

Imobilização de microrganismos em esferas de carragena

Immobilization of microorganisms in carrageen spheres

Bruna Paloma Ribeiro ^{1*}, Brenner Mangnabosco Marra¹, Edson Roman Nucci¹, Demian Patrick¹, Carla Cristina Araújo Parreira¹, Welberth Santos Laizo¹

RESUMO

Neste trabalho foi realizado a imobilização dos microrganismos *Saccharomyces pastorianus* e *Saccharomyces cerevisiae* na esfera de carragena realizando a atividade de fermentação através do açúcar mascavo, cristal e sacarose. O melhor açúcar utilizado é sacarose devido seu alto consumo de açúcar (81,82% e 72,72 %). Em relação aos microrganismos pode-se notar que *Saccharomyces pastorianus* tiveram maior porcentagem de consumo de açúcar (81,82%) nas esferas de carragena com a levedura (0,3g) e as que continham apenas esferas de carragena. Ressaltando que as que continham *Saccharomyces cerevisiae* também teve um alto consumo de açúcar (72,72%) nas esferas de carragena com levedura (0,3g e 0,45g), com as que continham apenas esferas de carragena e levedura (0,3g). Devido o englobamento da *Saccharomyces cerevisiae* pode-se notar uma interação maior com todos os testes demonstrando que a mesma tem uma interação melhor com a sacarose. Tais resultados indicam a imobilização celular em esferas de carragena como uma técnica promissora para a manutenção das culturas de *Saccharomyces pastorianus* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Palavras-chave: Esfera de carragena; imobilização de microrganismos; leveduras; fermentação.

ABSTRACT

In this work, the immobilization of the microorganisms *Saccharomyces pastorianus* and *Saccharomyces cerevisiae* was carried out in the carrageenan sphere, carrying out the fermentation activity through brown sugar, crystal and sucrose. The best sugar used is sucrose due to its high sugar consumption (81,82% and 72,72%). Regarding microorganisms, it can be noted that *Saccharomyces pastorianus* had a higher percentage of sugar consumption (81,82%) in the carrageenan spheres with yeast (0,3g) and those containing only carrageenan spheres. Noting that those containing *Saccharomyces cerevisiae* also had a high consumption of sugar (72,72%) in the spheres of carrageenan with yeast (0,3g and 0,45g), with those containing only spheres of carrageenan and yeast (0,3g). Due to the inclusion of *Saccharomyces cerevisiae*, a greater interaction with all tests can be noticed, demonstrating that it has a better interaction with sucrose. Such results indicate cell immobilization in carrageenan spheres as a promising technique for maintaining cultures of *Saccharomyces pastorianus* and *Saccharomyces cerevisiae*.

Keywords: carrageenan sphere; immobilization of microorganisms; yeasts; fermentation.

¹ Universidade Federal de São João Del Rei – brunapalomaribeiro0016@gmail.com

INTRODUÇÃO

Com o avanço da área da microbiologia, a utilização de microrganismos em processos biotecnológicos e em pesquisas tem aumentado, com isso, têm-se estudado formas para a potencialidade dos microrganismos, sendo necessário que estejam disponíveis, fácil transporte e que mantenham suas características e viabilidade celular (BASSANI, 2018).

Dentre esses métodos podemos destacar a imobilização de células que consiste em preservar as características das células mantendo suas atividades catalíticas ocorrendo uma reutilização das mesmas. Nos processos fermentativos utiliza-se células livres em suspensão, porém no uso de células/microrganismos imobilizados ocorre o aumento de produtividade devido a elevada concentração de células, reutilização das células por vários ciclos, aumenta a eficiência da fermentação, melhora da qualidade do produto e redução dos impactos ambientais (GEISE, 2015; COVIZZI *et al.*, 2007).

A carragena é um polissacarídeo extraído das algas marinhas vermelhas. Sua classificação é feita através das estruturas moleculares *Lambda* (λ), *Kappa* (κ) e *Iota* (ι). A carragena é bastante utilizada no setor alimentício e farmacêutico com inúmeras aplicações, como: produtos lácteos, e cárneos, produtos de limpeza, panificação, entre outros, devido suas aplicações de gelificante, espessante, agente de suspensão e estabilizante, possuindo um diferencial, a interação eletrostática entre grupos éster-sulfato nas proteínas do leite e utilizado como ligante natural para embutidos na indústria de cárneos (ARGAGEL,2022).).

As carragenas *Iota* e *Kappa* podem formar géis em água em temperatura ambiente sem refrigeração e a carragena *Lambda* é utilizada como agente espessante a frio ou a quente (NUNES *et al.*, 2003).

Uma das principais propriedades da carragena é a capacidade de formar gel ,onde no aquecimento forma-se gel termossensível que consiste na formação de duplas hélices de cadeia galactano enroladas entre si e no resfriamento, as duplas hélices formam uma rede tridimensional por meio de várias cadeias, permitindo que a hélice de uma cadeia possa formar hélices com outras cadeias, assim formando os géis. Contudo, quando ocorre o aumento do teor de sulfato, a carga negativa resultante sobre a hélice exige a presença de cátions para neutralização, como potássio ou cálcio, conhecido como agentes

reticulantes. Os cátions são essenciais para que as hélices não se desfaçam e seja possível a associação para formação do gel. Utiliza-se apenas as carragena *kappa* e *iota*, quando ocorre o aumento da quantidade de grupos sulfatos, as propriedades gelificantes diminuem (PRADO-FERNÁNDEZ *et al.*, 2003).

A carragena apresenta-se uma alternativa bem completa para imobilização de células, devido, possuir excelentes propriedades de formação de gel e aprisionamento de compostos (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2020)

A imobilização celular é a adesão/confinamento de células microbianas viáveis dentro de uma matriz preservando suas atividades catalíticas, ocorrendo naturalmente em vários habitats. Pode-se também, ser compreendida como aprisionamento de um microrganismo ou enzima em uma determinada matriz (GIESE, 2015).

Sendo divididas em naturais e artificiais. Os naturais ocorrem a formação de biofilmes e adesão/adsorção microbiana em suportes sintéticos ou naturais e também, ocorre espontaneamente em meio por meio de interações eletrostáticas. E as artificiais são realizadas as encapsulações com alginato de cálcio e as ligações das células nas matrizes é feita por meio de ligações covalente utilizando agentes ligantes (glutaraldeído) (OLIVEIRA, 2011).

Com o crescente aumento da utilização da imobilização celular, pode-se notar diversas vantagens, como: aumento do período de tempo da atividade e estabilidade do biocatalisador; favorece processos fermentativos, diminui os custos e tempo de produção; aumenta a afinidade do microrganismo pelo substrato; aumenta a tolerância á concentrações elevadas de substratos e compostos tóxicos; permite fermentações em temperaturas mais baixas; facilidade de recuperação dos produtos e separação celular do mosto; reuso de biocatalisador sem remoção do tanque fermentativo; diminui o risco de contaminação microbiológica, devido à alta concentração de células e diminuição do tempo de maturação de alguns produtos (COVIZZI *et al.*, 2007).

A imobilização de células é muito utilizada em diversas aplicações, como: produção de pigmentos; produção de enzimas; biodegradação; biotransformação; redução de sulfatos; produção de vinhos doces; produção de leite fermentado; produção de sucos e refrigerantes entre outros (COVIZZI *et al.*, 2007).

De acordo Gondim (2009), existem quatro métodos de imobilização: ligação de superfície, aprisionamento em matriz porosa, contenção por membrana e aglomeração.

A ligação de superfície utiliza o suporte sólido por forças eletrostáticas ou por ligação covalente entre membrana celular e o suporte (materiais celulósicos: DEAE-celulose, madeira, serragem; materiais inorgânicos: porcelana porosa, vidro poroso), ressaltando que a escolha do suporte dependerá das propriedades, como força mecânica, estabilidade física e química, caráter hidrofóbico/hidrofílico, capacidade de adsorção de enzimas e custos. Destaca-se a principal vantagem desse método é a facilidade de realizar este tipo de imobilização (LIMA, 2019).

No aprisionamento dentro de uma matriz porosa ocorre por meio da penetração das células na matriz porosa até que a mobilização seja obstruída por outras células ou que se forme material poroso numa cultura de células, através de uma rede rígida evitando que as células se difundam para o meio circundante (LIMA, 2019). No trabalho proposto utilizou-se o aprisionamento de matriz porosa, devido ser utilizado para fermentação e também, por ser utilizados em imobilização o de géis de polissacarídeos (k-carragenina, ágar e alginato). (MISHRA *et al.*, 2016).

A aglomeração ocorre por meio do envolvimento a agregação ou a floculação das células de maneira natural ou artificialmente induzida sem a necessidade de um suporte de imobilização. Esse método depende diversos fatores, como composição da parede celular, pH, oxigênio dissolvido e composição do meio. (GROBOILLOT *et al.*, 1994).

A contenção por barreira é conhecida como encapsulamento, utiliza-se membranas pré-formadas (reatores do tipo *hollow fiber*) ou formação *in situ* da membrana em torno das células a serem imobilizadas. Possuem vantagem de maior capacidade de contenção de células e prevenção da perda de células para o meio de fermentação (KAREL *et al.*, 1985).

Os microrganismos estão sendo imobilizados ou microencapsulado para serem reutilizados e realizar um ciclo na produção de metabólitos de interesse industrial, com isso, mantem a estabilidade, a viabilidade da cultura entre outros (GÓRAK e ŻYMAŃCZYK, 2017). Utilizou-se nesse trabalho a levedura *Saccharomyces pastorianus* e *Saccharomyces cerevisiae*.

A levedura *Saccharomyces pastorianus* (antiga *Saccharomyces carlsbergensis*) por meio de diversos estudos constatou que não é uma linhagem pura, mais sim, híbrida entre a *S. cerevisiae* e *S. eubayanus*. Considerada levedura com perfil fermentativo mais neutro e com maior capacidade de floculação e além de ser uma das mais utilizadas na

indústria alimentícia para produção de bebida juntamente com a *Saccharomyces cerevisiae* (MATOS, 2021).

A *Saccharomyces pastorianus* foi descoberta nomeados do século XIX, causando uma grande movimentação no mundo cervejeiro, sendo responsável pela fermentação de cervejas da família *lager*, sendo a espécie mais utilizada mundialmente no setor cervejeiro, sendo capaz de fazer fermentação em baixas temperaturas (GIBSON, B.R. & LITI, G., 2015).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é o primeiro eucarioto com genoma sequenciado utilizando como modelo em diversas pesquisas e considerada o maior produtor de produtos biotecnológicos do mundo, comparado a outro microrganismo, presente na produção de pães, pizzas, queijos, cervejas, vinhos e outros fermentados. Sendo, um fungo unicelular, heterotrófico e facultativo, sendo encontrado no ar, água e solo, possuindo características: pouco exigente ao meio de cultura (suportando meios ácidos e altas concentrações de açúcar), simplificação na manipulação genética, possibilitando geração e análise de mutantes e entre outras (CRUZ, 2021).

A imobilização celular é a adesão/confinamento de células microbianas viáveis dentro de uma matriz preservando suas atividades catalíticas, ocorrendo naturalmente em vários habitats. Pode-se, ser compreendida como aprisionamento de um microrganismo ou enzima em uma determinada matriz conhecida como suporte (podendo ser pectina, géis, crisólita (tipo de amianto conhecido por ter uma estrutura fibrosa, flexível, fina e sedosa), materiais cerâmicos, resíduos agroindustriais) (GIESE, 2015).

Este trabalho tem como objetivo produzir a imobilização dos microrganismos (*Saccharomyces pastorianus* e *Saccharomyces cerevisiae*) nas esferas de carragena.

METODOLOGIA

Utilizou-se a metodologia de Sankalia (2006) para os parâmetros de temperatura da água para homogeneização da carragena (70°C) e para formação do gel (T 50-60°C). As proporções da carragena e do cloreto de potássio foram realizadas através de testes realizados.

As soluções de carragena de concentração 10 g.L⁻¹ foi preparada a partir da utilização de 100 ml de água destilada previamente aquecida a 70 °C. Após o aquecimento

foram adicionadas a massa de 1g k-carragena (Cereais Bramil Ltda) para o preparo da solução. As soluções ficaram em agitação constante para completa homogeneização e formação do gel de carragena. Posteriormente, o gel produzido foi mantido em agitação até que atingisse a T 50-60°C, considerado adequado para o gotejamento. Uma solução de cloreto de potássio de 0,848 mol. L⁻¹ foi preparada água destilada (40 ml) e cloreto de potássio (2,53g). O gotejamento foi realizado por meio de uma pipeta de 3 ml e para que fiquem em formato esférico, sendo necessário pipetar 3 vezes para que a mesma ficasse quente e para melhorar o gotejamento. Em seguida, as esferas permaneceram 30 min na solução de cloreto de potássio.

Ressalta-se, que a solução de carragena ficou no agitador magnético para manter, com o objetivo que não solidificasse.

A quantidade de *Saccharomyces pastorianus* e *Saccharomyces cerevisiae* utilizada para os experimentos foi calculada por meio das taxas de inoculação (mínima: 80 g.L⁻¹ e máxima: 120 g.L⁻¹) indicadas pelo fabricante, considerando-se uma correção, devido não ser esperado a multiplicação considerável de células durante o processo de fermentação em meio sintético previamente não aerado. Foi possível definir as taxas de leveduras liofilizadas (mínima: 0,30 g e máxima: 0,45g) para fermentação do volume de 150 ml. Respeitando a indicação do fabricante, ficando 30 min submersas até a completa hidratação das leveduras.

Para a hidratação das leveduras, foi utilizado 10 vezes a mais sua concentração, demonstrado na Tabela 5.

Tabela 1. Concentrações de leveduras para os testes de fermentação.

Experimento	Taxa de inoculação de leveduras (g/150 ml)	Massa de água destilada	Concentração da solução de carragena (g.L ⁻¹)
1	0,30	3	1
2	0,45	4,5	1

A concentração inicial de sólidos solúveis no meio de cultura foi medida através do refratômetro previamente calibrado com água destilada.

Na Tabela 2 mostra a composição do meio de cultura utilizado na fermentação.

Tabela 2- Composição do meio de cultura

Composto	Massa (g)
Água Destilada	300
Açúcar (Mascavo ou Cristal ou Sacarose PA)	42
Extrato de levedura	1,5
Sulfato de Magnésio (MgSO₄)	0,21
Cloreto de Amônio (NH₄Cl)	0,36

Fonte: Acervo Próprio (2022)

Os compostos foram homogeneizados por meio da fervura durante 10 min utilizando um agitador magnético com erlenmeyer de 500 ml. As soluções ficaram vedadas para o atingir a temperatura de 26 °C naturalmente e em seguida, transferiu-se 150 mL do meio fervido para 2 erlenmeyeres de 250 ml e acrescentou-se a as esferas imobilizadas com a levedura.

Para a fermentação, utilizou-se os experimentos para verificar a atividade das leveduras imobilizadas nas esferas de carragena foram realizados utilizando como substrato o açúcar mascavo (Viver Bem), açúcar cristal (Cristal de Minas) e a D(+)-sacarose P.A. (Êxodo Científica). Os experimentos foram realizados em triplicata, conforme descrito a seguir:

- 1ª Experimento: As esferas contendo apenas carragena foram colocadas no meio sintético.
- 2ª Experimento: Sem a esfera de carragena, colocou-se a levedura de maior concentração (0,45g) diretamente no meio sintético.
- 3ª Experimento: Sem a esfera de carragena, hidratou-se a levedura e colocou a levedura de menor concentração (0,30 g) diretamente no meio sintético.
- 4ª Experimento: As esferas de carragena contendo as leveduras na maior concentração (0,45g) foram colocadas no meio sintético.
- 5ª Experimento: As esferas de carragena contendo as leveduras na menor concentração (0,30 g) foram colocadas no meio sintético.

Durante o período de 8-9 dias as amostras de açúcar cristal e mascavo e 10 dias para a sacarose ficaram no *shaker* e aferiu-se diariamente a concentração de sólidos solúveis com o uso do refratômetro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atraves da combinação de 1g/100ml e 2,53g/40ml formou-se a esfera mais utilizando a mesma no desenvolvimento do trabalho. Utilizou-se o cloreto de potássio para aumentar a firmeza, a temperatura de gelificação e a temperatura de fusão do gel. Os polifosfatos e citratos de sódio e de potássio facilitam a dissolução das carragenas, diminuindo sua viscosidade, pois sequestram íons divalentes. Favorecem a estabilidade das carragenas em meios ácidos e a carragena forma colóides e géis em meios aquosos em concentrações muito baixas (CANILLA *et.al*, 2006).

AÇÚCAR MASCAVO

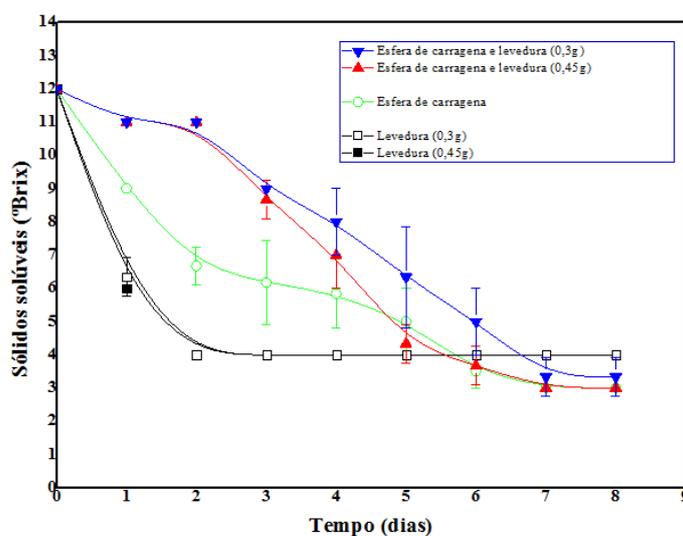
Na Figura 4 verifica-se que houve um consumo do açúcar em todos os experimentos propostos. Porém, quando se analisa cada experimento separadamente, pode-se observar variações. Nos Experimentos 2 e 3, que utilizavam as leveduras livres (sem imobilização na carragena), observou-se que houve um consumo de açúcar mais rápido em relação aos demais experimentos, ficando estável no segundo dia. O açúcar serviu de alimento para as leveduras, fazendo-as multiplicarem-se, servindo posteriormente como fonte de energia e carbono (LIMA,2017). No experimento 1, pode-se observar que consumo total do açúcar mascavo, mostrando que a carragena absorve que está ao seu redor para fortalecer sua função gelificante e para fortalecer sua interação eletrostática (ARGAGEL, 2022).

Nos Experimentos 4 e 5, pode-se notar que a velocidade de consumo foi um pouco mais lenta devido ter uma competição entre a levedura e a carragena, devido a levedura consumir o açúcar dentro da carragena. E também, duas considerações: o lote do açúcar mascavo utilizado nas 4^a e 5^a experimento foi diferente aos demais com isso, podemos ter influência na concentração de vitaminas e minerais. Quanto mais escuro o açúcar mascavo maior a quantidade de cálcio, ferro, potássio e magnésio (RÓS, 2019). E que

houve uma variação de temperatura (26 a 31°C) que foi observado em todos os experimentos podendo influenciar no consumo devido a levedura ter uma boa ativação em até 26°C. Ocorreu essa variação de temperatura devido a sala estar sempre fechada a todo momento. Porém, ao realizar novamente os experimentos coloquei o ar condicionado na circulação é o mesmo se manteve entre 26 a 29°C.

Mesmo ocorrendo essas variações mostrou-se eficaz, como o trabalho de Sankalia e colaboradores (2006), que observaram que o método proposto pode ser usado para preparar esferas de carragena carregadas com α -amilase para melhoria da estabilidade. Além disso, a seleção adequada da concentração de carragena controladora da taxa e seu potencial interativo para reticulação é importante e determinará o tamanho geral e a forma das esferas, a duração e o padrão dos perfis de dissolução e a capacidade de carga da enzima.

Figura 1. Experimentos realizado com açúcar mascavo, com temperaturas entre 26 e 31°C.



açúcar cristal

Na Figura 5, observou-se que os Experimentos 2 e 3 (levedura diretamente no meio sintético 0,45 g e 0,30 g, respectivamente), obtiveram pouco consumo comparado aos demais experimentos, podendo ser explicado que açúcar cristal tem mais processos químicos, com isso, ocorre uma diminuição da quantidade de nutrientes disponíveis e com isso a levedura não consome totalmente o açúcar presente, podendo ser explicado

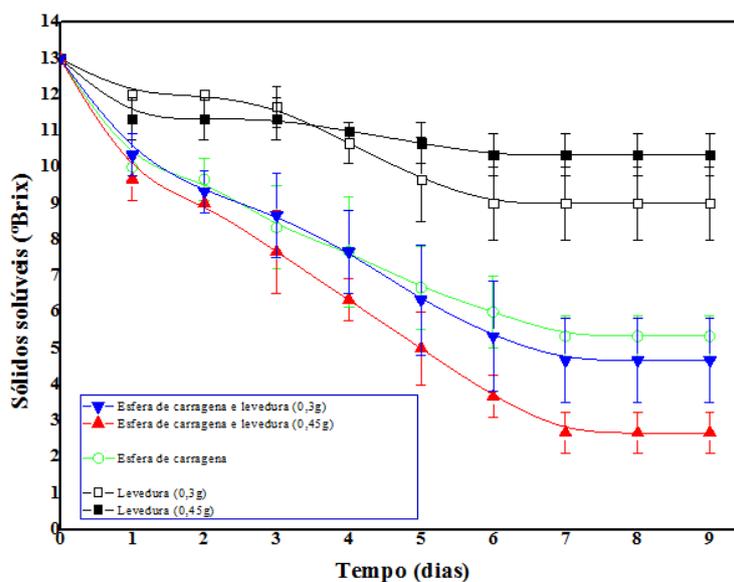
por Lima (2017), devido às leveduras precisarem de nutrientes para multiplicar e sobreviver ao meio.

No Experimento 1 (apenas as esferas de carragena), houve o consumo total do açúcar mostrando que a carragena para adequar-se ao meio ela consome tudo que está no seu redor para poder se fortalecer (ADAMANTE; MINOSSO,2012).

Em relação aos Experimentos 4 e 5(imobilização das esferas de carragena 0,45 g e 0,30 g, respectivamente), demonstraram uma certa similaridade, podendo ser explicado que a carragena juntamente com a levedura possuem uma interação com sais, polissacarídeos e proteínas, consumindo o açúcar com um todo (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2020) e se beneficiando como sua fortificação da sua função gelificante.

Como mostrado, o estudo de Lau *et al.*, (1998) demonstraram evidências de que o gel de carragena não teve efeitos adversos efeito sobre o crescimento e fisiologia do imobilizado microalga. A atividade enzimática também foi conservada em as células imobilizadas. A carragena poderia, assim, ser uma matriz de gel alternativa para imobilizar microalgas, mostrando-se eficiente para a realização do estudo.

Figura 2. Experimentos realizado com açúcar cristal, com temperaturas entre 26 e 31°C.

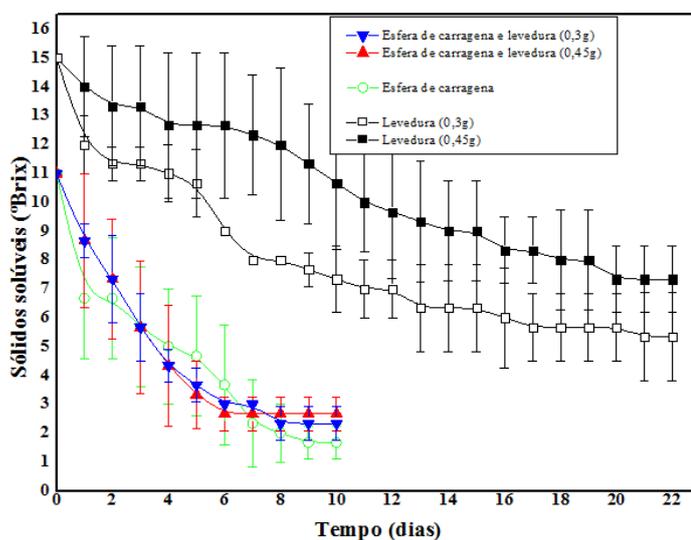


Realizando uma análise sobre o consumo de açúcar mascavo e cristal, pode-se notar que teve o mesmo comportamento realizado por Calik e colaboradores (1999), Pramanik e colaboradores (2011), Sankalia (2005) e Lau *et al.*, (1998) considerando-se eficaz para o estudo, devido os mesmos, terem comportamento parecido com os artigos descritos e chegou-se no objetivo almejado, onde as esferas de carragena consomem o açúcar do meio presente.

SACAROSE

Na Figura 6, observou-se que houve um consumo de todos os experimentos de forma satisfatória e um pouco mais rápida comparada ao açúcar cristal e mascavo. Sendo explicado devido a sacarose ser uma molécula polar e também seu transporte ocorrer através de membranas a favor do gradiente de concentração (difusão facilitada). E também, a carragena kappa são solúveis em soluções de sacarose até 65% após o aquecimento a 70°C .

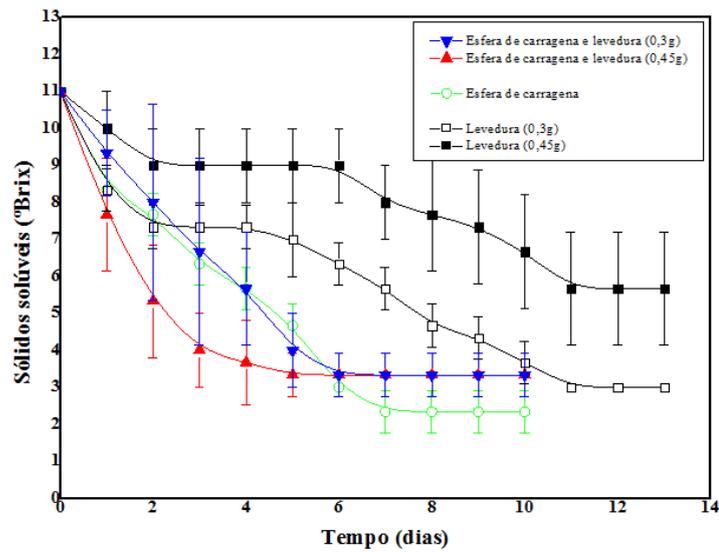
Figura 3 - Experimentos realizado com sacarose com *Saccharomyces pastorianus* com temperaturas entre 26 e 31°C.



Notou-se que houve consumo maior das esferas que continham *Saccharomyces cerevisiae* foram mais rápidas para consumo total e logo em seguida, estabilização, comomostrado na Figura 4. Na fermentação, o açúcar servirá como combustível

(alimento) para leveduras desenvolverem, fazendo assim, sua multiplicação, em seguida, servindo como fonte de energia e carbono para demais etapas e também, para formação do CO₂ e do álcool (GÓRAK e ŻYMAŃCZYK, 2017).

Figura 4- Experimentos realizado com sacarose *Saccharomyces cerevisiae* com temperaturas entre 26 e 31°C.



COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS

Na Tabela 3 realizou-se uma comparação entre os resultados dos três açúcares (mascavo, cristal e sacarose) com as duas leveduras *Saccharomyces pastorianus* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Tabela 3- Comparação entre os resultados com a *Saccharomyces pastorianus*

	AÇÚCAR MASCADO		AÇÚCAR CRISTAL		SACAROSE		SACAROSE (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	
	$\Delta^{\circ}\text{Brix}$	% de consumo de açúcar	$\Delta^{\circ}\text{Brix}$	% de consumo de açúcar	$\Delta^{\circ}\text{Brix}$	% de consumo de açúcar	$\Delta^{\circ}\text{Brix}$	% de consumo de açúcar
Esfera de carragena com levedura (0,3g)	9	75%	8	61,54%	9	81,82%	8	72,72%
Esfera de carragena com levedura (0,45g)	9	75%	10	76,92%	8	72,73%	8	72,72%
Esfera de carragena	9	75%	7	53,85%	9	81,82%	8	72,72%
Levedura (0,3g)	8	66,67%	4	30,77%	9	60%	8	72,72%
Levedura (0,45g)	8	66,67%	2	15,38%	7	46,67%	5	45,45%

CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos no presente trabalho, pôde-se concluir que o desenvolvimento das esferas de carragena e a imobilização *Saccharomyces pastorianus* e *Saccharomyces cerevisiae* eficaz para o estudo.

De acordo com a Tabela 3 pode-se notar que houve uma diferença significativas entre as amostras. No açúcar mascado, pode-se notar que com as que contiam com esferas de carragena com leveduras e apenas as esferas de carragena consumiram 9 °C Brix de açúcar, ou seja, consumiu 75% de todo açúcar que estava na solução. Já as que contiam apenas as leveduras, consumiram 8°C Brix significando que 66,67% do açúcar que continha na solução.

O açúcar cristal, teve uma variação entre as amostras, demonstrando que as esferas de carragena com levedura (0,45g) consumiram mais comparado as demais, sendo 10°C Brix denotando que 76,92% de todo açúcar presente na solução. Os demais que continham as esferas de carragena tiveram resultados bons, apenas as esferas de carragena consumiram 7°C Brix consumindo 53,85% do açúcar da solução, já as esferas de carragena com levedura (0,3g) consumiram 8°C Brix demonstrando que consumiram 61,54% na solução de açúcar e as leveduras (0,3g) consumiu 4°C Brix significando 30,77% consumido na solução de açúcar presente e a levedura (0,45g), consumiu 2°C Brix demonstrando que ela consumiu 15,38% de todo o açúcar que estava presente na solução.

A sacarose com a *Saccharomyces pastorianus* obtiveram resultados excelentes nos 5 testes realizado: as esferas de carragena com levedura (0,3g) consumiu 9°C consumindo 81,82% de todo o açúcar da solução; as esferas de carragena com levedura (0,45g) consumiram 8°C Brix demonstrando que consumiram 72,73%; apenas as esferas de carragena consumiram 9°C Brix significando 81,82% de todo o açúcar que estava presente na solução; as leveduras (0,3g) consumiram 9°C significando 60% do açúcar presente na solução foi consumido e as leveduras (0,45g) consumiram 7°C Brix demonstrando que 46,67% do açúcar presente na solução foi consumido.

A sacarose que continham *Saccharomyces cerevisiae* obtiveram resultados muito bons, porque as esferas de carragena com leveduras (0,3g), esferas de carragena com levedura (0,45 g), esferas de carragena e a levedura (0,3g) consumiram 8 °C, ou seja, 72,72% do açúcar presente na solução foi consumido, apenas a levedura (0,45g) consumiram 5°C representando 45,45% do açúcar consumido na solução.

Com esses resultados, pode-se notar que o melhor açúcar a ser utilizado é a sacarose devido ter a maior porcentagem de consumo de açúcar (81,82%) da solução das esferas de carragena com a levedura (0,3g) e apenas as esferas de carragena, contendo *Saccharomyces pastorianus* (81,82%) e as esferas que continham *Saccharomyces cerevisiae* também, obtiveram resultados excelentes (72,72%) de consumo da solução de açúcar com as esfera de carragena com levedura (0,3g e 0,45g), apenas as esferas de carragena e a levedura (0,3g). Devido o englobamento da *Saccharomyces cerevisiae* pode-se notar uma interação maior com todos os testes demonstrando que a mesma tem uma interação melhor com a sacarose. Tais resultados indicam a imobilização celular em

esferas de carragena como uma técnica promissora para a manutenção das culturas de *Saccharomyces pastorianus* e *Saccharomyces cerevisiae*.

REFERÊNCIAS

ADAMANTE, J. MINOSSO, N. **Avaliação da viscosidade de carragenas comerciais.** Trabalho de conclusão de curso, apresentado como requisito parcial para a obtenção do Grau de Tecnólogo, do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Medianeira, 2012.

ADITIVOS & INGREDIENTES. **Carragenas: Kappa, Iota, Lambda, Um, Nu e Theta.** Disponível em: <https://aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201602/2016020229627001454324315.pdf>. Acesso em 29 de set 2020.

AGARGEL – **Carragena.** Disponível em < <http://www.agargel.com.br/carragena.html>>. Acesso em 14 de jun de 2022.

BASSANI, J. C. **Imobilização de células microbianas em esferas de alginato de cálcio e avaliação da viabilidade celular e estabilidade bioquímica em diferentes condições de armazenamento.** Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, do Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Área de Concentração: Química de Alimentos, 2018.

CALIK, G; SAVADCI, H; CALIK, P; OZDAMAR, T.H., **Growth and k-carrageenan immobilization of Pseudomonas dacunhae cells for L-alanine production.** Department of Chemical Engineering, 06100 Tandog˘an, Ankara, Turkey Received 20 August 1997; revised 1 June 1998; accepted 24 June 1998.

CANILLA, L., CARVALO, W. SILVA, J. B. A., **Biocatalizadores imobilizados. Uso de células e enzimas imobilizadas em processos biotecnológicos.** Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento ano IX - nº 36 - janeiro/junho, 2006.

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

CRUZ, H. R., **Avaliação da relação C/N no desempenho da levedura Saccharomyces cerevisiae CAT-1.** Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Microbiologia Agrícola. USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2021.

GIBSON, B.R.; LITI, G., **Saccharomyces pastorianus: genomics insights inspiring innovation for industry.** Yeast, 32, 17-27, 2015.

GIESE, E. C.. **Potencial biotecnológico do uso de micro-organismos imobilizados em gel de alginato de cálcio.** Rio de Janeiro: Cetem/mcti, 47 p., 2015.

GIESE, E. C.. **Potencial biotecnológico do uso de micro-organismos imobilizados em gel de alginato de cálcio.** Rio de Janeiro: Cetem/mcti, 47 p., 2015.

GROBOILLOT, A.; BOADI, D. K.; PONCELET, D.; NEUFELD, R. J., **Immobilization of cells for application in the food industry**. Critical Reviews in Biotechnology. v.14, p.75-107, 1994.

KAREL, S.F.; LIBICKI, S.B.;ROBERTSON, C.R. **The immobilization of whole cells:Engineering principles**. ChemicalEngineering Science, v.40,p.1321-54, 1985.

LAU, P.A.; TAMB, N.F.Y. ; WONG, F.S. **Effect of carrageenan immobilization on the physiological activities of *Chlorella vulgaris***. Volume 63, Pages 115-121Issue 2, February 1998.

LIMA, M. N., **Estudo da imobilização de células *saccharomyces cerevisiae* em bagaço de caju** – Avaliação de diferentes tratamentos. TCC (Graduação) – Curso de Engenharia Química, Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró, 2019.

LIMA, R. B., **Avaliação de parâmetros físicos, químicos e microbiológicos formadores de flocos em açúcar cristal branco**. Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. USP- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2017.

MATOS, T. T. S., **Novas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* e híbridos entre *S. cerevisiae* e *Saccharomyces kudriavzevii* para a produção de cerveja, cachaça e vinho**. Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Microbiologia, 2021.

MISHRA, A.; SHARMA, A. K.; SHARMA, S.; BAGAI, R.; MATHUR, A. S.; GUPTA, R. P.; TULI, D. K. **Lignocellulosic ethanol production employing immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in packed bed reactor**. Renewable Energy, v. 98, p. 57–63, 2016.

NUNES, M. C.; BATISTA, P.; RAYMUNDO, A.; ALVES, M. M.; SOUZA, I. **Vegetable proteins and Milk puddings**. Colloides and surfaces B: Biointerfaces, p. 21-29, 2003.

OLIVEIRA, M. A. **Produção de cerveja de baixo teor alcoólico utilizando leveduras imobilizadas em biopolímero**. Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Engenharia de Processos da Universidade Tiradentes, 2011.

PRADO-FERNÁNDEZ. J. A, RODRÍGUEZ-VÁSQUEZ; TOJO, E.; ANDRADE, J. M., **Quantitation of κ -, ι -and λ -carrageenans by mid-infrared spectroscopy and PLS regression**. Analytica Chemical Acta, v.480, p.23-37, 2003.

PRAMANIK, S; MCEVOY, J. SIRIPATTANAKUL, S; KHAN, E. **Effects of cell entrapment on nucleic acid content and microbial diversity of mixed cultures in biological wastewater treatment**. Bioresource Technology 102, 2011.

RÓS, R. R., **Caracterização química, físico-química, higiênico-sanitária e sensorial de açúcar mascavo produzido por sistemas convencional e orgânico**. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Tecnológica Federal do Paraná -

UTFPR, Câmpus Medianeira, como parte dos requisitos para a conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos. MEDIANEIRA, 2019.

SANKALIA, M. G.; MASHRU, R. C.; SANKALIA, J. M.; SUTARIYA, V. B., **Stability improvement of alpha-amylase entrapped in kappa-carrageenan beads: physicochemical characterization and optimization using composite index.** International. Journal of Pharmarceutical Sciences. V. 312, p.1–14, 2006.

GÓRAK, M.; ŻYMAŃCZYK, E. D. . **Reductive Activity of Free and Immobilized Cells of Cyanobacteria toward Oxophosphonates—comparative Study.** Journal of Applied Phycology, v.29, n.1, p. 245–253, 2017.

Recebido em: 12/01/2023

Aprovado em: 15/02/2023

Publicado em: 23/02/2023