



INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CAMPUS MORRINHOS
CURSO SUPERIOR EM TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

THUANNE MUNIZ AMARAL

TRABALHO DE CURSO

FATORES DE CONTROLE NO PROCESSO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA: UMA REVISÃO

MORRINHOS-GO

2022

THUANNE MUNIZ AMARAL

**FATORES DE CONTROLE NO PROCESSO DA
FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA: UMA REVISÃO**

Trabalho de curso apresentado ao curso Superior de Tecnologia em Alimentos do Instituto Federal Goiano – campus Morrinhos, para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Suzane Martins Ferreira

MORRINHOS-GO

2022

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

A485f Amaral, Thuanne Muniz
 FATORES DE CONTROLE NO PROCESSO DA FERMENTAÇÃO
ALCOÓLICA: UMA REVISÃO / Thuanne Muniz Amaral;
orientadora Suzane Martins Ferreira. -- Morrinhos,
2022.
 37 p.

TCC (Graduação em Superior de Tecnologia em
Alimentos) -- Instituto Federal Goiano, Campus
Morrinhos, 2022.

1. Cana-de-açúcar. 2. Saccharomyces Cerevisiae. 3.
Etanol. 4. Eficiência Industrial. I. Martins
Ferreira, Suzane, orient. II. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 5.615, de 16 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- Tese (doutorado) Artigo científico
 Dissertação (mestrado) Capítulo de livro
 Monografia (especialização) Livro
 TCC (graduação) Trabalho apresentado em evento

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Thiuanne Muniz Amaral

Identificador

2014104210310244

Título do trabalho:

Fatores de controle no processo da fermentação alcoólica : uma revisão

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justificar

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIF Goiano: 10/06/2022

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

Quo referido(a) autor(a) declara:

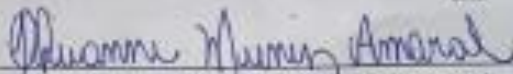
- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de qualquer material incluído no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que esse material cujos direitos autorais são de terceiros, está claramente identificado e reconhecido no texto ou conteúdo do documento eletrônico;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Município

Local

30/06/2022

Data



Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

SUZANE MARTINS
FERREIRA-00840628142

Assinado de forma digital por SUZANE
MARTINS FERREIRA-00840628142
Dados: 2022.06.30 14:54:00 -0400

Assinatura do(a) orientador(a)



Ministério da Educação
Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica Instituto Federal Goiano
Campus Morrinhos
Curso Superior de Tecnologia em Alimentos

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CURSO – TC

No dia 08 de abril de 2022, às 11:15 horas, reuniu-se a banca examinadora composta pelos docentes: Suzane Martins Ferreira (orientadora), Erlon Alves Ribeiro (membro), Taysa Martins de Oliveira (membro externo), para examinar o Trabalho de Curso intitulado "FATORES DE CONTROLE NO PROCESSO DE FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA: UMA REVISÃO" do(a) estudante Thuanne Muniz Amaral, Matrícula nº 2014104210310244 do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos do IF Goiano – Campus Morrinhos. A palavra foi concedida ao (a) estudante para a apresentação oral do TC, houve arguição do (a) candidato pelos membros da banca examinadora. Após tal etapa, a banca examinadora decidiu pela APROVAÇÃO do (a) estudante. Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata que segue assinada pelos membros da Banca Examinadora.

A média obtida foi de 9,4, sendo considerado o (a) aluno (a)

aprovado sem ressalvas.

aprovado com ressalvas.

não foi aprovado.

SUZANE MARTINS FERREIRA
CPF: 00640626142

Suzane Martins Ferreira
Orientador(a)

Taysa Martins de Oliveira

Taysa Martins de Oliveira
Membro externo

ERLON ALVES RIBEIRO
CPF: 00640626142

Erlon Alves Ribeiro
Membro

Observação:

O(a) estudante não compareceu à defesa do TC.

THUANNE MUNIZ AMARAL

**FATORES DE CONTROLE NO PROCESSO DA
FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA: UMA REVISÃO**

Aprovada em 8 de Abril de 2022, pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Ms. Taysa Martins de Oliveira

Membro externo

Dr. Erlon Alves Ribeiro

Departamento de Alimentos / IFgoiano Campus Morrinhos

Membro

Dra. Suzane Martins Ferreira

Departamento de Alimentos / IFgoiano Campus Morrinhos

Presidente / Orientador

DEDICATÓRIA

Dedico a todos os professores do curso, que foram tão importantes na minha vida acadêmica e no desenvolvimento deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, sempre presente na minha vida, me dando força coragem e saúde para nunca desistir dos meus sonhos. E a todas as pessoas que de uma forma ou de outra me ajudaram na realização desse trabalho, direta ou indiretamente.

A minha querida mãe Rosangela Muniz, pois sem ela eu não poderia ter realizado esse curso. Agradeço a ela por todos os momentos em que me deu forças pra continuar e pelo amor incondicional, paciência e carinho.

A professora Orientadora Dra. Suzane Martins Ferreira por toda a ajuda e dedicação, ao auxílio no decorrer do desenvolvimento do trabalho, colaborando com toda sua experiência. Agradeço pelos conselhos que vou carregar pela vida toda, pela dedicação e preocupação, pela oportunidade e paciência principalmente nessa reta final.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1.	PRODUÇÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR E ETANOL	13
2.1.1	História da cana-de-açúcar no Brasil	13
2.1.2	Produção de cana-de-açúcar no Brasil	14
2.1.3	Produção de etanol no Brasil	15
2.1.4	Importância das usinas sucroalcooleira	16
2.2	TIPOS DE FERMENTAÇÃO	17
2.2.1	Fermentação alcoólica	17
2.2.2	Fermentação láctica	18
2.2.3	Fermentação acética	19
2.3	PROCESSO DE PRODUÇÃO DO ETANOL.....	20
2.3.1	Processo fermentativo	22
2.3.2	Levedura: agente da fermentação alcoólica	25
2.4	FATORES QUE INFLUENCIAM A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	26
2.4.1	Concentração etanólica	26
2.4.2	Concentrações de açúcares e concentração de fermento	27
2.4.3	pH	28
2.4.4	Temperatura	28
2.4.5	Exigências nutricionais	29
2.4.6	Sulfito	30
2.4.7	Contaminação bacteriana: <i>Lactobacillus</i>	30
2.4.8	Antissépticos	32
2.4.9	Antibióticos	33
3.	CONCLUSÃO	34
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

RESUMO

O Brasil tem grande destaque no cenário mundial, configurando o maior produtor de cana-de-açúcar, o maior produtor de açúcar e o segundo em produção de etanol. Este trabalho de revisão de literatura buscou elucidar sobre a cana-de-açúcar, as etapas do processo de obtenção de etanol, e quais os fatores que influenciam em seu processo fermentativo. Essa proposta se justifica, tanto por fatores econômicos que podem contribuir com a indústria, seja nos aspectos produtivos e de rendimento do processo. Entretanto, os fatores que influenciam a fermentação alcoólica são: a concentração etanólica, de açúcar e fermento, pH, temperatura, exigências nutricionais e presença de sulfito. No entanto, se acometida a viabilidade celular da levedura, provoca um impacto, com aumento do tempo de fermentação, gerando gastos elevados, além disso, possibilita o aumento das contaminações bacterianas, afetando na qualidade do produto final. Portanto, considerando a relevância do etanol no Brasil, aprender sobre os fatores que interferem na fermentação alcoólica, assim como, as medidas que aprimoram a eficiência de sua obtenção, se faz necessário continuamente em benefício dos inúmeros avanços no processo industrial.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar; *Saccharomyces Cerevisiae*; Etanol; Eficiência Industrial.

1. INTRODUÇÃO

A produção do etanol se originou na antiguidade, com os egípcios na produção de vinho para consumo. Já no Brasil começou no século XX em suas primeiras décadas. Em consequência da crise do petróleo na década de 1970 elevou-se a produção de álcool combustível. Mas de fato, apenas se estabeleceu no ano de 1975, por meio do programa governamental, PRO-ÁLCOOL, com o intuito de substituir os veículos movidos à gasolina por veículos movidos a álcool. Esse programa foi desenvolvido em razão do aumento do preço do barril de petróleo, da probabilidade de esgotamento e necessidade de uso de energia limpa e renovável (RODRIGUES; ROSS, 2020).

O Brasil é referência mundial na produção de etanol a partir da cana-de-açúcar. O setor sucroenergético no Brasil é formado por 370 unidades produtoras em atividade, de acordo com Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. O valor bruto movimentado pela cadeia sucroenergética supera US\$ 100 bilhões, com um PIB (Produto Interno Bruto) de aproximadamente US\$ 40 bilhões (montante equivalente a cerca de 2% do PIB brasileiro) (UNICA, 2019).

A tecnologia de produção de etanol no Brasil está desenvolvida e se consolida a cada dia, o potencial do biocombustível produzido pelo país fortifica a sua posição como potência regional com influência global. Com isso, pode-se afirmar que a produção de etanol no Brasil está sendo aprimorada, pois o país ocupa segunda posição na produção mundial de etanol, confirmando a tradição na cultura de cana-de-açúcar (RODRIGUES; ROSS, 2020).

O etanol obtido a partir do caldo de cana-de-açúcar é atualmente o combustível com maior capacidade de atender à demanda por energia alternativa no setor de transporte do Brasil. Dessa forma, ocorreu grande crescimento da cadeia produtiva da cana-de-açúcar no país, devido à associação na produção do açúcar e do etanol (RIBEIRO et al., 2015).

O setor sucroalcooleiro no Brasil tem um histórico de sucessivas crises de viabilidade econômica, as quais estão vinculadas às oscilações de preço do petróleo. Essas crises são resultantes do custo do etanol produzido comparado ao custo correspondente da gasolina, que varia com o preço do petróleo (OLIVEIRA et al., 2020).

Portanto, a fabricação de etanol é obtida por meio de um processo biológico no qual utiliza açúcares, como a glicose, frutose e sacarose, que são convertidos em energia celular com produção de etanol e dióxido de carbono como resíduos metabólicos. Esse processo é comumente conhecido como fermentação alcoólica. Para a produção de etanol a partir da fermentação, é necessário que uma série de parâmetros seja atendida para que o processo

ocorra da maneira esperada e seja produzido um combustível de qualidade (RIBEIRO et al., 2015).

Assim sendo, o bom desempenho de um processo fermentativo depende de fatores físicos, químicos e microbianos. Dentre os fatores físicos, a temperatura e a pressão osmótica; químicos, a reação do meio, oxigenação, os nutrientes minerais e orgânicos e a ocorrência de inibidores. Já para os fatores microbianos são: a espécie, a linhagem, a concentração do microrganismo eleito para o processo e a presença de contaminantes. Ressaltando que a redução da eficiência fermentativa conduz a alteração na estequiometria do processo e causa aumento na formação de produtos secundários, com predominância de glicerol e ácidos graxos, e aumento na massa celular (LIMA, 2019).

Dessa forma, há constante demanda de pesquisas, desenvolvimento e investimentos nas áreas de fermentação e destilação, a fim de manter a competitividade, com destaque em temas como rendimento de fermentação, controle microbiológico da fermentação e conscientização do processo de destilação (OLIVEIRA et al., 2020).

Este trabalho de revisão de literatura tem como objetivo esclarecer a cana-de-açúcar, as etapas do processo para obtenção do etanol, e quais são os fatores que influenciam em seu processo fermentativo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O presente capítulo tem a finalidade de apresentar a importância do controle microbiológico na fermentação alcoólica, por meio de uma revisão bibliográfica envolvendo consulta de artigos e livros.

2.1. PRODUÇÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR E ETANOL

2.1.1 História da cana-de-açúcar no Brasil

A cana-de-açúcar é cultivada no Brasil há quase cinco séculos, inserida por Martin Afonso, resultando em uma das atividades da história brasileira mais bem sucedida com produtos tradicionais como açúcar e etanol (MARIN; NASSIF, 2013). Em razão, dos fatores serem favoráveis para o seu desenvolvimento, uma vez que apresentava: solos férteis, água abundante, temperaturas quentes, relevos planos e mão de obra indígena numerosa (RODRIGUES; ROSS, 2020).

Após, algumas poucas décadas da chegada dos portugueses ao Brasil, as primeiras mudas de cana-de-açúcar que trouxeram foram plantadas, começando o cultivo desta gramínea no país. Iniciando na Capitania de São Vicente (litoral paulista) como pioneira no cultivo dessas, os canaviais começaram a ser implantados, primeiramente, nas porções litorâneas da costa brasileira e, posteriormente, também nas áreas interioranas. E foi em Pernambuco que essa planta se estabeleceu (CARVALHO et al., 2017).

A cultura de cana-de-açúcar na Região Centro-Sul do país teve início nas proximidades da cidade de Santos. Na Região Norte-Nordeste, o primeiro engenho foi construído em 1535, situado na cidade de Olinda, no Estado de Pernambuco. Em 1560 ocorreu um elevado crescimento da produção de açúcar do Brasil fixando a posição de Portugal como o maior exportador mundial de açúcar, sendo que este domínio continuou por três séculos subsequentes. Contudo, no final do século XVII e início do século XVIII, a indústria açucareira destacou nas Antilhas (Jamaica, Cuba, República Dominicana e etc.) o que provocou uma diminuição da participação da indústria açucareira brasileira no mercado internacional (RODRIGUES; ROSS, 2020).

A produção açucareira do país estava quase delimitada ao mercado interno no início do século XX, sofrendo uma grande crise que culminou com a intervenção governamental que aplicou mecanismos estatais de proteção do setor açucareiro, no início da década de 1930.

Desse modo, foi criado o Instituto do Açúcar e do Alcool (IAA) e em 1941 surgiu o Estatuto da Lavoura Canavieira, que fiscalizava o fornecimento de cana, seu preço e uma série de regulamentos que facilitaram a modernização do setor. Na época de criação do IAA, a produção de açúcar se limitava à Região Nordeste do país, assim, as regiões centro e sul eram abastecidos pela produção nordestina. Com o surgimento da Segunda Guerra Mundial o transporte marítimo foi prejudicado entre o nordeste e o sul, gerando uma desafiadora crise de abastecimento nos estados centrais e do sul (LOPES, 2011).

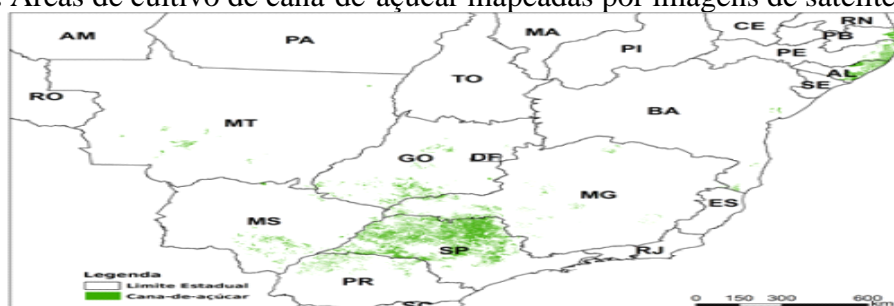
Depois, na década de 1970, ocorreu uma crise do petróleo, elevando-se a produção de álcool combustível. Assim, no ano 1975, o governo promoveu o Programa Nacional do Alcool PROALCOOL, com o intuito de substituir os veículos movidos à gasolina por veículos movidos a álcool. Esse programa foi desenvolvido em razão do aumento do preço do barril de petróleo, da probabilidade de esgotamento e necessidade de uso de energia limpa e renovável. Devido à urgência de consumo de energia limpa e políticas de produção, tanto no cenário nacional quanto em outros países, pesquisam alternativas para produção de energia renovável, com o objetivo de minimizar a emissão de gases de efeito estufa (MARIN; NASSIF, 2013).

2.1.2 Produção de cana-de-açúcar no Brasil

A produção de cana-de-açúcar, na safra 2021/22, está estimada em 568,4 milhões de toneladas, apontando redução de 13,2 % em relação à safra passada. A área total de cana-de-açúcar a ser colhida está estimada em 8.264,4 mil hectares, representando uma redução de 4,1 % em relação ao ocorrido na temporada passada (CONAB, 2021).

Na Figura 1, são destacadas em verde as regiões do país em que se podem encontrar as maiores áreas plantadas com essa planta, onde observar-se que o estado de São Paulo é responsável pela maior área cultivada entre as demais regiões (CONAB, 2019).

Figura 1. Áreas de cultivo de cana-de-açúcar mapeadas por imagens de satélite



Fonte: CONAB, 2019.

O Centro-Sul (que agrega os Estados das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste) corresponde por 93% deste volume, enquanto os 7% restantes cabem aos Estados da região Norte- Nordeste (UNICA, 2019). Os cinco estados que mais cultivam cana-de-açúcar por mil/t no país estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1 – Os estados brasileiros que mais produzem cana-de-açúcar.

Estado	Área (em mil t)	Porcentagem (%)
São Paulo	287.438,7	50,6
Goiás	71.726,5	12,6
Minas Gerais	64.825,1	11,4
Mato Grosso do Sul	45.419,5	8,00
Paraná	31.930,5	5,60

Fonte: CONAB, 2021

As áreas para a expansão de cana-de-açúcar no entorno das usinas estão a cada safra se tornando mais limitadas, o que provavelmente levará à estabilização desse tipo de uso (RODRIGUES; ROSS, 2020). Os principais destaques para a produção de cana-de-açúcar são (Tabela 1): São Paulo, principal estado produtor, Goiás, segundo maior produtor, Minas Gerais, terceiro maior produtor, Mato Grosso do Sul, quarto maior produtor e Paraná, quinto maior produtor.

2.1.3 Produção de etanol no Brasil

O Brasil é o segundo maior produtor e exportador global de etanol (ranking liderado pelos Estados Unidos) (UNICA, 2019). A produção de etanol no Brasil foi comprometida devido às chuvas abaixo da média e a ocorrência de geadas em junho e julho. Dessa forma, prejudicaram o desenvolvimento da cana-de-açúcar, acarretando com que a moagem da cana, principalmente na Região Centro-Sul, alcançasse um dos menores níveis de produção dos anos anteriores. A produção brasileira de etanol à base de cana-de-açúcar na safra 2021/22 foi estimada em 24,8 bilhões de litros, representando um decréscimo de 16,6% em relação à última safra (CONAB, 2021).

De acordo com o CONAB (2021), a Região Sudeste, maior produtora nacional, será responsável, por 56,5% do etanol produzido no país, seguido da Região Centro-Oeste (32,8%), Nordeste (5,6%), Sul (3,9%) e Norte (0,9%). Os estados: São Paulo, Goiás, Minas

Gerais e Mato Grosso do Sul, permaneceram como os maiores produtores de etanol (Tabela 2).

Tabela 2 – Os estados brasileiros e suas respectivas produções de etanol.

Estado	Etanol (mil litros)	Porcentagem (%)
São Paulo	11.046.378,5	44,5
Goiás	4.678.604,2	18,8
Minas Gerais	2.732.860,2	11,0
Mato Grosso do Sul	2.594.741,8	10,4
Paraná	1.008.143,6	3,9
Mato Grosso	867.538,7	3,5

Fonte: CONAB, 2021

2.1.4 Importância das usinas sucroalcooleira

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. O setor sucroenergético no Brasil é formado por 370 unidades produtoras em atividade, de acordo com Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (UNICA, 2019). Na safra de 2018/2019 foram exportados 19,91 milhões de toneladas de açúcar, o que manteve o Brasil na posição de principal exportador mundial, seguido pelas exportações tailandesas, de 11,5 milhões de toneladas, e indianas, de 4 milhões de toneladas. Como principais destinos estão Bangladesh, Argélia, Índia, Arábia Saudita e Nigéria (Companhia Nacional de Abastecimento, 2019; IBGE, 2019).

Em relação ao etanol, o Brasil é o segundo maior produtor mundial, detendo 28% do mercado, ao exportar aproximadamente 1,82 milhão de m³ de etanol, principalmente para os Estados Unidos, Coreia do Sul, Japão, Holanda e Colômbia. Foi antecedido apenas pelos Estados Unidos, que produziu 60,56 milhões de m³ de etanol de milho (RFA, 2019; CONAB, 2019).

Logo, a geração de energia baseada na biomassa de cana-de-açúcar, em 2018, foram gerados 35.435 TWh de energia de bagaço de cana, dos quais 21,4 TWh destinados à comercialização no mercado e 14 TWh para consumo próprio da usina, concluindo-se que o setor apresenta autossuficiência energética. A capacidade de geração de biomassa da cana teve um aumento superior a 70% nos últimos cinco anos, chegando a 11,4 GW em outubro de 2018. Aproximadamente 223 usinas comercializam energia (BRASIL, 2019).

As modificações sofridas na maneira de produzir e a forma de comercialização dos produtos exigiram das empresas maior eficácia administrativa e econômica devido ao acirramento da concorrência frente aos principais produtos, o açúcar e o álcool. O Brasil exportou 27,8 milhões de toneladas de açúcar no ciclo 2017/2018 – quantia equivalente a 45% da exportação mundial. Também é o segundo maior produtor global de etanol (UNICA, 2018).

2.2 TIPOS DE FERMENTAÇÃO

A fermentação é um conjunto de reações químicas exotérmicas, anaeróbicas e enzimáticas em que ocorre a produção de ATP, a partir da degradação de moléculas de glicose para obtenção de energia, liberando resíduos finais a depender do tipo de processo (BRAZ, 2016).

A Glicólise é um processo que ocorre sem a presença de oxigênio e que tem como produto final ATP (adenosina trifosfato) e ácido pirúvico. Dessa forma, a glicose ($C_6H_{12}O_6$) é oxidada e formam-se duas moléculas de ácido pirúvico ($C_3H_4O_3$). O agente oxidante é o NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo) que é transformado em NADH (reduzido) devido à captura de hidrogênios livres. O saldo energético é de duas moléculas de ATP para iniciar a glicólise e cada ácido pirúvico produz 2 ATPs (NOVELLO, 2015).

Portanto, no processo de glicólise forma-se o ácido pirúvico que é acceptor de elétrons do NADH, o que permite regenerar o NAD. O NAD é capaz de voltar a ser utilizado na oxidação da glicose com formação de 2 ATP. Os produtos finais da fermentação dependem da molécula orgânica que é produzida a partir do ácido pirúvico. Assim sendo, existem vários tipos de fermentação, o que altera é a molécula orgânica que é acceptora do hidrogênio na fase de redução do ácido pirúvico (HAUTRIVE, 2021).

2.2.1 Fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica é realizada por leveduras, bactérias e tecidos vegetais no hialoplasma. Resultando em formação de etanol a partir da glicose e liberação de gás carbônico para o meio. A relevância para a indústria se propicia pela transformação do etanol em produtos como bebidas alcoólicas, álcool combustível, panificação e de limpeza. (SAGRILLO et al., 2015). A concepção do álcool se realiza em três etapas: escolha do substrato, fermentação e destilação (LIMA et al., 2014).

A escolha do substrato utilizado para produção de álcool é bastante variável, constituídos de produtos açucarados (cana-de-açúcar, mel, beterraba, melão e frutas) e amiláceos (amido de grãos, raízes e tubérculos) (HAUTRIVE, 2021). Os substratos açucarados são denominados mosto (LIMA et al., 2014). No processo de fermentação, as leveduras mais empregadas são as *saccharomyces cerevisiae* e a *saccharomyces uvarum* (STEINLE, 2013).

A atividade da reação de fermentação decorre do tipo de glicídio usado, o que ocasiona bebidas diferentes, devido à fermentação de matérias primas específicas que expõem diferentes teores alcoólicos, como a cerveja (3 a 5%) e o vinho (10 a 15%) (SIROMA, 2013). Por fim, a destilação, alguns tipos de bebidas alcoólicas envolve um processo de destilação após o de fermentação. O princípio da destilação se baseia na diferença entre o ponto de ebulição da água (100°C) e do álcool (78,4°C). A mistura água e álcool apresenta ponto de ebulição variável em função do grau alcoólico desejado (HAUTRIVE, 2021).

2.2.2 Fermentação láctica

A fermentação láctica é realizada por leveduras, bactérias e tecidos animais no hialoplasma, resultando em formação de ácido láctico a partir da glicose. Para a indústria é interessante devido à produção de derivados do leite como o queijo, leite fermentado, requeijão, em produtos cárneos como salames e linguiças, peixes fermentados e em produtos enlatados fermentados, na produção de pickles e chucrutes. Os microrganismos mais utilizados são: *Lactobacillus* e *Pediococcus*, *Staphylococcus* e *Micrococcus* (SAGRILLO et al., 2015).

O ácido láctico produz nos alimentos transformações benéficas, tais como, a fermentação do leite que resulta em vários tipos de produtos: coalhada, iogurte e queijo. Todos eles possuem durabilidade (ou vida de prateleira) mais extensa do que a do leite fresco. Esse fato deve-se à produção do ácido láctico, que resulta em maior acidez e abaixamento do pH do meio, dificultando o crescimento de microrganismos que podem fazer mal à saúde humana ou deteriorar o produto (MARTINS et al., 2014).

Outrossim, as bactérias ácido-láticas são utilizadas na produção de alimentos e bebidas. Porém, também podem acarretar a produção de aromas e sabores desagradáveis nos mesmos (EMBRAPA, 2011). Desse modo, provocam alterações indesejáveis como em sucos de frutas, cervejas e vinhos (SAGRILLO et al., 2015). Sucos naturais ou concentrados de frutas e vegetais normalmente apresentam pH baixo, variando de 2,4 para suco de limão a 4,2 para o suco de tomate. O alto teor de água e a presença de quantidade considerável de

açúcares favorecem o crescimento de bactérias. Em temperaturas elevadas acima de 35° C, os lactobacilos são favorecidos e produzem ácido lático e compostos voláteis (PINTO et al., 2018).

Ademais, as bactérias lácticas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Pediococcus* são anaeróbios facultativos. Essas são as que mais acometem a produção das cervejarias, visto que esses organismos são responsáveis por aproximadamente 70% da deterioração do produto (VENTURINI FILHO, 2018). Estas bactérias podem produzir turbidez e mudanças de sabor desagradáveis, como a acidez e odores atípicos na cerveja (SAKAMOTO; KONINGS, 2003).

Além do mais, estes microrganismos podem induzir um efeito depreciativo na qualidade do vinho se a sua proliferação ocorrer no período errado no processo de vinificação, produzindo metabólitos indesejáveis. Estes podem então, gerar odores e turvação (causadas pela formação de carbonato de etila e pela produção de aminas biogênicas, particularmente histamina, tiramina e putrescina) (SILVA, 2005).

Segundo Lacerda (2017), a fermentação láctica se processa de dois modos: homoláctica e heteroláctica. Os microrganismos da fermentação homoláctica são os estreptococos e lactobacilos (MUÑOZ et al., 2016). As bactérias heterolásticas são do gênero *Leuconostoc* e alguns *Lactobacillus* originando ácido lático, CO₂, etanol, manitol e ácido acético (GARCÍA-HERNÁNDEZ et al., 2016).

Essas bactérias agem sobre diversos substratos como vegetais ricos em amido e soro do leite. A fermentação ocorre quando o ácido pirúvico é diretamente reduzido a ácido lático pelo NADH. A soma das ações de microrganismos, com as características de cada um, visa um efeito desejado no produto final (HAUTRIVE, 2021).

2.2.3 Fermentação acética

A fermentação acética é uma reação química que incide na oxidação parcial do álcool etílico, com fabricação de ácido acético. Esse processo é utilizado na produção de vinagre comum e do ácido acético industrial. Desenvolve-se também na deterioração de bebidas de baixo teor alcoólico e na de certos alimentos. É realizada por bactérias denominadas acetobactérias, que convertem a molécula de álcool com uma de oxigênio em uma molécula de ácido acético e outra de água (SAGRILLO et al., 2015).

O processo de fermentação acética industrial ocorre por dois processos bioquímicos distintos, para a aquisição do ácido acético utiliza-se primeiro a fermentação alcoólica, processo anaeróbico exercido por certas leveduras cujos produtos obtidos contêm álcool

etílico e dióxido de carbono. A partir do álcool etílico adquirido é propiciada a oxidação parcial do mesmo (reação aeróbica), através das acetobactérias (MARQUES et al., 2010).

As acetobactérias denominadas também, por bactérias acéticas, precisam de oxigênio para realizar acetificação. Por esse, motivo, multiplicam-se mais na parte elevada do vinho que está sendo alterada em vinagre. A melhor eficiência da reação acética sucede em temperatura entre os 18 e os 30° C (HAUTRIVE, 2021).

2.3 PROCESSO DE PRODUÇÃO DO ETANOL

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo. Além disso, a cultura é uma das mais antigas e mais difundidas no país, sendo responsável pela maior produção de açúcar e em segundo em obtenção de etanol a nível mundial (BRASIL, 2016). A cana-de-açúcar é composta por 65% a 75% de água, 8% a 14% de fibras, 10 a 17% de sacarose e 0,5% a 1% de açúcares redutores (LIMA, 2012).

A qualidade da matéria-prima para se produzir o açúcar está diretamente relacionada à variedade da planta, condições de maturação e aos microrganismos presentes, pois todos esses fatores influenciam na deterioração da sacarose contida na cana (ALBUQUERQUE, 2016).

Nas usinas sucroalcooleiras, para a obtenção do etanol são necessárias algumas operações unitárias (Figura 2) que se inicia com a moagem da cana-de-açúcar para a obtenção do caldo, o qual é submetido ao aquecimento até 105°C sem a adição de produtos químicos e, em seguida, a matéria prima em processamento é enviada para a decantação. Após a operação de decantação, o caldo é clarificado e enviado para a etapa de pré-evaporação, até uma temperatura de 115° C, que favorece a etapa de fermentação por propiciar a esterilização das bactérias e leveduras indesejadas e geradoras de reações bioquímicas indesejáveis. Em algumas unidades produtoras o caldo, após a pré-evaporação, seguirá para o preparo do mosto, que é a mistura do caldo clarificado, melaço e água (CASTRO, 2013; GÓES-FAVONI et al., 2018).

O caldo aquecido é encaminhado para a pré-evaporação onde sua temperatura é elevada a 115°C, provocando a eliminação de parte da água ao mesmo em que a concentração de açúcar se eleva até próximo de 20° Bríx. Nessa etapa do processo o caldo é aquecido e submetido ao resfriamento até a temperatura de 30°C em trocadores de calor e corrigido para compor o mosto (líquido açucarado fermentável) constituído pelo caldo clarificado adicionado de melaço (um sub produto obtido na produção de açúcar e conhecido também como mel final) e água para diluição dos sólidos solúveis. O mosto é submetido ao processo

de fermentação alcoólica em dornas de fermentação. Nessa etapa são estabelecidas as condições operacionais como concentração de açúcar, temperatura entre outras (OLIVEIRA et al., 2020).

Figura 2. Fluxograma do processo de produção de Etanol



Fonte: Machado, 2014.

A primeira destilação tem o objetivo de recuperar todo o álcool contido no vinho delevedurado que é enviado para a destilaria com um baixo teor alcoólico. O vinho que vem da fermentação possui, em sua composição, 7° a 10°GL (% em volume) de álcool, além de outros componentes de natureza líquida, sólida e gasosa. O produto de topo, que contém algumas impurezas, é denominado flegma e tem graduação alcoólica entre 50 e 94 °GL. Como resíduo, é obtido a vinhaça ou vinhoto, numa proporção de 10 a 13 litros para cada litro de etanol produzido (BNDES; CGEE, 2008).

Já a segunda destilação é denominada retificação e visa remover todas as impurezas contidas no álcool, que juntas formam o óleo fúsel, importante em outros segmentos da indústria. O destilado obtido é o etanol hidratado (com grau alcoólico entre 92,6 a 93,8%), ou

segue para a terceira destilação que é a desidratação, ou seja, destilação para obter etanol anidro (teor alcoólico mínimo de 99,3%) (CHIEPPE JUNIOR, 2012).

2.3.1 Processo fermentativo

A fermentação alcoólica é um processo que consiste em um fenômeno biológico, cujo principal agente é a levedura. Desse modo, a fabricação de álcool é uma consequência e não a finalidade da fermentação, uma vez que, ao metabolizar anaerobicamente o açúcar, gera uma forma de energia (trifosfato de adenosina, ou ATP), que será empregada na realização de diversos trabalhos fisiológicos e de biossíntese. Ressaltando, que tais microrganismos se utilizam do açúcar para obter energia para as suas funções vitais, e não para produzir álcool, como se pretende na atividade industrial (GÓES-FAVONI et al., 2018).

Segundo Lima (2019), o bioprocesso começa a partir do contato do inóculo que é uma concentração de microrganismos adequada, usada na fermentação do mosto, onde as leveduras iniciam um desdobramento por meio dos açúcares presentes. Assim, a fermentação ocorre em três fases diversas: fase preliminar, fase tumultuosa e fase complementar. O intervalo de cada fase pode oscilar e o aspecto do mosto em processo também.

A fase preliminar se inicia quando o inóculo é colocado em contato com o mosto. Essa fase é definida pela multiplicação de células, pequena elevação de temperatura, pequeno desprendimento de dióxido de carbono e com desenvolvimento moderado de espuma. O tempo de duração dessa fase é variável devido o sistema de fermentação adotado na destilaria, iniciada quase imediatamente, com ação imediata de desdobramento dos açúcares (GÓES-FAVONI et al., 2018).

A fase tumultuosa consiste por intenso desprendimento de gás carbônico, elevado desenvolvimento de espuma, aumento de temperatura, exigindo atenção e controle no decorrer da fase, pois perdura por mais tempo. A temperatura sobe com velocidade, a densidade do mosto diminui enquanto aumentam o teor de álcool e a acidez. O impasse do aumento demasiado de temperatura é contido pelo resfriamento, realizado geralmente nas destilarias, por sistemas de trocadores de calor de placas (VENTURINI FILHO, 2018).

A fase complementar consiste na diminuição da intensidade do desprendimento de dióxido de carbono, menor agitação do líquido e diminuição da temperatura. Nessa fase a presença de açúcares esgota (LIMA, 2019). De acordo com Ferrari (2013), os processos fermentativos (Tabela 3) foram desenvolvidos na década de 1950 com a evolução de estudos sobre reatores.

Tabela 3. Tipos de processos fermentativos

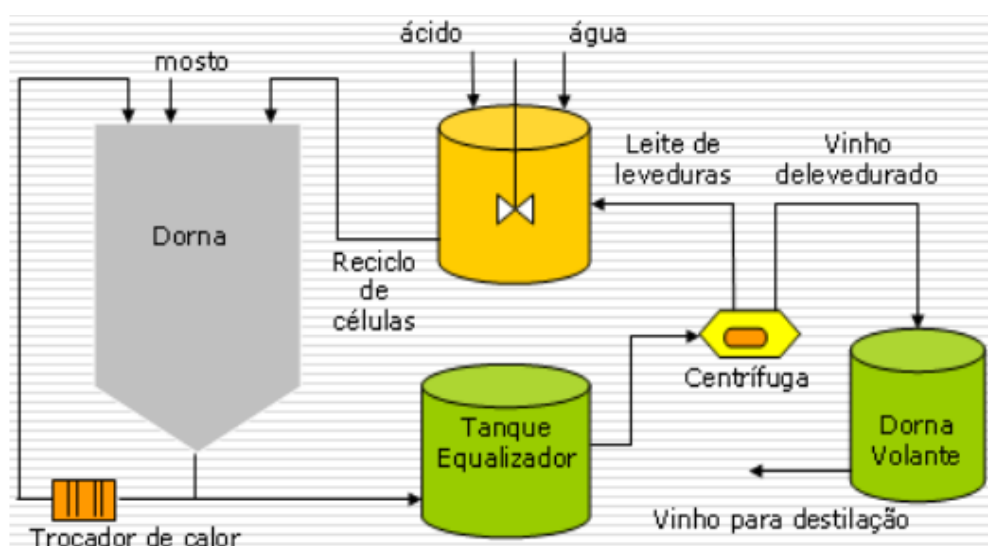
Tipos de fermentação	Vantagens	Desvantagens
Descontínua	Processo lento, com um inóculo por tanque e com recirculação de células. Este processo é o mais seguro, quando há problemas de manutenção e condições de assepsia.	Tempo gasto entre as bateladas. Outra desvantagem são os baixos rendimentos e/ou produtividades.
Semicontínua	Uma porção da cultura é coletada em intervalos de tempos e o meio fresco é adicionado à dorna. Outra vantagem desta operação é que não é requerido muito controle de lavagem das dornas, utilização de biocidas.	Há um alto risco de contaminação e mutação devido aos longos períodos de cultivos e as operações manuais. Além disso, os custos de investimento são levemente mais elevados.
Descontínua Alimentada	O processo <i>Melle-Boinot</i> apresenta: economia de açúcar devido a menor reprodução celular (elevando o rendimento em etanol), a eliminação de contaminantes pela centrifugação do vinho (separação de células de levedura), fermentação mais pura devido ao tratamento de leite de levedura (tratamento ácido).	A fermentação descontínua alimentada não reduz os efeitos inibitórios do acúmulo de etanol na cultura.
Contínua	Caracteriza-se por possuir uma alimentação contínua de meio de cultura a uma determinada vazão constante, sendo o volume de reação mantido constante. Produtividade contínua, maior produtividade volumétrica, maior uniformidade do produto, redução dos custos laboratoriais e sanitização das dornas e maior facilidade de controle automático.	A maior desvantagem é que as fermentações contínuas são mais suscetíveis à contaminação bacteriana por longo prazo de exposição.

Fonte: Adaptado Lima (2019)

Os processos fermentativos se diferem quanto ao tipo de biorreator, modo de adição do substrato às dornas e retirada de produtos. Para a obtenção de etanol os tipos mais comuns em reatores biológicos são: processo em batelada ou descontínuo, batelada alimentada, e o processo contínuo, sendo a batelada alimentada com reciclo de células (método *Melle-Boinot*) o mais utilizado nas destilarias brasileiras (GÓES-FAVONI et al., 2018).

No processo *Melle-Boinot* (Figura 3), o fermento percorre pelas centrífugas contínuas que separam o fermento do “vinho” destilado. Esse material readquirido era nomeado “pé-de-cuba”, onde é direcionado para o tratamento e purificação, permitindo ser reutilizado. Dessa forma, é possível ser usado diversas vezes o mesmo fermento para obtenção de álcool (LIMA, 2019). Além disso, expõe as leveduras a menores riscos de se tornarem inativas por repressão catabólica (PACHECO, 2010).

Figura 3. Esquema simplificado do processo *Melle-Boinot* de fermentação.



Fonte: Adaptado Magalhães (2007)

As leveduras são organismos acidófilos de extrema importância quando se tratam de controle de contaminação bacteriana, fermentação, formação de subprodutos, etc. No processo de fermentação por batelada, essas leveduras são de antemão tratadas com ácido sulfúrico, até atingir pH entre 2.2 a 3.0, e permanecem em repouso durante 1 a 3 horas (VENTURINI FILHO, 2018).

Todo o processo de tratamento do fermento (leveduras) é realizado em tanques chamados cubas, e o fermento ali tratado passa a se chamar “pé de cuba” (LIMA, 2019). O “pé de cuba” é enviado a tanques cilíndricos, denominados dornas. Podem ser abertas ou

fechadas, construídas de aço-carbono, em formato cilíndrico, com seu fundo cônico (LIMA et al., 2014). A capacidade volumétrica dessa dorna deve ser em harmonia com os destiladores. Além do mais, são dotados de sistema de resfriamento, pois é um processo exotérmico. Logo após, o mosto é adicionado no “pé de cuba”, sendo esse fermento na proporção de 20 a 25%, iniciando assim a fermentação (VASCONCELOS, 2010).

O processo de fermentação pode durar de 4 a 12 horas. Ao final desse tempo, todo o açúcar já foi consumido e o processo deve ser mantido a temperatura entre 30 a 35°C, resfriando o vinho com trocadores de calor sob agitação mecânica. Se ocorrer a formação de bolhas, essas podem ser combatidas com antiespumantes durante a fermentação. A inspeção de contaminação de bactérias que prejudicam a fermentação, evidenciadas por análises microbiológicas devem ser tratadas por antibióticos. Chegando ao fim do processo de fermentação o teor médio de álcool das dornas é de 7 a 10%, recebendo o nome de vinho fermentado (AMORIM et al., 2011).

Após a fermentação, o vinho é enviado às centrifugas para recuperação do fermento. Shreve & Brink (2014), descrevem que após a fermentação, é costume realizar o reaproveitamento da levedura. Esta, pode ser retirada por decantação, no fundo das dornas após o processo, ou podem passar por um processo de centrifugação e ajuste de pH, juntamente com sua purificação, para depois serem reutilizadas em um novo processo.

O concentrado do fermento recuperado, denominado leite ou creme, retorna a cuba onde recebe novamente o tratamento com ácido sulfúrico sob agitação, a outra parte, chamada de “vinho de levedura” ou “vinho centrifugado” é enviada a um tanque chamado “dorna volante” onde é encaminhado ao aparelho de destilação pra a produção de etanol (LIMA, 2019).

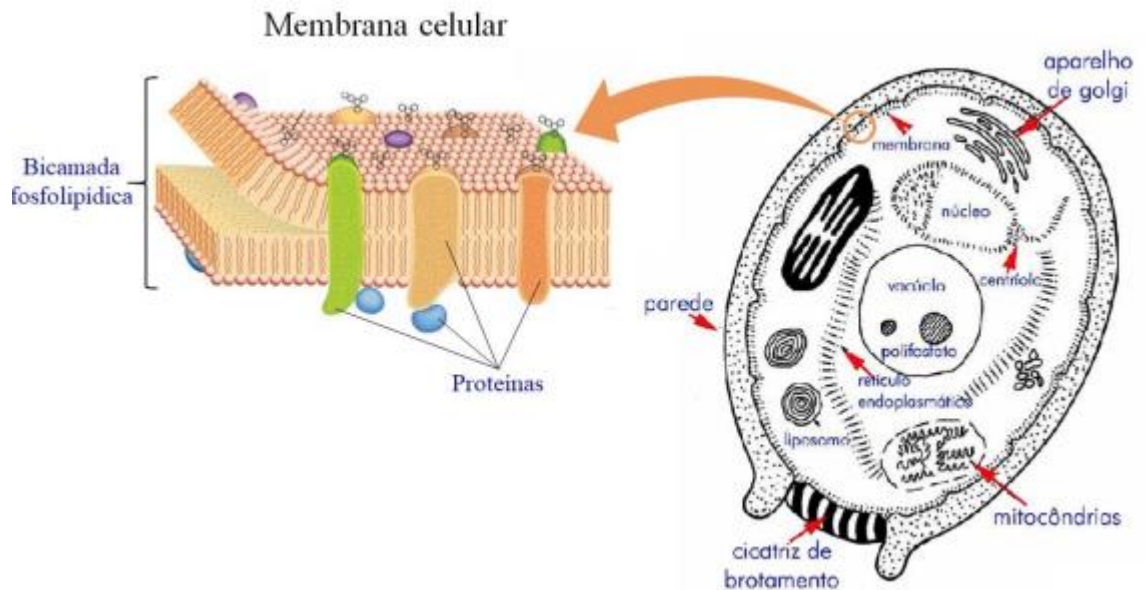
Conforme Pacheco (2010), a concentração inicial do inóculo é de 10^6 a 10^7 células/mL de mosto, e ao final da fermentação esta concentração passa para 10^8 células/mL ou mais, sendo a concentração inicial de fermento um dos parâmetros fundamentais para a produtividade da fermentação.

2.3.2 Levedura: agente da fermentação alcoólica

Os microrganismos do gênero *Saccharomyces* constituem os mais empregados pelas usinas sucroalcooleiras no Brasil. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 4) possui formato elíptico e tamanhos na faixa de 5–10 μm no diâmetro maior e de 1–7 μm no diâmetro menor, pertence ao reino Fungi, as leveduras são unicelulares, eucariontes, heterótrofas e

possuem parede celular definida (FERNANDES, 2009). Sua reprodução ocorre por brotamento (ou gemulação), em que a célula mãe dá origem a um broto (ou gêmula) que cresce até que ocorra a divisão celular. Após a separação, a célula mãe fica marcada por uma cicatriz que originou a célula filha (VELOSO, 2019).

Figura 4. Principais componentes da *S. cerevisiae* e membrana celular.



Fonte: Adaptado de Lodishi et al. (2000) e Batista (2005).

As leveduras são microrganismos facultativos, isto é, realizam respiração pelo metabolismo aeróbico resultando na transformação do açúcar em H_2O e CO_2 e também o metabolismo anaeróbico quando na ausência do oxigênio, produzindo etanol (C_2H_6O) e dióxido de carbono (CO_2), além de subprodutos como ácidos orgânicos e glicerol (LIMA, 2019).

2.4 FATORES QUE INFLUENCIAM A FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

2.4.1 Concentração etanólica

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* tem sua tolerância limitada perante o etanol, cuja concentração máxima que permite o crescimento é de 10% (p:v). O efeito inibidor do etanol está intimamente relacionado à temperatura da fermentação e a faixa de melhor

resistência ao etanol para levedura é de 13 a 27°C. Fora desta faixa de temperatura ocorre inibição do crescimento da levedura em função do álcool presente no meio (DORTA, 2006).

Desta forma, quando há presença dessa limitação de etanol no meio é evidenciada pela queda da viabilidade celular e pela redução do seu crescimento. O etanol tem a capacidade de se instalar no meio da bicamada fosfolipídica mais precisamente na parte hidrofóbica, se alojando nos espaços que resultam das interações entre ácidos graxos insaturados e proteínas (MONTEIRO, 2016).

Com essa limitação de etanol no meio provoca um decréscimo na fluidez da membrana, pois diminuí o movimento dos ácidos graxos na cadeia e causa um aumento da polaridade alterando a troca livre das moléculas polares. Isso também ocasiona na alteração do posicionamento das proteínas na bicamada fosfolipídica, que afeta diretamente a capacidade da levedura em preservar a gradiente de concentração de compostos variados através da membrana citoplasmática, sucedendo na inibição da taxa máxima de captação de glicose (MONTEIRO, 2016).

2.4.2 Concentrações de açúcares e concentração de fermento

As linhagens de levedura normalmente utilizadas nos processos industriais apresentam uma osmotolerância limitada. O aumento da concentração de açúcares, conseqüentemente eleva a velocidade de fermentação, resultando em perdas da atividade de transporte de açúcar, produzindo menos álcool (SOUZA; CARVALHO, 2012).

Dessa maneira, o estresse induzido pelo aumento da osmolaridade externa leva a redução em crescimento e perda da viabilidade das células das leveduras, devido às perturbações no gradiente osmótico através da membrana plasmática. Dessa forma, ocasiona perdas em volume das células que se contraem por causa de diferenças em pressão osmótica entre o exterior e o interior das células (LIMA, 2019).

Assim, as concentrações adequadas de açúcares aumentam a velocidade de fermentação e a produtividade, melhorando o desempenho do processo fermentativo, pois possibilita menor crescimento celular e menor formação de glicerol, para a mesma quantidade de glicose/frutose metabolizada. (STEINLE, 2013).

Uma grande quantidade de microrganismos presente no mosto pode acelerar a produtividade e propiciar maior controle sobre as bactérias contaminantes. Contudo, exigem maior gasto de substrato e maior consumo de açúcar para mantê-los vivos. Em decorrência do

fato, a viabilidade do fermento irá reduzir, pois as leveduras irão competir pelos minerais e vitaminas presentes no meio (LIMA et al., 2014).

2.4.3 pH

As fermentações alcoólicas, podem progredir em extensa faixa de pH, porém a faixa adequada para o crescimento da levedura está entre 4,0 e 5,0. Os caldos de cana, em geral, fermentam sem correção de acidez, em pH natural, que varia de 4,0 a 5,4. A tolerância à acidez é característica importante das leveduras. Contudo, a fermentação alcoólica industrial inicia-se com valores de pH menores, entre 2,0 e 3,0 e finda com valores entre 3,5 a 4,0. Dessa maneira, as fermentações alcoólicas conduzidas em meios mais ácidos, demonstram resultados superiores em relação ao rendimento em etanol, pelo fato de reduzir o crescimento do fermento, e, portanto, a redução da produção de glicerol (SOUSA; MONTEIRO, 2011).

Portanto, o pH mais baixo restringe a contaminação bacteriana, e levando em conta que não há correção do pH durante o processo fermentativo e sim, apenas durante o tratamento inicial do fermento, o controle da fermentação em pH em faixa abaixo do ideal seria benéfica ao processo (LIMA, 2019). Assim sendo, baixos valores de pH inibem a proliferação de bactérias contaminantes prejudiciais ao processo e não afetam a atividade celular da levedura, tornando-se um importante aliado no controle de contaminações industriais (SANTOS, 2013).

Entretanto, em pH muito ácido (em torno de 2,0) os ácidos orgânicos que estão em seu estado não ionizado penetram na célula com mais facilidade acarretando na inibição da levedura e podendo favorecer a seleção de bactérias resistentes e leveduras selvagens o que compromete diretamente no rendimento etanólico (DORTA, 2006).

2.4.4 Temperatura

O monitoramento da temperatura é um dos fatores mais relevantes ao processo de fermentação alcoólica, visto que para a produção de biomassa a temperatura adequada encontra-se entre 25° C a 30° C. Assim, definindo como microrganismos mesófilos, ao mesmo tempo em que para a produção alcoólica as temperaturas ideais estão em temperaturas mais extensas entre 26° C a 35° C (GÓES-FAVONI et al., 2018).

Dessa forma, valores de temperatura na faixa 26° C a 35° C ocasionam enfraquecimento da levedura e reduz o seu crescimento. Além disso, favorece o surgimento de contaminantes e acarreta perdas do produto formado por evaporação. Enquanto, em temperaturas abaixo de 25° C, a levedura apresenta menor atividade de crescimento e ainda de formação do produto (CHIEPPE JUNIOR, 2012; LIMA, 2019).

A safra no Brasil começa no mês de abril, que coincide com a estação do inverno, caracterizado por temperaturas mais baixas, atingindo cerca de 14° C a 15° C, nas regiões Sul e Sudeste requerendo o aquecimento prévio do mosto para atingir as temperaturas entre 28° C a 30° C. No transcorrer da safra, a temperatura ambiente se eleva, então, esse procedimento se faz dispensável. Logo, a fermentação alcoólica é um processo exotérmico, a temperatura do mosto pode extrapolar os limites aceitos para a fermentação, propiciando a atividade microbiana. Assim, o resfriamento é realizado por trocadores de calor nas dornas fermentativas (SOUSA; MONTEIRO, 2011).

A respeito das leveduras *S. cerevisiae* sejam mesófilas, inevitavelmente as temperaturas nas destilarias atingem valores a cerca de 38° C que pode ser influenciado pelas condições climáticas da região, pois o mosto é dispensado na dorna em temperatura ambiente. À medida que a temperatura aumenta, eleva-se a velocidade da fermentação, entretanto, esta condição possibilita à contaminação bacteriana, simultaneamente, a levedura fica mais sensível à toxidez do álcool, levando a formação de metabolitos secundários como o glicerol (LIMA, 2019).

2.4.5 Exigências nutricionais

As leveduras são organismos saprófitos requerem uma fonte de carbono (glicose ou outro açúcar) que produza energia química e a estrutura carbônica da constituição celular, formada predominantemente de carbono, oxigênio e hidrogênio. Nesse sentido, o mosto é utilizado como matéria-prima, contudo em alguns casos é necessário à complementação de sais para suprir a exigência nutricional das leveduras (SILVA JUNIOR, 2020).

Desse modo, para uma boa fermentação são necessárias concentrações mínimas de nutrientes como Nitrogênio, Fósforo, Potássio, Magnésio, Manganês e Zinco, essenciais para o desenvolvimento celular e como cofatores enzimáticos na metabolização do substrato em etanol. Algumas matérias-primas frequentemente necessitam de complementação de nutrientes como o Fósforo e Potássio, geralmente adicionados no mosto em forma de sais como o K_2HPO_4 (SANTOS, 2013).

A *Saccharomyces cerevisiae* utiliza nitrogênio sob a forma amoniacal (NH_4^+), amídica (ureia) ou amínica (aminoácidos), mas não metaboliza N sob a forma de nitratos e não metaboliza proteínas do meio. O fósforo é absorvido como íon H_2PO_4^- predominante em pH 4,5, e o enxofre pode ser assimilado como sulfato, sulfito e tiosulfato. Não há uma grande exigência em enxofre, e quando a matéria-prima for melaço residual de açúcar sulfitado haverá elemento residual suficiente para a levedura, ou pode ser fornecido pelo ácido sulfúrico usado no tratamento do fermento (LIMA, 2019).

2.4.6 Sulfito

O sulfito presente na fermentação alcoólica é derivado da queima do enxofre elementar em fornos rotativos, no tratamento químico do caldo primário para remoção de impurezas solúveis, coloidais ou insolúveis com o intuito de se produzir o açúcar branco. No decorrer do processo de fabricação do açúcar obtém um subproduto chamado melaço, ainda denominado como mel final. Um produto esgotado, por razões de ordens técnico-econômicas, não convém mais para extrair açúcar (DORTA et al., 2006).

Conforme Steinle (2013) há um crescimento elevado da utilização do melaço na formulação do mosto juntamente com água e caldo de cana-de-açúcar para fermentação alcoólica. A utilização do melaço tem como escopos fundamentais a correção de sólidos solúveis do caldo e até por razões econômicas, impossibilitando perdas na eficiência da fabricação do açúcar.

A presença do sulfito no mosto gera diminuição do rendimento alcoólico e redução da viabilidade das células das leveduras. Desse modo, os níveis de toxicidade podem ser maior ou menor diante das condições de pH, contaminação e teor alcoólico no transcorrer do processo fermentativo (DORTA et. al, 2006).

De acordo com Amaral (2009) a concentração mínima inibitória (CMI), para o sulfito de sódio em pH 4,5 se encontra na faixa de 10-40 mg/mL para bactérias contaminantes do processo fermentativo, enquanto para a levedura os valores são de 5000 mg/mL em pH 4,5, o que explica o uso do mel na composição do mosto.

2.4.7 Contaminação bacteriana: *Lactobacillus*

A cana-de-açúcar é considerada um ótimo meio de crescimento para leveduras alcoólicas, contudo, para bactérias contaminantes do processo também. Já que oferece teor

relevante de nutrientes, alta atividade de água e pH favorável, além disso, as sujidades vindas do campo ou oriundas do processo de obtenção do caldo da cana. Ao mesmo tempo, a má assepsia dos equipamentos intensifica ainda mais a contaminação bacteriana no processo de fermentação alcoólica (VIÉGAS, 2011).

Desse modo, o processo de infecção na fermentação alcoólica em níveis superiores à 10^5 células/mL, pode causar perdas ao processo industrial como: consumo de açúcar e redução da produção alcoólica, formação de goma refletindo no aumento da viscosidade do caldo e como efeito entupimento nas tubulações, avarias aos equipamentos como centrifugas, peneiras e trocadores de calor elevando os gastos em manutenção (CHIEPPE JUNIOR, 2012).

Nesse seguimento, outro fator relevante para as contaminações é a existência de toxinas e ácidos orgânicos que coíbem e reduz a viabilidade celular. Estes compostos excretados no meio pelos contaminantes, simultaneamente com todo o processo ocasionado induz a diminuição no rendimento da fermentação e prejudica a eficiência da fermentação industrial (NOBRE, 2005).

No processo fermentativo, bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Acetobacter*, *Clostridium*, *Leuconostoc* são normalmente encontradas no caldo. Estes gêneros de microrganismos produzem ácidos orgânicos tais como o butírico, acético, fórmico e láctico (ANDRIETTA et al., 2011). Levantamentos da predominância da microbiota predominante no processo fermentativo revelam que 98,52% das bactérias encontradas e isoladas foram classificadas como pertencentes ao grupo Gram-positivo sendo o gênero *Lactobacillus*, o mais frequente entre eles (59,75%) (ANDRIETTA et al., 2006).

Diversos estudos são realizados para determinar a influência dos ácidos acético e láctico quanto à inibição do crescimento e a queda da viabilidade celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Ao utilizar cultura mista com bactérias contaminantes da fermentação alcoólica, observa-se que, ocorre queda no rendimento alcoólico significativamente ao obter contaminação bacteriana acima de 10^6 ou 10^7 células/mL no mosto (ALCARDE et al., 2007).

As contaminações bacterianas mais frequentes são as originadas por espécies de *Lactobacillus*, as quais se atribuem, por fenômenos ainda não totalmente explicados, a floculação das leveduras, pois dificulta o bioprocessamento e afeta a atividade da destilação. O responsável pelo fenômeno de floculação se deve a presença de ácido láctico (LIMA, 2019).

O fator mais crítico da contaminação bacteriana para as fermentações, especialmente nas destilarias que extraem levedura para secagem, é a floculação. Esse fenômeno ocorre quando há interação entre os lactobacilos e a levedura, potencializado por altas concentrações

de cálcio no mosto. Tais condições levam as bactérias a se aderirem nas paredes das leveduras, por meio de ligações entre moléculas constituintes da superfície desses microrganismos, fazendo com que toda biomassa se precipite (VENTURA; ZINK, 2002).

Portanto, algumas destilarias utilizam recursos como doses maciças de ácido sulfúrico no momento do tratamento das células recicladas, até que o efeito da floculação desapareça (LIMA, 2019). Embora o tratamento com ácido sulfúrico seja amplamente empregado nas destilarias brasileiras, às leveduras são afetadas pelo ácido, que causa extração de nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio, e ocasiona desgaste em sua parede celular prejudicando a produção de etanol (VIÉGAS, 2011; DORTA, 2006).

Salienta-se que essa medida pode gastar ácido excessivamente, gerando aumento de custo e com efeitos nocivos aos aparelhos, tubulações e bombas. Cada sala de fermentação aplica técnicas convenientes para evitar os danos das contaminações bacterianas, incluindo o uso de antissépticos, cujos resultados nem sempre são inteiramente positivos (LIMA, 2019).

2.4.8 Antissépticos

A esterilização não é processo comumente utilizado nos meios de fermentação nas destilarias de álcool e de aguardente. Especificamente, quando se aborda a fermentação do caldo de cana puro, o exercício de clarificá-lo por aquecimento e decantação provoca diminuição da carga microbiana natural (leveduras e bactérias), mas não efetua esterilização, ou seja, completa acepção. Diante disso, o controle de contaminações é feito a partir de antissépticos, com intuito de promover condições favoráveis ao desenvolvimento das leveduras e em contrapartida, desfavoráveis a outros microrganismos (LIMA et al., 2014).

Os antissépticos são substâncias inibidoras de crescimento de microrganismos não produtores de álcool, em certos casos eles podem ser estimulantes das leveduras ao mesmo tempo em que inibem bactérias e outros fungos. Os antissépticos podem atuar como bactericidas ou bacteriostáticos, mas o principal objetivo é conseguir um meio que beneficie o desenvolvimento das leveduras alcoólicas (LIMA, 2019).

Segundo Bregagnoli (2006), para o problema das contaminações, a utilização de antissépticos e antibióticos que atuam de forma diferente, pode ser uma solução viável, devido à ação ocorrer sobre um ou mais grupos de microrganismos. Porém, existe a possibilidade de deixarem resíduos nos destilados. O hexaclorofeno em dose de 4 mg/L de mosto, segundo pesquisas, contribui para boas fermentações. Já que, exerce ação de ruptura da parede celular e precipitação das proteínas microbianas (VALE; SOUSA, 2019).

Embora, o mais utilizado na indústria seja o ácido sulfúrico que se adiciona nos mostos em fermentações para produção de álcool. Ultimamente, não há antissépticos de uso difundido. O ácido sulfúrico, usado como corretor de reação do meio, apresenta ação antisséptica e bacteriostática se aplicado no tratamento de células recicladas (LIMA, 2019).

2.4.9 Antibióticos

Outro procedimento adotado é o uso de antibióticos, todavia o uso contínuo traz entraves como, a indução da resistência bacteriana a ação do antibiótico, custo elevado que este tratamento apresenta, justificando que sua utilização deve ser contínua na indústria (VIÉGAS, 2011; NAVES et al., 2010).

Os principais antibióticos utilizados são penicilina e tetraciclina, que podem ser empregados nos mostos de destilarias, com a mesma finalidade dos antissépticos, devido a sua ação bacteriostática. A penicilina tem ação eficaz contra contaminações em dose de 500 UI a 1.000 UI por litro de mosto e contribui para desenvolvimento de fermentações puras e regulares e consideráveis aumentos de rendimento em álcool. A aplicação é econômica e não exige modificação nas técnicas da destilaria e nos aparelhamentos (LIMA, 2019).

A penicilina o mecanismo de ação é a inibição da formação de ligação cruzada entre cadeias de peptidoglicano, impedindo a formação correta da parede celular bacteriana. Já a tetraciclina o mecanismo de ação está em bloquear o receptor no ribossomo que se liga aos t-RNA na transcrição genética, conferindo capacidade de inibir a síntese proteica e posterior inibição da replicação das bactérias (GUIMARÃES et al., 2010).

3. CONCLUSÃO

A produção industrial de etanol é uma atividade industrial de acentuada importância para a economia nacional, pois gera emprego e renda. Além disso, por ser um setor que projeta positivamente a Matriz Energética do país, ademais, abastece a indústria de alimentos e bebidas.

Diante do exposto, os fatores que influenciam no rendimento da fermentação alcoólica, são: o controle de pH, temperatura, presença de sulfito e teor alcoólico do meio que é primordial, pois refere-se inteiramente ao desempenho e vitalidade da levedura *Saccaromyces cerevisiae*. No entanto, se acometida a viabilidade celular, resulta em aumento do tempo de fermentação, gerando gastos elevados, além disso, possibilita o aumento das contaminações bacterianas.

As contaminações bacterianas em níveis acima de 10^5 células /mL causam perdas na produção alcoólica e elevação da acidez, dessa forma, afetando na qualidade do produto final. Portanto, considerando a relevância do etanol no cenário nacional, aprender sobre os fatores que interferem na fermentação alcoólica, assim como, as medidas que aprimoram a eficiência de sua obtenção se faz necessário continuamente em benefício no processo industrial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, F.M. **Processo de fabricação de açúcar**. Piracicaba: STAB, 2016.

ALCARDE, A. R. et al. Viabilidade celular de *Saccharomyces cerevisiae* cultivada em associação com bactérias contaminantes da fermentação alcoólica. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 20-25, jan./mar. 2007.

AMARAL, F. S. **Influência conjunta do pH, temperatura e concentração de sulfito na fermentação alcoólica de mostos de sacarose**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, 2009.

AMORIM, H. V. et al. Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, n. 5, p. 1267–1275, 2011.

ANDRIETTA, M. G. S. et al. Bioetanol: Brasil, 30 anos na vanguarda. In: MULTICIÊNCIA: CONSTRUINDO A HISTÓRIA DOS PRODUTOS NATURAIS, 2006, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, 2006. p.1-16.

ANDRIETTA, M. et al. Controle de contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica com a aplicação de biocidas naturais. **Ciência e Tecnologia: FATEC-JB, Jaboticabal**, v. 2, n. 1, p. 27-37, 2011.

BATISTA, M. A. **Estudo da Imobilização de Células de *Saccharomyces cerevisiae* em Gel de Alginato de Cálcio no Processo de Fermentação Alcoólica**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, p. 136, 2005.

BNDES; CGEE. Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável. Rio de Janeiro, 316p, 2008.

BRASIL. **Produção Brasileira de Cana de Açúcar, Açúcar e Etanol**. Brasília: MAPA, 2016.

BRASIL. **Ministério de Minas e Energia. Resenha Energética Brasileira: exercício de 2018**. Brasília, DF: Ministério de Minas e Energia, 2019.

BRAZ, A. C. S. **Estudo da fermentação do bagaço de cana para obtenção de etanol de segunda geração**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia em Produção Sucroalcooleira) – CTDR/UFPB, 2016.

BREGAGNOLI, F.C.R. **Comportamento fisiológico de microrganismos submetidos a biocidas convencional e natural na produção de cachaça orgânica**. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2006.

CARVALHO, K. S. et al. Assessing sugarcane evapotranspiration based on a biophysical approach. **International Journal of Current Research**, v. 9, n. 4, 2017.

CASTRO, H.F. **Processos Químicos Industriais II: tecnologia de fabricação do álcool**. Universidade de São Paulo, EEL – Escola de Engenharia de Lorena. Lorena, São Paulo, 2013.

CHIEPPE JÚNIOR, J. B. **Tecnologia e fabricação do álcool: Rede e-Tec Brasil**. Inhumas: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Acompanhamento da safra Brasileira de Cana-de-açúcar. Companhia Nacional de Abastecimento, v.6, Safra 2019/2020, n.1, primeiro levantamento, maio 2019.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Acompanhamento da safra Brasileira de cana-de-açúcar. Companhia Nacional de Abastecimento, v.5, Safra 2018/19. Brasília, DF: Conab, 2019.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). (Acompanhamento da safra Brasileira de Cana-de-açúcar). Companhia Nacional de Abastecimento, v. 8 – Safra 2021-22, n. 3- Terceiro levantamento, p. 1-63, 2021.

DORTA, C. et al. Synergism among lactic acid, sulfite, pH and ethanol in alcoholic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* (PE-2 and M-26). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.22, p.177-182, 2006.

EMBRAPA. Manual de Curadores de Germoplasma – Micro-organismos: Bactérias Ácido-Láticas, 2011. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/documents/1355163/2005846/doc336-151.pdf> >. Acesso: 31 de março de 2022.

FERNANDES, P. M. B. **Levedura: do pão à biotecnologia**. 1 Edição, Edufes, Vitória, ES. p. 119, 2009.

FERRARI, F. C. D. S. **Fatores operacionais e cinética do processo fermentativo para otimização da produção de etanol em escala industrial**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

GARCÍA-HERNÁNDEZ, Y. et al. Isolation, characterization and evaluation of probiotic lactic acid bacteria for potential use in animal production. **Research in Veterinary Science**. v. 108, 2016.

GÓES-FAVONI, Silvana Pedroso et al. Fermentação alcoólica na produção de etanol e os fatores determinantes do rendimento. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 4, p. 285-296, 2018.

GUIMARÃES, D.O. et al. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

HAUTRIVE, Tiffany Prokopp. **Ciência e tecnologia de alimentos**. Editora Insular, 2021.

IBGE. Anuário estatístico do Brasil 2018. Rio de Janeiro: IBGE, 2019. v. 78.

LACERDA, A. J. B. **Determinação das características de microrganismo probiótico dos microrganismos isolados da bebida de fermentação tradicional caíçuma produzida pelos indígenas da etnia Arara.** Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Exatas e da Terra, Cuiabá, 2017.

LIMA, R. B. **Processo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar aplicando elétrons acelerados.** Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

LIMA, U. A. et al. **Produção de Etanol.** In: LIMA, U. de A.; AQUARONE, E.; SCHIMIDELL, W.; BORZANI, W. *Biotecnologia Industrial* – v. 3. 6. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2014.

LIMA, U. A. **Biotecnologia Industrial-Vol. 3: Processos fermentados e enzimáticos.** Editora Blucher, 2019.

LODISH, H. et al. *Molecular Cell Biology.* Fourth edition, W. H. **Freeman and Company**, New York, USA, 2000.

LOPES, C. H. **Tecnologia de produção de açúcar de cana.** São Carlos, EdUFSCAR, 2011.

MACHADO, B. G. **Fabricação de Açúcar e Etanol a partir da Cana-de-açúcar.** 2014. Disponível em: <<http://www.portaldobiogas.com/fabricacao-de-acucar-e-etanol-partir-da-cana-de-acucar/>>. Acesso: 31 de Março 2022.

MAGALHÃES, A. **UnidadeVII-Fermentação Alcoólica ?** Parte I, 2007. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAApoQAE/unidade-vii-fermentacaoalcoolica-parte-i>>. Acesso: 20 de fevereiro de 2022.

MARIN, F.; NASSIF, D. S. P. Mudanças climáticas e a cana-de-açúcar no Brasil: fisiologia, conjuntura e cenário futuro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 2, p. 232-239, 2013.

MARQUES, F. P. P. et. al. Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.**, Campinas, v. 30, s. 1, p. 119-126, 2010.

MARTINS, R. et al. Fermentação divertida: introdução à ciência através de atividade culinária investigativa. **Coleção PROEX Digital (UNESP)**, 2014.

MONTEIRO, B. M. D. S. **Produção de etanol combustível: efeito da suplementação nitrogenada na fermentação de mosto de caldo de cana com alta concentração de açúcar.** Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Piracicaba, 2016.

MUÑOZ, M. C. C. et al. Biocide tolerance, phenotypic and molecular response of lactic acid bacteria isolated from naturally-fermented Aloreña table to different physico-chemical stresses. **Food microbiology**, v. 60, p. 1-12, 2016.

NAVES, P. Contaminação microbiana nas etapas de processamento e sua influência no rendimento fermentativo em usina alcooleira. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.6, n.11, p.1.2010.

NOBRE, T. P. **Viabilidade celular de *Saccharomyces cerevisiae* em associação com bactérias contaminantes da fermentação alcoólica**. Dissertação (Mestrado em Ciência em Tecnologia em Alimentos) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

NOVELLO, A. P. **Seleção de leveduras para fermentação com alta pressão osmótica usando processo de fermentação extrativa**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2015.

OLIVEIRA, G. M. et al. Estudo dos impactos provocados por microrganismos no rendimento da fermentação alcoólica. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 30434-30448, 2020.

PACHECO, T. F. **Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente**. Dissertação (Mestrado) - Universidade federal de Uberlândia, 2010.

PASCHOALINI, G.; ALCARDE, V. Estudo do processo fermentativo de usina sucroalcooleira e proposta para sua otimização. **Revista de Ciência & Tecnologia**, v.16, n.32, p.59-68, 2009.

PINTO, U. M. et al. Deterioração microbiana dos alimentos. 2018. Disponível em: < bia.org.br/vsn/temp/z2018918ArtigoparaazeitesDeterioracaomicrobianadosalimentos11Set2018....p>. Acesso: 31 de março de 2022.

RFA. 2019 Ethanol Industry Outlook. USA: RFA, 2019.

RIBEIRO, Camilo Bastos et al. Fermentação alcoólica do caldo da cana: parâmetros operacionais de resposta no processo. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 4, p. 465-472, 2015.

RODRIGUES, G. S.S. C.; ROSS, J. L. S.. **A trajetória da cana-de-açúcar no Brasil: perspectivas geográfica, histórica e ambiental**. Edufu, 2020.

SAGRILLO, F.S. et al. **Processos Produtivos em Biotecnologia**. São Paulo: Érica, 2015.

SAKAMOTO, K.; KONINGS, W. N. Beer spoilage bacteria and hop resistance. **International journal of food microbiology**, v. 89, n. 2-3, p. 105-124, 2003.

SANTOS, R. **Estudo cinético de fermentação etanólica do hidrolisado de farinha de mandioca utilizando complementação nutricional do mosto**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - UFAL, Maceió. 2013.

SHREVE, R. N.; BRINK JR., J. A. Indústrias de fermentação. **Indústria de Processos Químicos**. 4. ed. São Paulo: LTC – Livros Técnicos e Científicos, 2014.

SILVA, G. A. Atividade de bactérias lácticas durante a vinificação e aspectos relacionados com a qualidade química do vinho. In: X CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 2005, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: [S.I.], 2005. p. 163-171.

SILVA JUNIOR, C. N. **Produção de etanol de cana energia por *Pichia kudriavzevii* comparado com métodos convencionais.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal 2020.

SIROMA, T. **Estudo de variações na fermentação e propriedades organolépticas na produção de cerveja com diferentes maltes.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química)- Universidade de São Paulo, Lorena, 2013.

SOUSA, J. L. U.; MONTEIRO, R. A. B. Fatores interferentes na fermentação alcoólica para produção de etanol. **FAZU em Revista**, Uberaba, n.8, p.100-107,2011.

SOUZA, J.; CARVALHO, R. **Fatores interferentes na fermentação alcoólica para a produção de etanol.** Universidade federal de Viçosa, MG, 2012.

STEINLE, L. A. **Fatores que interferem na fermentação alcoólica.** Monografia (Graduação em Gestão do Setor Sucroenergético) - Universidade Federal de São Carlos centro de Ciências Agrárias, Sertãozinho, 2013.

UNICA–União da Indústria de Cana de Açúcar. Fotografia do setor sucroenergético no Brasil e os benefícios econômicos, ambientais e sociais gerados. 2018. Disponível em: <www.unica.com.br/download.php?idSecao=17&id=35831777>. Acesso: 03 de março de 2022.

UNICA–União da Indústria de Cana de Açúcar. Balanço de Atividades 2012/13 a 2018/2019. Disponível em: <<https://www.unica.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Relatorio-Atividades-201213-a-201819.pdf>>. Acesso: 25 de março de 2022.

VALE, N. D.; SOUSA, N. B. D. Assepsia e Antissepsia na Raquianestesia: Aspectos Históricos. **REVISTA POTIGUAR DE ANESTESIOLOGIA**, v. 59056, p. 94, 2019.

VASCONCELOS, J. N., **Fermentação Etanólica.** In: SANTOS, F., BORÉM, A., CALDAS, C., Cana-de-Açúcar – Bioenergia, Açúcar e Álcool. Editora UFV, Minas Gerais, 2010.

VELOSO, I. I. K. **Modelagem e otimização da fermentação alcoólica em batelada alimentada a baixa temperatura.** 2019.

VENTURA, M.; ZINK, R. Identificação específica e molecular na análise de *Lactobacilos johnsonii* usando métodos de PCR e eletroforese em gel de campo pulsado. **FEMS Microbiology Letters**: Berlim, v. 217, n. 2 p. 141-154, 2002.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia.** Editora Blucher, 2018.

VIÉGAS, E. K. D. Propriedade antibacteriana da própolis verde sobre bactérias contaminantes da fermentação etanólica. Dissertação (Mestrado em Ciência em Tecnologia em Alimentos) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.