



UNIVERSIDADE FEDERAL DE TOCANTINS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

SÍLVIO JACKSON FÉLIX ALVES

**APLICAÇÃO DE LEVEDURAS AUTÓCTONES DE FRUTOS DA AMAZÔNIA EM  
PANIFICAÇÃO: FERMENTAÇÃO E ENRIQUECIMENTO PROTEICO COM  
*SINGLE-CELL PROTEIN***

PALMAS, TO

2023

SÍLVIO JACKSON FÉLIX ALVES

**APLICAÇÃO DE LEVEDURAS AUTÓCTONES DE FRUTOS DA AMAZÔNIA EM  
PANIFICAÇÃO: FERMENTAÇÃO E ENRIQUECIMENTO PROTEICO COM  
*SINGLE-CELL PROTEIN***

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Tocantins no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, em atendimento às exigências do PPGCTA, para obtenção do título de Mestre, na seguinte linha de pesquisa: *Biotecnologia Aplicada a Indústria de Alimentos*.

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup> Dra. Claudia Cristina Auler do Amaral Santos

PALMAS, TO

2023

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

- A474a    Alves, Sílvia Jackson Félix.  
          Aplicação de leveduras autóctones de frutos da Amazônia em  
          panificação: fermentação e enriquecimento proteico com Single-Cell Protein. /  
          Sílvia Jackson Félix Alves. – Palmas, TO, 2023.  
          98 f.  
  
          Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins  
          – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em  
          Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2023.  
          Orientadora : Claudia Cristina Auler do Amaral Santos  
  
          1. pão. 2. proteína unicelular. 3. biomassa microbiana. 4. leveduras  
          selvagens. I. Título

**CDD 664**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

SÍLVIO JACKSON FÉLIX ALVES

**APLICAÇÃO DE LEVEDURAS AUTÓCTONES DE FRUTOS DA AMAZÔNIA EM  
PANIFICAÇÃO: FERMENTAÇÃO E ENRIQUECIMENTO PROTEICO COM  
*SINGLE-CELL PROTEIN***

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 02 de agosto de 2023, pela Banca  
Examinadora constituída pelos membros:

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Sandra Regina Ceccato Antonini – UFSCar

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Caroline Roberta de Freitas Pires – UFT

---

Prof. Dra. Claudia Cristina Auler do Amaral Santos – UFT

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus, e depois a mim mesmo pelo esforço que fiz até conseguir chegar aqui e depois a todo apoio dos meus familiares e amigos, que seguiram confiando na minha capacidade.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar sabedoria, capacidade e saúde para conseguir terminar e atingir meus objetivos.

Agradeço minha mãe e a meus familiares que me deram força e apoio, mesmo que a distância, mas sei que emanavam boas energias.

Agradeço a meus amigos e companheiros que acreditaram em mim e me deram força e apoio, estes que foram essenciais.

Agradeço a meu Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LMA) e ao Jhonatha que me deram total suporte nas minhas análises e me abrigaram aqui.

Agradeço a minha orientadora Claudia Auler, que me incentivou, teve paciência, cativou, deu o máximo de si para que eu pudesse chegar tão longe como cheguei.

Agradeço ao Guilherme, Lucas e Maria Eugênia, alunos de iniciação científica, que me auxiliaram e contribuíram na realização dos experimentos.

Agradeço a professora Dra. Solange Carreiro e ao Laboratório de Microbiologia Aplicada (LAMA) pelo suporte no meu trabalho.

Agradeço ao Laboratório de Análise de Alimentos (LANA) e ao Douglas pelo grande suporte nas análises físico-químicas.

Agradeço a professora Dra. Caroline Roberta, Maria Luciana, Anielli e aos laboratórios do complexo de nutrição pelo suporte na análise sensorial e por abrir as portas para que eu conseguisse colocar em prática meu produto.

À CAPES pela concessão de recursos de custeio para o desenvolvimento do Projeto PROCAD-AM (nº 88881.200497/2018-01).

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA).

À Universidade Federal do Tocantins (UFT) pela infraestrutura disponibilizada para a execução dos experimentos.

## RESUMO

As leveduras selvagens isoladas de frutos apresentam potencial biotecnológico em processos fermentativos, devido a capacidade de fermentar açúcares complexos, tolerar tanto altas temperaturas quanto o congelamento, altas concentrações de etanol e meios com alta pressão osmótica. *Single-Cell Protein* (SCP) são proteínas oriundas das células secas de microrganismos. A levedura é um dos principais microrganismos utilizados para processos fermentativos e produção de SCP devido ao certificado de Presunção de Segurança Qualificada de várias espécies. Neste estudo foram avaliadas leveduras selvagens isoladas de frutos da Amazônia para sua aplicação na fermentação de pães e produção de SCP. Foram realizados testes de toxicidade (aminas biogênicas e sulfeto de hidrogênio), *screening* para fermentação dos pães (teste de estresse, fermentação de carboidratos, crescimento em diferentes temperaturas, osmotolerância, criotolerância e tolerância a etanol) e produção de SCP (densidade óptica, açúcares redutores totais, cinética de crescimento e análise de proteínas), resultando na seleção de duas leveduras para a fermentação de pães (BCL 49.1 e BCL 5.2), e uma (BCL 188.4) foi escolhida para a produção de SCP, devido à maior produção de proteínas no substrato utilizado (40,22% no meio farinha da coroa do abacaxi e 81,71% no caldo YEPG). Os pães feitos com as leveduras BCL 49.1 e BCL 5.2 tiveram menor aceitação que a *S. cerevisiae* comercial, no entanto, se tratando de perfil de aroma a BCL 5.2 não apresentou diferença significativa em comparação à levedura controle. A adição do SCP aos pães resultou em alterações nas características físico-químicas, como aumento nos teores de lipídios, cinzas, fibras e carboidratos, e diminuição nos teores de açúcares redutores totais. Não houve diferença estatística nos teores de proteínas entre os pães enriquecidos e não enriquecidos. Concluiu-se que as leveduras selvagens foram capazes de fermentar os pães e produzir SCP com alto teor proteico, no entanto, devido a quantidade utilizada de SCP não afetaram diretamente a quantidade de proteínas dos pães, mas sim as características físico-químicas.

**Palavras-chave:** pão; proteína unicelular; biomassa microbiana; leveduras selvagens.

## ABSTRACT

Wild yeasts isolated from fruits have biotechnological potential in fermentation processes, due to their ability to ferment complex sugars, tolerate both high temperatures and freezing, high concentrations of ethanol and media with high osmotic pressure. Unicellular Protein (SCP) are proteins derived from dry cells of microorganisms. Fermentation is one of the main microorganisms used for fermentation processes and production of SCP due to the Presumption of Qualified Safety certificate of several species. In this study, wild yeasts isolated from Amazonian fruits were evaluated for their application in bread fermentation and SCP production. Toxicity tests (biogenic amines and hydrogen sulfide), bread fermentation screening (stress test, carbohydrate fermentation, growth at different temperatures, osmotolerance, cryotolerance and ethanol tolerance) and SCP production (optical density, sugars), total reducers, growth kinetics and protein analysis), resulting in the selection of two yeasts for the fermentation of breads (BCL 49.1 and BCL 5.2), and one (BCL 188.4) was chosen for the production of SCP, due to the higher production of proteins in the substrate used (40.22% without pineapple crown flour medium and 81.71% without YEPG broth). Breads made with BCL 49.1 and BCL 5.2 yeasts had less facilities than commercial *S. cerevisiae*, however, when it comes to the aroma profile of BCL 5.2, there was no significant difference compared to the control yeast. The addition of SCP to breads improved changes in physicochemical characteristics, such as an increase in lipid, ash, fiber and carbohydrate contents, and excess total reducing sugar contents. There was no statistical difference in protein content between enriched and non-enriched breads. It was concluded that the wild yeasts were able to ferment the breads and produce SCP with a high protein content, however, due to the amount of SCP used, they did not directly affect the amount of proteins in the breads, but the physicochemical characteristics.

**Keywords:** bread; unicellular protein; microbial biomass; wild yeasts.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fluxograma de processo dos pães.....	40
<b>Figura 2.</b> Viabilidade das leveduras selvagens criopreservadas em leite desnatado (10%) a -80 °C em um período de 21 dias .....	52
<b>Figura 3.</b> Consumo de açúcares redutores totais pelas leveduras selvagens durante cultivo em caldo YEPG a 30 °C em um período de 48h para a produção de SCP.....	55
<b>Figura 4.</b> Curva de crescimento das leveduras selvagens ao longo de 48h de cultivo em caldo YEPG a 30 °C.....	56
<b>Figura 5.</b> Curva de crescimento x Consumo de açúcares redutores totais da levedura BCL 188.4 no substrato da coroa do abacaxi, incubada a 37 °C em um período de 48h .....	62
<b>Figura 6.</b> Pães produzidos com a levedura controle e as leveduras selvagens (BCL 49.1 e BCL 5.2) sem enriquecimento do SCP.....	64
<b>Figura 7.</b> Pães produzidos com a levedura controle e as leveduras selvagens (BCL 49.1 e BCL 5.2) com enriquecimento do SCP .....	64
<b>Figura 8.</b> Gráfico do desprendimento de CO <sub>2</sub> pela levedura controle e pelas leveduras selvagens nos pães com e sem enriquecimento de SCP em um período de 2 horas durante a fermentação primária.....	65
<b>Figura 9.</b> Gráfico de barras do volume específico dos pães produzidos com a levedura controle e as leveduras selvagens e enriquecidos com SCP oriundo da fermentação da farinha da coroa do abacaxi .....	66
<b>Figura 10.</b> Distribuição em faixas etárias e gêneros dos provadores não treinados na análise sensorial dos pães fermentados com a levedura controle e as selvagens. ....	73
<b>Figura 11.</b> Diagrama de aranha da análise sensorial dos pães fermentados com as leveduras selvagens e a controle.....	74

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Função dos principais ingredientes utilizados na panificação .....	26
<b>Tabela 2.</b> Preparação das diluições da solução padrão de glicose a 1,0 g/L.....	35
<b>Tabela 3.</b> Crescimento das leveduras selvagens em caldo YEPG suplementados com etanol e sacarose, incubados a 30 °C por 48h .....	46
<b>Tabela 4.</b> Crescimento das leveduras selvagens selecionadas em caldo YEPG a 20 °C, 30 °C e 40 °C, incubadas por 48h.....	50
<b>Tabela 5.</b> Crescimento das leveduras selvagens em caldo YEPG contendo 10% de NaCl e 50% de glicose, incubadas a 30 °C por 48h .....	51
<b>Tabela 6.</b> Tolerância das leveduras selvagens em caldo YEPG suplementado com diferentes concentrações de etanol e incubadas a 30 °C por 48h.....	54
<b>Tabela 7.</b> Teor de proteínas da biomassa obtida pelas leveduras selvagens cultivadas em caldo YEPG, incubadas a 30 °C por 48h.....	57
<b>Tabela 8.</b> Análises físico-químicas e composição centesimal das farinhas da coroa e da casca do abacaxi e da farinha do bagaço do caju .....	58
<b>Tabela 9.</b> Colorimetria das farinhas da coroa e da casca do abacaxi e da farinha do bagaço do caju .....	60
<b>Tabela 10.</b> Teor de proteínas produzido pela levedura BCL 188.4 nos substratos utilizados, a 37 °C por 48h.....	61
<b>Tabela 11.</b> Velocidade volumétrica de consumo do substrato da levedura BCL 188.4 utilizando farinha de coroa de abacaxi como substrato, incubada a 37 °C por 48h .....	63
<b>Tabela 12.</b> Análises físico-químicas e composição centesimal dos pães produzidos com a levedura controle e as leveduras selvagens com e sem o enriquecimento do SCP .....	67
<b>Tabela 13.</b> Colorimetria do miolo dos pães produzidos com a levedura controle e as leveduras selvagens com e sem o enriquecimento do SCP .....	70
<b>Tabela 14.</b> Colorimetria da crosta dos pães produzidos com a levedura controle e as leveduras selvagens com e sem o enriquecimento do SCP. ....	71

<b>Tabela 15.</b> Avaliação microbiológica dos pães com e sem enriquecimento do SCP fermentados com as leveduras selvagens e a controle.....	72
<b>Tabela 16.</b> Avaliação dos atributos sensoriais em escala hedônica dos pães fermentados com as leveduras selvagens e a controle .....	75
<b>Tabela 17.</b> Teste de ordenação dos pães fermentados com as leveduras selvagens e a controle quanto ao aroma e a preferência .....	75

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Leveduras selvagens autóctones dos frutos amazônicos (bacupari, tucumã e pupunha) que foram reativadas .....	30
<b>Quadro 2.</b> Produção de sulfeto de hidrogênio pelas leveduras selvagens em ágar LA médio, incubadas a 30 °C por 7 dias .....	44
<b>Quadro 3.</b> Produção de amins biogênicas pelas leveduras selvagens inoculadas em ágar YEPG suplementado com 0,006% de púrpura de bromocresol e 1% de mix de aminoácidos	45
<b>Quadro 4.</b> Fermentação em diferentes carboidratos pelas leveduras selvagens, incubadas a 30 °C por 72h.....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ART</b>	Açúcares redutores totais
<b>Aa</b>	Atividade de água
<b>BCL</b>	Leveduras isoladas do bacupari
<b>FCA</b>	Farinha da casca do abacaxi
<b>FCJ</b>	Farinha do bagaço do caju
<b>FCO</b>	Farinha da coroa do abacaxi
<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>PPL</b>	Leveduras isoladas da pupunha
<b>QPS</b>	<i>Qualified Presumption of Safety</i>
<b>SCP</b>	<i>Single-Cell Protein</i>
<b>TCL</b>	Leveduras isoladas do tucumã
<b>YEPG</b>	<i>Yeast Extract Peptone and Glucose</i>

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>Introdução e Justificativa</b> .....	<b>16</b>
<b>2.</b>	<b>Revisão de literatura</b> .....	<b>18</b>
2.1.	Fungos.....	18
2.2.	Leveduras Selvagens.....	19
2.3.	<i>Single-Cell Protein</i> .....	20
2.4.	Substratos para a produção de SCP .....	22
2.5.	Potencial dos Frutos Amazônicos para Bioprospecção Microbiana.....	23
2.6.	Pão e Seus Componentes .....	25
<b>3.</b>	<b>Objetivos</b> .....	<b>28</b>
3.1.	Objetivo Geral.....	28
3.2.	Objetivos Específicos .....	28
<b>4.</b>	<b>Metodologia</b> .....	<b>29</b>
4.1.	Reativação das Leveduras.....	29
4.2.	Morfologia das Leveduras .....	30
4.3.	Criopreservação das Cepas de Leveduras.....	31
<b>4.4.</b>	<b>Screening das Leveduras</b> .....	<b>31</b>
4.4.1.	Produção de Sulfeto de Hidrogênio .....	31
4.4.2.	Produção de Aminas Biogênicas .....	31
<b>4.5.</b>	<b>Screening das Leveduras para Fermentação dos Pães</b> .....	<b>31</b>
4.5.1.	Teste de Exclusão de Estresse .....	31
4.5.2.	Fermentação de Carboidratos .....	32
4.5.3.	Crescimento em Diferentes Temperaturas.....	33
4.5.4.	Osmotolerância .....	33
4.5.5.	Criotolerância.....	33
4.5.6.	Tolerância a Etanol .....	33
<b>4.6.</b>	<b>Screening das Leveduras para Produção de <i>Single-Cell Protein</i></b> .....	<b>34</b>
4.6.1.	Açúcares Redutores Totais .....	34
4.6.2.	Fermentação.....	35
4.6.3.	Análise de Proteínas.....	36
4.7.	Tratamento dos Resíduos para Produção do Substrato.....	36
4.8.	Composição Centesimal e Análise Físico-Química das Farinhas .....	37
4.9.	Produção de <i>Single-Cell Protein</i> .....	38
4.10.	Preparo do Inóculo.....	38
<b>4.11.</b>	<b>Preparo dos Substratos para Produção de <i>Single-Cell Protein</i></b> .....	<b>38</b>
4.11.1.	Velocidade Volumétrica de Consumo de Substrato .....	38

4.12.	Obtenção do Fermento Fresco para Fermentação do Pão.....	39
4.13.	Padronização do Inóculo para Fermentação do Pão .....	39
4.14.	Produção dos Pães .....	40
4.15.	Análises Físico-Químicas e Composição Centesimal dos Pães.....	41
4.16.	Liberação de CO <sub>2</sub> .....	41
4.17.	Volume Específico.....	41
4.18.	Análise Microbiológica.....	41
4.19.	Análise Sensorial .....	42
4.20.	Análise Estatística.....	43
<b>5.</b>	<b>Resultados e Discussão .....</b>	<b>43</b>
5.1.	Reativação e Morfologia das Leveduras.....	43
<b>5.2.</b>	<b>Screening das Leveduras .....</b>	<b>43</b>
5.2.1.	Produção de Sulfeto de Hidrogênio .....	43
5.2.2.	Produção de Aminas Biogênicas .....	45
<b>5.3.</b>	<b>Screening das Leveduras para Fermentação dos Pães .....</b>	<b>46</b>
5.3.1.	Teste de Exclusão de Estresse .....	46
5.3.2.	Capacidade de Fermentar Carboidratos .....	47
5.3.3.	Crescimento em Diferentes Temperaturas.....	49
5.3.4.	Osmotolerância .....	51
5.3.5.	Criotolerância.....	52
5.3.6.	Teste de Tolerância a Etanol.....	53
<b>5.4.</b>	<b>Screening para Produção de <i>Single-Cell Protein</i>.....</b>	<b>55</b>
5.4.1.	Consumo de Açúcares Redutores Totais .....	55
5.4.2.	Curva de Crescimento.....	56
5.4.3.	Produção de Proteínas em caldo YEPG.....	57
5.4.4.	Composição Centesimal e Análises Físico-Químicas das Farinhas .....	58
<b>5.4.5.</b>	<b>Seleção do Substrato para Produção do <i>Single-Cell Protein</i>.....</b>	<b>61</b>
5.4.5.1.	Análise de Proteínas da Levedura no Substrato.....	61
5.4.6.	Crescimento x Consumo de Açúcares Redutores no Substrato .....	62
5.4.7.	Velocidade Volumétrica de Consumo de Substrato na Farinha da Coroa do Abacaxi 63	
<b>5.5.</b>	<b>Produção dos Pães .....</b>	<b>64</b>
5.5.1.	Análise de Desprendimento de CO <sub>2</sub> .....	65
5.5.2.	Volume Específico dos Pães.....	66
5.6.	Análises Físico-Químicas e Composição Centesimal dos Pães.....	67
5.7.	Análises Microbiológicas dos Pães.....	72
5.8.	Análise Sensorial dos Pães .....	73

<b>6.</b>	<b>Considerações Finais .....</b>	<b>76</b>
<b>7.</b>	<b>Perspectivas .....</b>	<b>76</b>
	<b>Referências .....</b>	<b>77</b>
	<b>APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....</b>	<b>92</b>
	<b>APÊNDICE B – Fichas da Análise Sensorial.....</b>	<b>94</b>