9,241	0,475	0,065	0,007	0	0
4,5	9,250	0,420	0,168	0,016	0	0
5	9,250	0,380	0,178	0,010	0	0
5,5	9,222	0,403	0,213	0,019	0	0
6	9,189	0,453	0,425	0,013	0	0
6,5	9,178	0,473	0,238	0,022	0	0
7	9,180	0,518	0,271	0,055	0	0
7,5	9,122	0,570	0,280	0,025	0	0
8	9,103	0,573	0,308	0,028	0	0
8,5	9,048	0,578	0,315	0,021	0	0
9	9,003	0,633	0,245	0,025	0	0
9,5	8,951	0,673	0,307	0,030	0	0
10	8,789	0,630	0,446	0,038	0	0
10,5	8,604	0,715	0,614	0,045	0	0
11	8,372	0,810	0,748	0,057	0	0
11,5	7,500	0,775	1,165	0,081	0,136	0
12	6,733	0,813	1,279	0,102	0,142	0
13	5,593	0,995	1,264	0,124	0,015	0
14	4,922	1,263	1,557	0,160	0,143	0
15	3,633	1,240	1,919	0,193	0,147	0
16	2,372	1,103	2,231	0,227	0,148	0
17	1,353	1,618	2,325	0,253	0,173	0
18	0,628	1,648	2,523	0,278	0,022	0
19	0,453	1,655	2,598	0,309	0,023	0
20	0,212	1,668	3,125	0,370	0,023	0

Tempo (h)	C. p. Reol 29 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,202	0,720	0,500	0	0,214	0
0,5	8,666	0,720	1,962	0,011	0,354	0,004
1	7,344	0,779	2,284	0,023	0,297	0,011
1,5	6,149	0,816	2,083	0,030	0,324	0,010
2	6,004	0,872	2,332	0,039	0,296	0,012
2,5	5,063	1,013	2,639	0,049	0,415	0,018
3	4,934	1,080	2,360	0,062	0,311	0,016
3,5	3,923	1,228	2,770	0,075	0,304	0,018
4	3,283	1,333	3,109	0,090	0,413	0,025
4,5	0,954	1,445	3,381	0,107	0,558	0,033
5	0,939	1,638	3,817	0,121	0,388	0,035
5,5	0,747	1,796	3,977	0,089	0,381	0,039
6	0,353	1,908	4,144	0,137	0,554	0,047

Tempo (h)	C. p. Reol 37 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,266	0,622	0,125	0	0	0
1	9,259	0,616	1,067	0,565	0	0
2	9,177	0,604	1,162	0,077	0	0
3	9,067	0,620	1,168	0,094	0	0
4	8,966	0,644	1,235	0,106	0	0
5	8,890	0,623	1,235	0,116	0	0
6	8,727	0,604	1,320	0,132	0	0
7	8,629	0,613	1,427	0,149	0	0
8	8,506	0,699	1,434	0,161	0	0
9	8,409	0,674	7,810	0,166	0	0
10	8,303	0,688	1,472	0,176	0	0
11	8,192	0,694	1,530	0,182	0	0
12	7,092	0,760	2,158	0,293	0,165	0
13	6,993	0,751	2,190	0,301	0,161	0
14	6,861	0,660	2,285	0,314	0,187	0
16	3,740	0,734	2,332	0,330	0,322	0
18	6,628	0,587	2,301	0,482	0,474	0
20	6,491	0,820	2,324	0,351	0,321	0
22	6,388	0,795	2,567	0,344	0,340	0
24	6,305	0,701	2,381	0,359	0,317	0
26	6,305	0,810	2,274	0,374	0,326	0
28	6,110	0,807	2,273	0,387	0,335	0
30	6,014	0,810	2,221	0,396	0,339	0
32	5,916	0,799	2,187	0,412	0,318	0,005
34	5,814	0,858	2,131	0,427	0,336	0,005
36	5,759	0,781	2,150	0,432	0,286	0,005

Tempo (h)	<i>P. k. Reol 39 Fru</i> (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,547	0,541	0,252	0	0	0
0,5	9,260	0,508	0,067	0,001	0	0
1	9,016	0,583	0,266	0,005	0,021	0
1,5	8,755	0,607	0,379	0,018	0,227	0
2	8,470	0,622	0,749	0,028	0,234	0
2,5	8,215	0,577	0,588	0,043	0,284	0
3	8,012	0,673	0,695	0,051	0,023	0
3,5	7,519	0,710	0,859	0,065	0,042	0
4	7,106	0,733	1,078	0,083	0,288	0
4,5	6,745	0,692	1,245	0,100	0,307	0
5	6,233	0,806	1,399	0,117	0,058	0
5,5	5,748	0,863	1,599	0,161	0,469	0,043
6	5,147	0,877	1,878	0,181	0,473	0,039
6,5	4,493	0,936	2,188	0,181	0,369	0,014
7	3,977	0,940	2,530	0,199	0,406	0,016
7,5	3,426	1,020	2,533	0,220	0,426	0,017
8	2,838	1,087	3,299	0,252	0,471	0,037
8,5	2,155	1,098	3,197	0,263	0,458	0,020
9	1,603	1,123	3,456	0,273	0,162	0,022
9,5	1,039	1,202	3,743	0,291	0,212	0,025
10	0,473	1,232	4,189	0,305	0	0,036
10,5	0,260	1,255	4,254	0,315	0,803	0,038

Tempo (h)	<i>C. g. Reol 41 Fru</i> (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,519	0,729	0,064	0	0	0,012
0,5	8,962	0,784	0,510	0,026	0,018	0,025
1	8,793	0,771	0,393	0,029	0	0,010
1,5	8,439	0,779	0,623	0,043	0	0
2	7,963	0,797	0,810	0,054	0,135	0
2,5	7,963	0,868	1,030	0,075	0,152	0,013
3	6,898	0,943	1,257	0,110	0,260	0,026
3,5	6,064	1,042	1,726	0,129	0,015	0,018
4	5,071	1,186	2,079	0,159	0	0,019
4,5	3,890	1,287	2,550	0,106	0	0,012
5	2,949	1,520	2,940	0,226	0,073	0,014
5,5	1,677	1,664	3,490	0,261	0	0,017
6	1,024	1,741	3,668	0,273	0	0,016
6,5	0,536	1,875	3,934	0,291	0,244	0,018
7	0,220	1,949	3,859	0,287	0,231	0,016

Tempo (h)	Iso Recol 42 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,222	0,800	0,273	0	0	0
1,5	9,119	0,741	1,148	0,346	0	0
3	8,997	0,689	1,179	0,077	0	0
4,5	8,881	0,668	1,279	0,096	0	0
6	8,762	0,745	1,208	0,124	0	0
7,5	8,629	0,777	1,269	0,144	0	0
9	8,526	0,764	1,303	0,163	0	0
10,5	8,387	0,745	1,378	0,189	0	0
12	8,211	0,841	1,481	0,212	0	0
13,5	8,133	0,844	1,531	0,240	0,314	0
15	7,942	0,829	1,594	0,261	0,313	0
16,5	7,787	0,879	1,644	0,278	0,324	0
18	7,651	0,905	1,821	0,299	0,341	0
19,5	6,036	1,119	2,516	0,536	0,336	0
21	5,774	1,085	2,570	0,572	0,334	0,005
22,5	5,594	1,060	2,632	0,594	0,316	0,005
24	5,410	1,066	2,719	0,623	0,323	0,005
25,5	5,193	1,130	2,823	0,658	0,297	0,006
27	4,993	1,083	3,070	4,370	0,455	0,005
28,5	4,828	1,156	1,679	0,799	0,312	0,005
30	4,627	1,173	3,009	0,734	0,214	0,005
31	4,442	1,244	3,140	0,752	0,357	0,005
32	4,277	1,451	3,092	0,787	0,357	0,006
33	4,089	1,485	3,204	0,810	0,370	0,006
34	3,936	1,491	3,230	0,840	0,364	0,006

Tempo (h)	C. g. Recol 43 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,661	0,603	0	0	0	0
0,5	9,221	0,567	0	0	0	0
1	8,585	0,607	0,394	0,253	0	0
1,5	8,224	0,660	0,665	0,655	0	0
2	7,474	0,760	0,949	0,140	0	0
2,5	7,155	0,845	1,075	0,152	0	0
3	6,429	0,952	1,367	0,174	0	0
3,5	5,404	1,050	1,683	0,167	0	0
4	4,800	1,170	2,118	0,251	0	0
4,5	3,398	1,355	2,581	0,153	0	0
5	2,614	1,346	2,890	0,187	0	0
5,5	1,648	1,539	3,363	0,220	0	0
6	0,981	1,697	3,666	0,245	0	0
6,5	0,490	1,854	3,751	0,260	0	0
7	0,314	1,904	3,811	0,267	0	0
7,5	0,262	1,937	3,832	0,267	0	0

Tempo (h)	P. k. Recol 44 Fru (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,947	0,419	0,038	0	0,600	0
0,5	9,126	0,599	0,137	0,073	0,618	0,014
1	8,912	0,631	0,246	0,023	0,618	0,018
1,5	8,921	0,659	0,398	0,045	0,588	0,015
2	7,876	0,710	0,573	0,070	0,591	0,017
2,5	6,246	0,772	1,089	0,085	0,631	0,024
3	4,129	0,863	0,999	0,114	0,650	0,029
3,5	8,674	0,976	1,572	0,138	0,592	0,017
4	6,871	1,061	1,503	0,151	0,611	0,023
4,5	2,268	1,188	1,736	0,187	0,649	0,035
5	2,032	1,284	2,179	0,211	0,661	0,037
5,5	2,397	1,298	2,602	0,229	0,645	0,034
6	1,895	1,308	2,803	0,250	0,649	0,036
6,5	0,806	1,436	3,171	0,252	0,656	0,040
7	0,613	1,558	2,998	0,251	0,645	0,040
7,5	0,515	1,600	3,079	0,251	0,610	0,035
8	0,539	1,562	2,963	0,257	0,667	0,041
8,5	0,542	1,763	2,992	0,261	0,643	0,043
9	0,406	1,787	2,932	0,266	0,626	0,038

Apêndice 9. Dados experimentais referentes às cinéticas de crescimento e consumo de substrato com sacarose, em anaerobiose (Capítulo 4).

Sac: Sacarose; X: Concentração máxima de células formadas; Eth: Etanol; Gli: Glicerol; Ac: Acetato; Suc: Succinato; *S. c.* CAT-1: *S. cerevisiae* CAT-1; *P. k.* BB1: *P. kudriavzevii* BB1; *P. k.* BB2: *P. kudriavzevii* BB2; *S. c.* BB9: *S. cerevisiae* BB9; *M. g.* Recol 09: *M. guilliermondii* Recol 09; *C. g.* Recol 10: *Candida glabrata* Recol 10; *C. p.* Recol 12: *Candida parapsilosis* Recol 12; *C. p.* Recol 29: *C. parapsilosis* Recol 29; *C. p.* Recol 37: *C. parapsilosis* Recol 37; *P. k.* Recol 39: *P. kudriavzevii* 39; *C. g.* Recol 41: *Candida glabrata* Recol 41; *C. g.* Recol 43: *C. glabrata* Recol 43; *P. k.* Recol 44: *P. kudriavzevii* 44; Iso Recol 42: Isolado Recol 42.

Tempo (h)	S. c. Cat Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,126	0,706	0,261	0,003	0	0
0,5	8,577	0,585	0,517	0,020	0	0
1	8,593	0,898	0,695	0,036	0,206	0
1,5	8,269	0,687	0,944	0,064	0,285	0
2	7,524	0,731	1,127	0,086	0,298	0
2,5	6,595	0,884	1,550	0,124	0,464	0,005
3	5,739	1,174	1,864	0,155	0,306	0,005
3,5	4,380	1,309	2,434	0,195	0,284	0,006
4	3,187	1,551	3,041	0,241	0,223	0,011
4,5	1,643	1,684	3,747	0,287	0,248	0,015
5	0,664	1,952	4,147	0,307	0,322	0,016
5,5	0,233	2,064	4,224	0,306	0,083	0,016

Tempo (h)	<i>P. k.</i> BB1 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,222	0,543	0	0,003	0	0
1,5	8,812	0,578	0,657	0,003	0	0
3	8,232	0,626	0,673	0,004	0	0
4,5	7,917	0,600	0,759	0,038	0	0
6	7,802	0,653	0,838	0,015	0	0
7,5	7,468	0,725	0,924	0,017	0	0
9	7,408	0,730	0,924	0,019	0	0
10,5	7,623	0,778	1,017	0,021	0	0
12	7,671	0,774	1,033	0,023	0	0
13,5	7,337	0,769	1,094	0,025	0	0
15	7,669	0,789	1,115	0,026	0	0
16,5	7,731	0,836	1,166	0,030	0	0
18	7,595	0,829	1,183	0,034	0	0
19,5	7,482	0,888	1,144	0,037	0	0
21	7,174	0,871	1,231	0,040	0	0
22	7,484	0,859	1,227	0,044	0	0
23	4,698	1,106	1,823	0,091	0	0
25	4,289	1,169	1,962	0,098	0	0
25	4,028	1,175	2,032	0,100	0	0
26	4,060	1,189	2,216	0,101	0	0
27	3,790	1,214	2,083	0,106	0	0
28	3,339	1,246	2,146	0,106	0	0
29	2,927	1,271	2,152	0,119	0	0
30	3,316	1,265	2,157	0,114	0	0
31	3,171	1,285	2,192	0,116	0	0
32	3,059	1,248	1,850	0,119	0	0
33	2,967	1,299	2,167	0,120	0	0

Tempo (h)	<i>P. k.</i> BB2 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,351	0,547	0	0,005	0	0
1,5	9,660	0,609	0,088	0,003	0	0
3	9,831	0,718	0,135	0,005	0	0
4,5	9,390	0,643	0,104	0,011	0	0
6	8,176	0,642	0,126	0,008	0	0
7,5	9,354	0,590	0,138	0,007	0	0
9	8,672	0,633	0,138	0,008	0	0
10,5	9,543	0,631	0,077	0,008	0	0
12	9,816	0,642	0,105	0,008	0	0
13,5	9,814	0,712	0,148	0,009	0	0
15	8,847	0,659	0,168	0,017	0	0
16,5	8,673	0,720	0,202	0,013	0	0
18	8,825	0,701	0,144	0,003	0	0
19,5	8,557	0,715	0,126	0,011	0	0
21	8,625	0,751	0,174	0,011	0	0
22,5	8,703	0,711	0,151	0,007	0	0
24	8,595	0,715	0,168	0,006	0	0
25,5	8,629	0,727	0,166	0,007	0	0
27	8,607	0,721	0,194	0,006	0	0
28,5	8,482	0,715	0,142	0,006	0	0
30	8,279	0,714	0,225	0,010	0	0
31,5	8,273	0,714	0,180	0,009	0	0
33	8,213	0,709	0,199	0,019	0	0

Tempo (h)	<i>S. c.</i> BB9 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	10,109	0,598	0,414	0,006	0	0
1	8,672	0,684	0,923	0,026	0,359	0
2	6,399	0,738	1,210	0,056	0,390	0
3	7,092	0,825	1,612	0,098	0,240	0,009
4	5,925	0,986	2,102	0,145	0,407	0,015
5	3,946	1,219	2,863	0,218	0,297	0,021
6	2,060	1,449	3,675	0,276	0,415	0,031
7	0,375	1,550	4,479	0,311	0,513	0
8	0,188	1,700	4,566	0,314	0,340	0,039
8,5	0,125	1,819	4,437	0,317	0,540	0,021
9	0,119	1,870	4,367	0,316	0,546	0,038
9,5	0,117	1,793	4,482	0,318	0,551	0,019

Tempo (h)	M. g. Recol 09 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,911	0,611	0,263	0	0	0
1,5	8,772	0,804	1,034	0,025	0	0
3	8,772	0,800	1,087	0,035	0	0
4,5	9,102	0,811	1,120	0,037	0	0
6	9,084	0,838	1,220	0,061	0	0,006
7,5	9,120	0,879	1,275	0,076	0	0,009
9	9,169	0,944	1,344	0,084	0	0,005
10,5	9,216	0,950	1,431	0,099	0	0,007
12	9,220	0,945	1,510	0,112	0,175	0,016
13,5	9,041	0,920	1,567	0,127	0,176	0,019
15	8,762	0,935	1,671	0,137	0,186	0,024
16,5	8,840	0,999	1,751	0,148	0,337	0,027
18	8,590	0,999	1,851	0,161	0,359	0,030
19,5	8,318	1,061	2,592	0,277	0,230	0,066
21	6,824	1,094	2,647	0,280	0,051	0,067
22,5	6,621	1,145	2,697	0,286	0,213	0,070
24	6,483	1,121	1,495	0,294	0,055	0,071
25,5	6,362	1,165	2,794	0,300	0,056	0,074
27	6,204	1,163	2,859	0,305	0,058	0,075
28,5	6,062	1,161	2,925	0,310	0,060	0,078
30	5,901	1,191	2,987	0,325	0,060	0,081
31	5,840	1,278	2,865	0,354	0,231	0,090
32	5,594	1,180	3,098	0,383	0,227	0,097
33	5,457	1,200	3,185	0,395	0,238	0,101
34	5,297	1,221	3,231	0,401	0,237	0,104

Tempo (h)	C. g. Reol 10 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,262	0,568	0,313	0,074	0,024	0
0,5	8,519	0,814	0,450	0,241	0,027	0
1	7,257	0,704	0,547	0,297	0,031	0
1,5	7,628	0,887	0,584	0,349	0,031	0
2	7,331	0,726	0,621	0,327	0,030	0
2,5	7,127	0,788	0,678	0,325	0,030	0
3	7,068	0,737	0,626	0,450	0,309	0
4	7,090	0,807	0,673	0,468	0,448	0
5,5	7,227	0,734	0,655	0,381	0,190	0
7	7,944	0,749	0,639	0,377	0,047	0
8,5	7,419	0,752	0,403	0,423	0,063	0
10	7,672	0,741	0,511	0,419	0,064	0
11,5	7,751	0,762	0,463	0,391	0,057	0
13	7,752	0,767	0,405	0,392	0,073	0,003
14,5	8,001	0,703	0,419	0,426	0,076	0,005
16	6,859	0,793	0,537	0,428	0,420	0,004
17,5	5,515	0,898	0,449	0,246	0,264	0,024
19	5,591	0,994	0,446	0,240	0,240	0
20,5	5,646	0,983	0,438	0,219	0,248	0
22	6,456	0,957	0,447	0,224	0,141	0
23,5	6,133	0,975	0,423	0,208	0,279	0,033
25	6,120	0,975	0,410	0,198	0,252	0,032
26,5	6,014	0,942	0,418	0,931	0,351	0,035
28	5,914	0,936	0,411	0,167	0,338	0,032
29,5	6,165	0,986	0,389	0,174	0,352	0,033
31	5,990	0,935	0,398	0,174	0,357	0,033
32,5	5,904	0,914	0,392	0,175	0,341	0,033

Tempo (h)	<i>C. p.</i> Reol 12 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,407	0,543	0,267	0	0	0
1	9,450	0,443	0,064	0	0	0
2	8,951	0,516	0,259	0	0	0
3	9,387	0,503	0,068	0	0	0
4	9,610	0,505	0,068	0	0	0
5	8,317	0,463	0,076	0	0	0
6	8,373	0,509	0,014	0	0	0
7	9,334	0,459	0,039	0	0	0
8	9,507	0,470	0,050	0	0	0
9	9,410	0,498	0,036	0,001	0	0
10	9,729	0,529	0,040	0,001	0	0
11	9,748	0,481	0,081	0,001	0	0
12	9,762	0,507	0,060	0,002	0	0
13,5	9,728	0,496	0,072	0,003	0	0
15	8,790	0,532	0,167	0,004	0	0
16,5	9,281	0,531	0,193	0,006	0	0
18	9,188	0,505	0,222	0,036	0	0
19,5	9,460	0,421	0,230	0,008	0	0
21	9,164	0,507	0,293	0,013	0	0
22,5	9,314	0,512	0,223	0,017	0	0
24	8,850	0,576	0,369	0,020	0	0
25,5	8,590	0,608	0,325	0,027	0	0
27	8,389	0,646	0,448	0,037	0,017	0
28,5	8,334	0,690	0,645	0,055	0,025	0
30	8,098	0,766	0,889	0,076	0,080	0
31,5	8,176	0,818	0,864	0,098	0,031	0
33	8,216	1,007	0,779	0,075	0,035	0
34,5	8,239	1,134	0,715	0,084	0,053	0
36	7,944	1,309	0,937	0,094	0,061	0

Tempo (h)	C. p. 29 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	10,375	0,494	0	0	0	0
0,5	9,332	0,475	0	0	0	0
1	8,876	0,443	0,014	0	0	0
1,5	8,807	0,324	0	0	0	0
2	8,389	0,546	0,007	0	0	0
2,5	8,108	0,550	0,014	0,000	0	0
3	7,935	0,591	0,017	0,000	0	0
3,5	8,109	0,461	0,357	0,005	0	0
4	7,892	0,533	0,229	0,005	0	0
4,5	8,197	0,464	0,363	0,005	0	0
5	8,279	0,474	0,371	0,001	0	0
5,5	8,249	0,391	0,590	0,008	0	0
6	8,246	0,586	0,381	0,005	0	0
6,5	8,184	0,535	0,372	0,005	0	0
7	8,169	0,479	0,381	0,005	0	0
7,5	8,156	0,564	0,243	0,005	0	0
8	7,790	0,521	0,387	0,006	0	0
8,5	8,147	0,606	0,383	0,006	0	0
9	8,148	0,783	0,249	0,006	0	0
10	8,181	0,428	0,367	0,006	0	0
11	5,768	0,518	0,021	0,000	0	0
12	8,087	0,573	0,256	0,006	0	0
13	7,582	0,564	0,257	0,006	0	0
14	7,634	0,585	0,143	0,000	0	0
15	8,390	0,525	0,020	0,000	0	0
16	8,473	0,571	0,137	0,000	0	0
17	8,123	0,519	0,143	0,000	0	0
18	7,599	0,529	0,429	0,031	0,028	0
24	7,707	0,553	0,615	0,041	0,029	0
25	7,754	0,646	0,367	0,040	0,022	0
26	7,843	0,659	0,378	0,009	0,024	0
27	7,305	0,639	0,736	0,006	0,160	0
28	7,088	0,606	0,556	0,014	0,298	0
29	7,088	0,000	0,556	0,014	0,298	0
30	7,088	0,000	0,556	0,014	0,298	0

Tempo (h)	<i>C. p.</i> Recol 37 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	8,580	0,669	0	0	0	0
1	8,689	0,543	0,330	0	0	0
2	8,744	0,541	0,333	0	0	0
3	8,758	0,520	0,326	0	0	0
4	9,354	0,529	0,306	0	0	0
5,5	9,032	0,597	0,351	0	0	0
7	9,430	0,553	0,319	0	0	0
8,5	9,582	0,537	0,299	0	0	0
10	6,095	0,509	0,304	0	0	0
11,5	8,634	0,520	0,390	0	0	0
13	9,473	0,536	0,335	0	0	0
14,5	9,095	0,525	0,334	0	0	0
16	8,257	0,480	0,434	0	0	0
17,5	8,455	0,586	0,418	0	0	0
19	8,884	0,555	0,384	0	0	0
20,5	8,878	0,618	0,330	0	0	0
22	8,518	0,609	0,365	0	0	0
23,5	8,506	0,618	0,322	0	0	0
25	8,514	0,620	0,309	0	0	0
26,5	9,100	0,614	0,246	0	0	0
28	9,026	0,644	0,268	0	0	0
29,5	9,283	0,651	0,236	0	0	0
31	9,021	0,658	0,259	0	0	0
32,5	8,031	0,644	0,322	0	0	0
34	8,089	0,660	0,335	0	0	0

Tempo (h)	<i>P. k.</i> Recol 39 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,585	0,766	0	0,011	0	0
1	5,469	0,744	0,439	0,011	0,399	0
2	10,150	0,728	0,649	0,141	0,217	0
3	9,201	0,777	0,960	0,039	0,385	0
4	5,799	0,929	1,376	0,072	0,397	0,007
5	6,829	1,206	1,898	0,108	0,390	0,009
6	3,769	1,316	2,432	0,140	0,446	0,011
7	0,584	1,421	3,121	0,171	0,389	0,007
8	0,213	1,827	3,601	0,226	0,415	0
9	0,101	2,027	4,016	0,188	0,336	0

Tempo (h)	C. g. Reol 41 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,500	0,569	0,460	0,003	0	0
1	9,633	0,543	0,549	0,025	0	0
2	9,209	0,541	0,394	0,009	0	0
3	8,919	0,520	0,663	0,009	0	0
4	8,843	0,529	0,688	0,014	0	0
5,5	8,790	0,597	0,764	0,010	0	0
7	8,789	0,553	0,755	0,014	0	0
8,5	8,810	0,537	0,686	0,010	0	0
10	8,758	0,509	0,452	0,010	0	0
11,5	9,210	0,520	0,793	0,016	0	0
13	8,843	0,536	0,475	0,012	0	0
14,5	9,076	0,525	0,307	0,011	0	0
16	9,202	0,480	0,292	0,019	0	0
17,5	9,322	0,586	0,284	0,020	0	0
19	9,378	0,555	0,380	0,016	0	0
20,5	9,339	0,618	0,411	0,022	0	0
22	9,377	0,609	0,216	0,019	0	0
23,5	9,391	0,618	0,196	0,019	0	0
25	9,408	0,620	0,157	0,023	0	0
26,5	9,387	0,614	0,307	0,020	0	0
28	9,042	0,644	0,300	0,024	0	0
29,5	8,317	0,651	0,319	0,023	0	0
31	8,203	0,658	0,327	0,023	0	0
32,5	8,221	0,644	0,351	0,024	0	0
34	8,187	0,660	0,312	0,024	0	0

Tempo (h)	Iso Recol 42 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,275	0,754	0,227	0	0	0
1	8,401	0,842	1,236	0,001	0	0
2	8,748	0,790	1,320	0,023	0	0
3,5	8,784	0,829	1,322	0,029	0	0
5	8,396	0,837	1,409	0,035	0	0
6,5	7,967	0,827	1,549	0,053	0	0
8	8,174	0,907	1,596	0,048	0	0
9,5	7,995	0,900	1,628	0,060	0	0
11	7,788	0,899	1,707	0,068	0	0
12,5	8,185	0,938	1,747	0,077	0	0
14	7,749	0,988	1,810	0,087	0	0
15,5	7,304	0,982	1,900	0,088	0	0
17	6,638	0,899	1,962	0,100	0	0
18,5	6,591	1,003	2,471	0,167	0,361	0
19	6,184	1,090	2,482	0,171	0,377	0
20,5	6,191	1,115	2,457	0,175	0,357	0
22	6,260	1,170	2,595	0,032	0,174	0
23,5	6,349	1,206	2,455	0,176	0,344	0
25	6,258	1,194	2,371	0,189	0,231	0
26,5	6,106	1,165	2,349	0,193	0,350	0
28	6,146	1,144	2,291	0,198	0,334	0
29,5	5,937	1,188	2,303	1,850	0,200	0
31	5,516	1,219	2,225	0,197	0,331	0
32,5	6,109	1,229	2,104	0,208	0,341	0
34	5,714	1,256	2,137	0,210	0,360	0

Tempo (h)	C. g. Recol 43 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,095	0,523	0,607	0,010	0	0
1	8,742	0,581	0,575	0,018	0	0
1,5	8,868	0,578	0,510	0,023	0	0
2	8,960	0,609	0,480	0,018	0	0
3,5	9,248	0,576	0,656	0,018	0	0
5	9,505	0,650	0,611	0,020	0	0
6,5	9,612	0,698	0,551	0,022	0	0
8	9,607	0,748	0,540	0,031	0	0
9,5	9,683	0,648	0,465	0,023	0	0
11	9,584	0,871	0,416	0,023	0	0
12,5	9,456	0,865	0,420	0,037	0	0
14	9,423	0,946	0,330	0,036	0	0
15,5	9,447	0,990	0,376	0,028	0	0
17	7,264	0,820	0,693	0,025	0	0
18,5	7,327	0,773	0,417	0,029	0	0
20	7,778	0,789	0,418	0,015	0	0
21,5	7,327	0,774	0,597	0,015	0	0
23	7,409	0,755	0,459	0,027	0	0
24,5	7,063	0,791	0,287	0,022	0	0
26	6,988	0,790	0,424	0,025	0	0
27,5	7,535	0,823	0,231	0,016	0	0
29	8,137	0,829	0,155	0,113	0	0
30,5	8,274	0,896	0,127	0,016	0	0
32	7,317	0,863	0,126	0,024	0	0

Tempo (h)	<i>P. k.</i> Reol 44 Sac (g L⁻¹)	X (g L⁻¹)	Eth (g L⁻¹)	Gli (g L⁻¹)	Ac (g L⁻¹)	Suc (g L⁻¹)
0	9,340	0,645	0	0,111	0,018	0
0,5	8,983	0,622	0,302	0,025	0	0
1	8,692	0,608	0,306	0,017	0,011	0
1,5	8,653	0,700	0,614	0	0,021	0
2	8,576	0,683	0,017	0,052	0,018	0
3,5	8,773	0,739	0,713	0,028	0	0
5	9,067	0,674	0,546	0,024	0,015	0
6,5	9,462	0,694	0,536	0,019	0,013	0
8	9,093	0,718	0,514	0,061	0,017	0
9,5	9,054	0,744	0,512	0,047	0,020	0
11	8,714	0,738	0,504	0,070	0	0
12,5	8,513	0,743	0,214	0,073	0,028	0
14	8,248	0,796	0,036	0,077	0,358	0
15,5	8,093	0,835	0,011	0,049	0	0
17	8,213	0,837	0,387	0,045	0	0
18,5	8,024	0,852	0,384	0,051	0	0
20	8,128	0,845	0,377	0,016	0	0
21,5	7,944	0,982	0,361	0	0	0
23	7,612	0,861	0,425	0,063	0,016	0
24,5	8,201	0,855	0,156	0,019	0	0
26	8,822	0,824	0,215	0,039	0,010	0
27,5	8,386	0,879	0,102	0,007	0	0
29	8,073	0,852	0,174	0	0	0
30	8,073	0,852	0,174	0	0	0

Apêndice 10. Fotografias do biorreator para cultivos em anaerobiose (Capítulo 4).

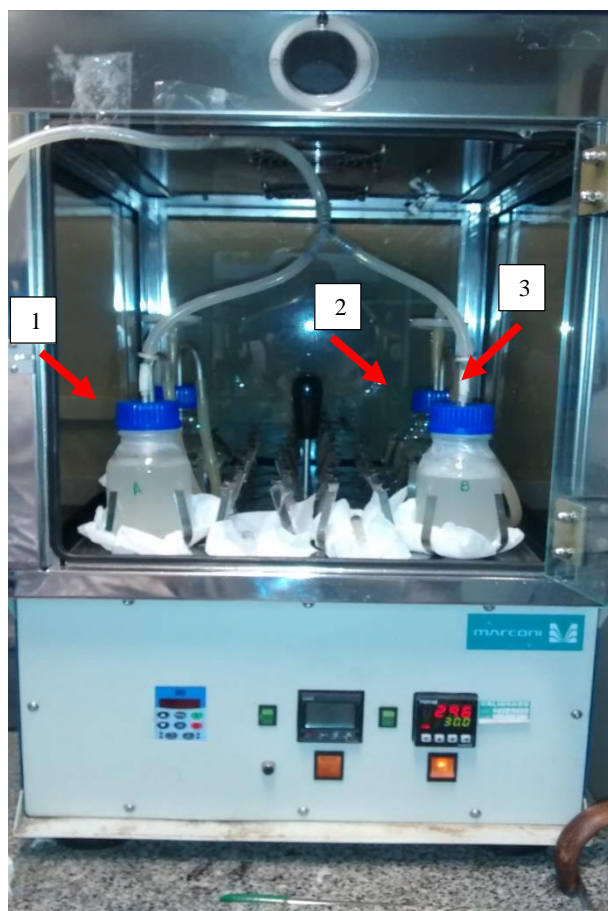


Figura 10.A. Biorreator para cultivos em anaerobiose. 1. Frasco com meio mineral utilizado para cultivos; 2. Frasco utilizado para quantificação de CO_2 com NaOH 2M; 3. Agulha para entrada de gás N_2 e retirada de amostra.

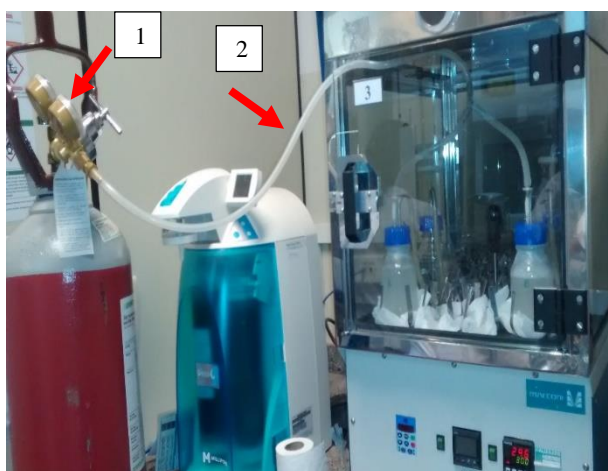


Figura 10.B. Biorreator para cultivos em anaerobiose. 1. Cilindro com gás N_2 . 2. Mangueira de silicone para transferência do gás N_2 aos cultivos.

ANEXOS

Anexo 1. Preparo de meios.

Anexo 1 A. Meio de manutenção (Meio YPD-ágar)

Extrato de levedura	10 g L ⁻¹
Peptona	20 g L ⁻¹
Glicose	20 g L ⁻¹
Agar-ágar	20 g L ⁻¹

Dissolver os componentes em água destilada.

Ajustar a pH 6,0 com KOH e autoclavar.

Autoclavar separadamente a glicose.

Misturar de modo estéril os componentes antes que ocorra a solidificação dos meios.

Tampar os recipientes (tubos ou placas) de manutenção e armazenar a 4°C.

Anexo 1 B. Meio de cultivo (Meio mineral)

VERDUYN, C.; POSTMA, E.; SCHEFFERS, W. A; VAN DIJKEN, J. P. Effect of benzoic acid on metabolic fluxes in yeasts: a continuous-culture study on the regulation of respiration and alcoholic fermentation. *Yeast*, v. 8, p. 501-517, 1992.

Anexo 1 C. Solução de elementos traço

EDTA	15,0 g L ⁻¹
ZnSO ₄ .7H ₂ O	4,5 g L ⁻¹
MnCl ₂ .2H ₂ O	0,84 g L ⁻¹
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,30 g L ⁻¹
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,30 g L ⁻¹
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,40 g L ⁻¹
CaCl ₂ .2H ₂ O	4,5 g L ⁻¹
FeSO ₄ .7H ₂ O	3,0 g L ⁻¹
H ₃ BO ₃	1,0 g L ⁻¹
KI	0,1 g L ⁻¹

Dissolver os componentes em água desmineralizada.

Ajustar a pH 4,0 com NaOH, autoclavar e armazenar a 4°C.

Anexo 1 D. Solução de vitaminas

D-biotina, 0,05 g L⁻¹

Pantotenato de cálcio 1,0 g L⁻¹

Ácido nicotínico 5,0 g L⁻¹

Mio-inositol 25,0 g L⁻¹

Cloreto de tiamina 1,0 g L⁻¹

Cloreto de piridoxol 1,0 g L⁻¹

Ácido *para*-aminobenzóico 0,20 g L⁻¹

Dissolver a D-biotina em 1 mL de NaOH 1 M.

Adicionar 80 mL de água desmineralizada à solução de biotina.

Dissolver as demais vitaminas, uma por uma, à solução de biotina e ajustar a pH 6,5 após cada adição.

Ajustar o volume a 100 mL com água desmineralizada e ajustar a pH 6,5.

Filtrar de modo estéril, dividir em porções de 5-10 mL e armazenar a 4°C.