



## PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DE MELAÇO DE CANA

Matheus Ribeiro Barbosa Oliveira<sup>1</sup>, Ricardo Fleury Sunhiga Filho<sup>2</sup>, Eduardo de Castro Mattos<sup>3</sup>, Ernandes Benedito Pereira<sup>4</sup> e Antonio Sampaio Baptista<sup>5</sup>

**Resumo:** A indústria açucareira tem como principal subproduto o melaço que é produzido na proporção de 40 a 60 quilos por tonelada de cana-de-açúcar processada. O melaço oriundo de uma tonelada de cana-de-açúcar processada pode produzir cerca de 12 litros de etanol, além do açúcar fabricado. Deste todo modo, constata-se que, na maioria dos países latino-americanos com produção açucareira, o melaço pode constituir uma fonte de etanol relevante e precursora para o atendimento das necessidades internas de combustível (HORTA NOGUEIRA, 2004). Na busca por alternativas para aperfeiçoar o processo de produção do etanol nas usinas, este trabalho visou mostrar a influência da clarificação e esterilização no preparo do melaço a ser empregado no processo fermentativo, determinando assim condições ótimas para a produção de etanol. Foram realizados três tipos de tratamentos no mosto para que a fermentação ocorresse: T1- Melaço não clarificado e não estéril. T2- Melaço estéril e não clarificado. T3- Melaço estéril e clarificado. O tratamento T3 foi o que apresentou maior produtividade e rendimento, devido ao procedimento de esterilização e clarificação que se mostraram influentes no processo fermentativo.

**Palavras-chave:** Fermentação alcoólica. *Saccharomyces cerevisiae*. Clarificação. Esterilização. Processo fermentativo.

### 1 Introdução

A cana-de-açúcar é uma planta pertencente à família das gramíneas (*Poaceae*), gênero *Saccharum* e espécie *Saccharum officinarum*. Utilizada como matéria-prima para a produção de diversos produtos, é composta em média de 65 a 75% de água, sendo seu principal componente a sacarose, que corresponde a cerca de 70 a 90% das substâncias sólidas solúveis (LEMOS; STRADIOTTO, 2012). O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e apresenta grandes áreas cultiváveis assim como um clima favorável, o que o torna um país promissor para exportação da cana. De acordo com a União da indústria de cana-de-açúcar (UNICA, 2019) o Brasil produziu na safra de 2018/19, 620 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, 29 milhões de toneladas de açúcar e 33 bilhões de litros de etanol.

A indústria açucareira tem como principal subproduto o melaço, sendo este produzido na proporção de 40 a 60 kg por tonelada de cana processada. No Brasil, o melaço é utilizado na fabricação de etanol em razão de apresentar elevado teor de açúcares

totais e demais componentes. Entretanto, a qualidade deste produto está diretamente relacionada com o processo de fabricação do açúcar, como também a matéria-prima utilizada. O melaço pode ser destinado também, em outros processos biotecnológicos como matéria-prima para a produção de proteína, rações, levedura produzida para panificação e antibióticos, entre outros (MUTTON et al., 2012).

O melaço pode ser utilizado na indústria tanto para produzir açúcar como etanol, entretanto a produção de etanol é favorecida, uma vez que o preço do melaço é sempre inferior ao preço do açúcar. Todavia, as disponibilidades de melaço são sempre determinadas pela produção de açúcar. A partir do caldo de cana, produzem-se mais de 80 L de etanol por tonelada de cana, enquanto que por meio do melaço, são produzidos cerca de 12 L por tonelada de cana processada, além do açúcar fabricado. Deste modo, constata-se que, na maioria dos países latino-americanos com produção açucareira, o melaço pode constituir uma fonte de etanol relevante e precursora para o

<sup>1</sup>E-mail: math\_ribeiro\_10@hotmail.com

<sup>2</sup>E-mail: ricardofsunhigaf@usp.br,

<sup>3</sup>E-mail: eduardo.castro.mattos@usp.br

<sup>4</sup>E-mail: ernandes.pereira@unifal-mg.edu.br  
 Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 Centro - Alfenas/MG CEP 37130-001

<sup>5</sup>E-mail: asbaptis@usp.br

atendimento das necessidades internas de combustível (HORTA NOGUEIRA, 2004).

A contaminação por bactérias, principalmente as bactérias lácticas, é um dos fatores que limitam o desempenho do processo fermentativo. Quando a contaminação bacteriana atinge concentrações acima de  $10^7$  unidades formadoras de colônias (UFC) por mL pode resultar em redução de 1 a 5% do rendimento do processo (PIMENTEL, 2014). A contaminação em destilarias pode gerar perdas de aproximadamente 20.000 litros por dia de etanol (BASSO et al., 2014).

Na busca por alternativas para aperfeiçoar o processo de produção do etanol nas usinas, este trabalho visou mostrar a influência da clarificação e esterilização no preparo do melaço a ser empregado no processo fermentativo, determinando assim condições ótimas para a produção de etanol com elevada produtividade e rendimento.

## 2 Metodologia

### 2.1 Definição do mosto para a fermentação

Foram realizados neste experimento três tipos de tratamentos no mosto (T1, T2 e T3) com 4 repetições cada.

T1- Melaço não clarificado e não estéril. Neste foi adicionado 1 g de terra.

T2- Melaço estéril e não clarificado

T3- Melaço estéril e clarificado

### 2.2 Clarificação e esterilização

O melaço rico em açúcares redutores, doado gentilmente pela usina no interior de São Paulo, foi utilizado na fermentação para obtenção de etanol. Este foi diluído em água e a quantidade de sólidos solúveis foi medida no refratômetro. O mosto quando foi submetido à clarificação apresentava uma quantidade de partículas solúveis de 17° Brix. O mosto foi aquecido por 15 min e posteriormente filtrado. Foi adicionado 2,5 g de fosfato de sódio monobásico para cada 1 L de filtrado. Em seguida, foi colocado para autoclavar por 15 minutos em vapor fluente e depois mais 15 minutos a 1 atm. Após 48 horas em repouso o sobrenadante foi separado do precipitado, a quantidade de partículas solúveis foi ajustada para 17° Brix e

foi submetida para ser auto clavada em 20 min a 1 atm (BRAGA, 2006).

### 2.3 Meio de cultura

O meio de cultura utilizado para a verificação de contaminação bacteriana foi composto por 1% de extrato de levedura, 1% de peptona, 2% glicose, 2% ágar e o restante foram completados com 1 L de água destilada (ALEXANDRINO, 2013).

### 2.4 Fermentação

A fermentação foi realizada em Erlenmeyers de 500 mL, contendo em cada Erlenmeyer 300 mL de mosto com o seu respectivo tratamento. Foram inoculados  $3 \text{ m v}^{-1}$  (massa seca) de *Saccharomyces cerevisiae* em cada reator, estes foram pesados e colocados para serem fermentados no *shaker* sob agitação (120 rpm) e temperatura (30°C) constantes. Após a fermentação foram retirados 500  $\mu\text{L}$  de mosto de cada reator para serem diluídos em água peptonada para análise de contaminação das amostras. No tratamento T1 foram realizadas diluições de  $10^7$  colônia/mL enquanto que nos T2 e T3 foram realizadas diluições de  $10^3$  colônia/mL. Em seguida 0,1 mL da amostra diluída foi pipetada e espalhada com uma alça de Drigalski na placa de Petri com meio de cultura, e em seguida a placa foi fechada com papel filme. Foram realizadas duas repetições. O vinho obtido após a fermentação foi centrifugado em 3925 g por 10 minutos. Após o fim dessa etapa, o volume do sobrenadante foi medido em uma proveta e por diferença foi determinado o volume de creme de levedura. (COPERSUCAR, 1987).

### 2.5 Viabilidade celular

A viabilidade celular foi realizada conforme o método descrito por Pierce (1970). Em um tubo de ensaio foram adicionados 9 mL água com Tween 80% e 1 mL de mosto. Posteriormente 300 mL dessa solução foi transferida para um tubo de ensaio juntamente com 300 mL de azul de metileno. Em seguida 0,1 mL da etapa anterior foi transferida para uma câmara de Neubauer e assim, foi possível fazer a contagem das leveduras em microscópio óptico (OLIVEIRA, 1996).

## 2.6 Hidrólise da sacarose e determinação de açúcares redutores totais

A hidrólise da sacarose e a determinação de açúcares redutores totais (ART) foram realizadas segundo o método do ácido dinitrossalicílico descrito por Miller (1959). Em Erlenmeyer de 25 mL foram adicionados 12,5 mL de HCl e 2,5 mL da amostra, que foram submetidos a banho maria 65°C por 30 minutos. Posteriormente a solução foi transferida para balão volumétrico de 25 mL onde foi neutralizada com NaOH 4N tendo como indicador um papel tornassol, completando-se o volume com água destilada. Em seguida 1 mL da etapa anterior foi adicionada em tubo de ensaio juntamente com 1 mL do ácido dinitrossalicílico (DNS). Os tubos foram colocados em banho de água fervente por 5 minutos e logo após foram resfriados e 10,5 mL de água destilada foram adicionados a eles. Em um espectrofotômetro as amostras foram lidas no comprimento de ondas de 540 nm.

Foi confeccionada a curva padrão estabelecendo a relação da leitura no espectrofotômetro da absorbância a 540 nm versus a concentração de açúcar (g/mL). Sendo assim possível calcular a concentração de açúcar em g/L presente no mosto e vinho que são apresentados na Tabela 3.

## 2.7 Determinação do teor alcoólico

Os volumes de 200 mL de vinho (produto obtido após a fermentação) coletados durante os ensaios, a partir de cada unidade experimental foram centrifugados durante 10 minutos e 25 mL do vinho sem levedura foi destilado por arraste em vapor recolhendo-se 25 mL do destilado, em balão volumétrico. As amostras foram analisadas quanto ao teor alcoólico em um densímetro (ZAGO et al., 1996).

## 2.8 Rendimento

O rendimento foi determinado a partir da massa de etanol obtida do vinho em um reator de 300 mL em razão da massa de ART presente no reator.

## 2.9 Produtividade

A produtividade foi calculada a partir da quantidade em mL/L de etanol produzidos em razão do tempo total de fermentação.

## 2.10 Análise estatística

As comparações das médias foram realizadas pelo teste de comparações de Tukey, ao nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ). Para a execução das análises foi utilizado o software R Core Team (2016).

## 3 Resultados

### 3.1 Viabilidade celular

Antes de iniciar a fermentação foi realizada a viabilidade inicial da *Saccharomyces cerevisiae* segundo o método de Pierce (1970) que foi de 77,3%. Ao fim da fermentação de cada tratamento verificou-se a viabilidade das leveduras presentes no vinho.

Como pode ser observado na Tabela 1 os tratamentos apresentaram boa viabilidade celular, podendo então ser reutilizados em novos ciclos fermentativos. Batistote, et al. (2010) analisaram leveduras providas de algumas usinas no país, sendo que as leveduras apresentaram em média entre 66 e 88% de viabilidade com ciclo celular.

**Tabela 1 - Viabilidade celular das leveduras ao término da fermentação**

Tratamentos	Viabilidade (%)
Tratamento 1	80,62 <sup>b</sup> +/- 0,84
Tratamento 2	75,57 <sup>c</sup> +/- 1,13
Tratamento 3	83,65 <sup>a</sup> +/- 1,51

Médias acompanhadas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade (significância).

Fonte: Autores (2019)

O tratamento 1, contendo bactérias presentes do solo apresentou alta viabilidade, mesmo na presença de diferentes micro-organismos. Isto pode ser explicado de acordo com as contagens bacteriológicas realizadas no início do cultivo que apresentaram níveis de  $5,8 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup>. Estes níveis de contaminações são considerados prejudiciais ao rendimento da fermentação e à viabilidade celular, entretanto no final da fermentação não foram observadas colônias bacterianas. Isto indica que durante a fermentação as bactérias não conseguiram sobreviver às condições do meio, uma vez que, ocorreu competição por substratos entre a levedura e as bactérias durante a fermentação. No trabalho de Bayrock e Ingledew (2001) a viabilidade

celular da levedura não foi afetada pela presença de bactérias em diferentes mostos de fermentação. No presente trabalho também foi observado que a competição por nutrientes do substrato pelos micro-organismos não influenciou a viabilidade celular da levedura.

### 3.2 Biomassa e concentração celular

Após a fermentação as leveduras foram separadas do vinho por meio da centrifugação e foi possível calcular a porcentagem de biomassa encontrada em cada tratamento. Na Tabela 2 são observadas as médias de biomassa em cada tratamento.

**Tabela 2 - Porcentagem média de biomassa encontrada no vinho**

Tratamentos	Biomassa (%)
Vinho 1	9,50 <sup>a</sup> +/- 0,09
Vinho 2	11,12 <sup>a</sup> +/- 0,11
Vinho 3	7,43 <sup>b</sup> +/- 0,18

Médias acompanhadas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade (significância).

Fonte: Autores (2019)

De acordo com Steinle (2013) a porcentagem ideal de biomassa em fermentações alcoólicas de curto tempo é de 8 %. Os tratamentos 1 e 2 apresentaram porcentagem de biomassa acima do ideal, isso pode ser explicado, uma vez que, durante a fermentação, rotas metabólicas alternativas surgem para propiciar a formação de materiais necessários à produção de biomassa, bem como para a formação de outros produtos de interesse metabólico, relacionados direta ou indiretamente com a adaptação e sobrevivência, o que pode vir a reduzir a produção de etanol. Estes são o glicerol, ácidos orgânicos, acéticos e principalmente o succínico (AMORIM; BASSO; ALVES, 1996). Portanto nestes tratamentos menos açúcar foi direcionado para a produção de etanol, tendo sido desviados para produtos de interesse metabólicos. Uma sugestão para trabalhos futuros seria analisar o teor de glicerol, ácidos orgânicos, acético e o succínico. O tratamento 3 foi o que mais se aproximou do valor considerado ideal pela literatura, isto mostra que quando é realizada a clarificação e esterilização antes da fermentação diminui significativamente a biomassa acumulada no final da fermentação.

### 3.3 Açúcares redutores totais

Os mostos preparados para cada tratamento apresentaram em média 173 g de açúcares redutores totais (ART) (Tabela 3). Após a fermentação foi analisado o teor de ART do vinho. Os tratamentos 1 e 2 apresentaram elevado teor de ART residual. O tratamento 3 diferenciou dos demais no consumo de açúcar durante a fermentação sendo este o tratamento com menor quantidade de ART observado. Essa diferença pode ser explicada pelo modo com que cada mosto foi tratado, como apenas no tratamento 3 foi realizada a clarificação e esterilização este apresentou menos açúcares não fermentáveis no vinho.

A alta concentração de ART presente no vinho de todos os tratamentos após a fermentação foi esperada, uma vez que, foi utilizado o melaço como fonte de açúcar. Quando se utiliza melaço em grandes proporções é possível verificar a presença de açúcares infermentescíveis após a fermentação (RIBEIRO; BLUMER; HORII, 1999).

**Tabela 3 - Concentração de açúcar residual total média no mosto e no vinho (g/L)**

Tratamento	ART(g/L)
Mosto 1	173,12 <sup>a</sup> +/- 3,01
Mosto 2	173,45 <sup>a</sup> +/- 3,20
Mosto 3	173,34 <sup>a</sup> +/- 3,50
Vinho 1	54,50 <sup>b</sup> +/- 1,46
Vinho 2	59,94 <sup>b</sup> +/- 2,14
Vinho 3	24,07 <sup>c</sup> +/- 2,39

Médias acompanhadas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade (significância).

Fonte: Autores (2019)

### 3.4 Concentração de etanol no vinho

De acordo com o teste estatístico os tratamentos diferenciaram entre si, portanto cada tratamento obteve um efeito diferente na produção de álcool no vinho (Tabela 4). O tratamento 1, cujo fermento estava associado a bactérias foi o que apresentou o menor teor alcoólico, enquanto que o tratamento 2 que estava estéril resultou em um teor alcoólico maior do que o tratamento 1. Já o tratamento 3 que estava estéril e clarificado foi o que apresentou maior teor alcoólico. Isto pode ser explicado, pois o tratamento 3 que apresentou menor quantidade de biomassa presente no

vinho e boa viabilidade celular. O tratamento 1 sofreu competição das bactérias pelo substrato, consequentemente converteu menos açúcar em etanol, enquanto o tratamento 2 apresentou elevada concentração de biomassa e açúcares não fermentáveis que influenciaram na conversão do açúcar em etanol. De acordo com L. C. Basso, T. O. Basso e Rocha (2011) fermentações que utilizam mosto proveniente de cana-de-açúcar com 18-22% de açúcares redutores produzem de 8-12% (v/v) de etanol. Neste trabalho apenas o tratamento 3 correspondeu com os valores da literatura.

**Tabela 4 - Teor alcóolico médio encontrado no vinho**

Tratamento	°GL (v/v)	°INPM (m/m)
Mosto 1	0,00 <sup>d</sup> +/- 0,00	0,00 <sup>D</sup> +/- 0,00
Mosto 2	0,00 <sup>d</sup> +/- 0,00	0,00 <sup>D</sup> +/- 0,00
Mosto 3	0,00 <sup>d</sup> +/- 0,00	0,00 <sup>D</sup> +/- 0,00
Vinho 1	4,17 <sup>c</sup> +/- 0,12	3,34 <sup>C</sup> +/- 0,11
Vinho 2	6,13 <sup>b</sup> +/- 0,18	4,91 <sup>B</sup> +/- 0,14
Vinho 3	8,33 <sup>a</sup> +/- 0,22	6,70 <sup>A</sup> +/- 0,19

Médias acompanhadas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade (significância)

Fonte: Autores (2019)

### 3.5 Rendimento

Verifica-se que houve diferença entre os tratamentos e que o tratamento 3 (estéril e clarificado) apresentou um rendimento superior aos demais (Tabela 5). De acordo com Laopaiboon et al. (2009) em fermentações utilizando mostos com concentrações de ART variando de 95 a 232 g. L<sup>-1</sup> o rendimento é de 64 a 84,5 %. Uma vez que apenas o tratamento 3 ficou dentro da faixa de valores ideais, isto indica que a clarificação e esterilização tiveram papéis fundamentais na fermentação. Alguns fatores que podem ser levados em consideração para

explicar o rendimento abaixo do esperado dos tratamentos 1 e 2 são: grande produção de biomassa e produção de metabólitos que inibiram a produção de etanol causando estresse nas leveduras (AMORIM; BASSO; ALVES, 1996).

O melaço na usina é diluído em água e depois misturado com o xarope de cana em um tanque de homogeneização. Depois o mosto é transferido para uma dorna onde são adicionados nutrientes e antissépticos e em seguida é adicionada a levedura dando início a fermentação. (CASTRO, 2013). De acordo com Pimentel (2014) a presença de bactérias na fermentação gera de 1,5 – 5% de perda de

rendimento comercial, e dependendo das condições de como esta é conduzida, pode chegar a reduzir 30% do rendimento fermentativo na usina. A contaminação bacteriana pode ser observada através da floculação de leveduras e a formação de espuma durante a fermentação, sendo necessária a utilização de antibióticos para

controlar o crescimento de bactérias (BASSO et al., 2014). Desta forma este trabalho mostrou que quando realizada a clarificação e esterilização adequada do mosto proveniente de melaço é possível obter uma fermentação com bom rendimento evitando a necessidade de utilização de antibiótico e antissépticos.

**Tabela 5 - Rendimento (%) médio dos tratamentos**

Tratamentos	Rendimento (%)
Tratamentos 1	37,4 <sup>c</sup> +/- 0,00
Tratamentos 2	54,6 <sup>b</sup> +/- 0,00
Tratamentos 3	74,2 <sup>a</sup> +/- 0,00

Médias acompanhadas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade (significância).

Fonte: Autores (2019)

### 3.6 Produtividade

Os tratamentos 2 e 3 levaram 8 horas de fermentação que está de acordo com o tempo segundo observado por Vasconcelos (2010). O tratamento 1 devido a presença de bactérias competindo com as leveduras demorou 10 horas.

De acordo com os dados obtidos pode-se observar que o tratamento 3 que é estéril e clarificado apresentou resultados melhores que os demais (Tabela 6). Verificou-se que a contaminação inicial do tratamento 1 teve grande influência na baixa produtividade,

e a elevada presença de biomassa no tratamento 2 impediu este de ter resultados igual ou superior ao do tratamento 3. Li et al. (2009) e Tosetto (2002) realizaram fermentações com reciclo e obtiveram valores de produtividade entre 8,21 e 12,75 mL.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>. Quando comparados aos valores obtidos no presente trabalho com a literatura pode-se observar que apenas o tratamento 3 obteve produtividade na faixa descrita. O que indica que quando há esterilização e clarificação aumenta de 26-76% a produtividade da fermentação.

**Tabela 6 -Produtividade média dos tratamentos**

Tratamento	mL/L.h
Tratamento 1	4,17 <sup>c</sup> +/- 0,00
Tratamento 2	7,66 <sup>b</sup> +/- 0,00
Tratamento 3	10,41 <sup>a</sup> +/- 0,00

Médias acompanhadas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade (significância).

Fonte: Autores (2019)

### 4 Conclusões

Os tratamentos apresentaram uma viabilidade final na faixa de 75,57-83,65%, portanto estas leveduras podem ser utilizadas em um novo ciclo. Foi possível determinar o teor alcoólico e de açúcar presentes no vinho e conseqüentemente determinou-se o rendimento de etanol produzido e a produtividade da fermentação. O rendimento entre os tratamentos situou-se na faixa de 37,4-74,2%, sendo que o que apresentou maior rendimento foi o tratamento 3 com 74,2%. A produtividade entre os tratamentos

ficou na faixa de 4,17-10,41 mL.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> e o tratamento 3 foi o que apresentou maior produtividade com 10,41 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>. O tratamento 3 que foi esterilizado e clarificado mostrou maior rendimento e produtividade que os demais tratamentos, o que indica que a esterilização e clarificação influenciaram no processo fermentativo. O melaço pode ser utilizado como fonte de açúcar na fermentação, uma vez realizadas a clarificação e esterilização, sendo assim possível obter uma fermentação com alto rendimento e produtividade.

---

## 5 Ethanol Production from Cane Molasses

**Abstract:** *The main by-product of the sugar industry is molasses, which is produced in the proportion of 40 to 60 kilos per ton of processed sugar cane. Molasses from one ton of processed sugarcane can produce about 12 liters of ethanol, in addition to the manufactured sugar. In any case, it appears that in most Latin American sugar-production countries, molasses can be a relevant source of ethanol and a precursor to meeting the domestic fuel needs of the country. Searching for alternatives to improve the ethanol production process in the plants, the work aimed to show the influence of clarification and sterilization in the preparation of molasses to be used in the fermentation process, thus determining optimal conditions for ethanol production. Three types of treatments were carried out to make fermentation happens: T1- Non-clarified and non-sterile molasses. T2- Molasses sterile and not clarified. T3- Molasses sterile and clarified. The T3 treatment presented the highest productivity and yield, due to the sterilization and clarification procedure which were influential in the fermentative process.*

**Keywords:** Alcoholic fermentation; *Saccharomyces cerevisiae*; Clarification; Sterilization; Fermentation process.

---

## 6 Referências

AMORIM, H.V.; BASSO, L.C.; ALVES D.M.G. **Processo de produção de álcool: controle e monitoramento.** Piracicaba: FERMENTEC/FEALQ/ESALQ-USP, 1996.

ALEXANDRINO, N. **Técnicas Básicas de Microbiologia.** Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

BASSO, L. C.; BASSO, T. O.; ROCHA, S. N. **Ethanol production in Brazil: The industrial process and its impact on yeast fermentation.** in: M.A. Dos Santos Bernardes (Ed.), *Biofuel production – recent developments and prospects.* p. 85-100, 2011.

BASSO TO, GOMES FS, LOPES ML, DE AMORIM HV, EGGLESTON G, BASSO LC. Homo and heterofermentative lactobacilli differently affect sugarcane-based fuel ethanol fermentation. **J Gen Mol Microbiol**, n. 105, p. 169–177, 2014.

BATISTOTE, M.; CARDOSO, C. A. L.; RAMOS, D. D.; ERNANDES, J. R. Desempenho de leveduras obtidas em indústrias de Mato Grosso do Sul na produção de etanol em mosto a base de cana-de-açúcar. **Ciência e Natura**, UFSM, v. 32, p. 85-95, 2010.

BAYROCK D.; INGLEDEW, W. M. Changes In steady state on introduction of a *Lactobacillus* contaminat to a continuous culture ethanol fermentation. **Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 39-45, 2001.

BRAGA, V.S. **A influência da temperatura na condução de dois processos fermentativos para a produção de cachaça.** 90p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

CASTRO, H. F. **Processos Químicos Industriais II.** Apostila 2: **Indústria Alcooleira.** Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2013.

COOPERATIVA DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO (COPERSUCAR). Centro de Tecnologia. Divisão industrial. **Fermentação.** São Paulo, p. 434, 1987.

HORTA NOGUEIRA, L. A. **Perspectivas de un Programa de biocombustibles en América Central.** Cidade do México: Proyecto Cepal/GTZ Uso Sustentable de Hidrocarburos, Comisión Económica para América Latina y el Caribe, 2004.

LAOPAIBOON, L.; NUANPENG, S.; SRINOPHAKUN, P.; KLANRIT, P.; LAOPAIBOON, P. Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology: Effects of carbono and nitrogen supplementations. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 18, p. 4176-4182, 2009.

LEMOS, E.G.M.; STRADIOTTO, N.R. **Bioenergia: Desenvolvimento, Pesquisa e Inovação.** São Paulo: Cultura Acadêmica, p. 1072, 2012.

LI, F.; ZHAO, X.Q. GE, X.M.; BAI, F.W. An innovative consecutive batch fermentation process for very – high – gravity ethanol fermentation with selfflocculating yeast. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 84, p. 1079-1086, 2009.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MUTTON, M.J.R.; MISSIMA, J.O.D.; SILVANO, N.; DOS SANTOS, R.F.P.; COSTA, G.H.G. Qualidade tecnológica do melão produzido com cana de

açúcar bisada. **Ciência & Tecnologia**: Fatec-JB, Jaboticabal, v. 4, 2012.

OLIVEIRA, M.C.S. **Avaliação do processo de fermentação alcoólica de suco de maçã obtido por liquefação enzimática**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2006.

PIERCE, J.S. Analysis committee measurement of yeast viability. **Journal of the Institute of Brewing**. v.76, n.5, p.442-443, 1970.

PIMENTEL J, JAMES DW. **Fermentation of carbohydrate**. November 11, US Patent. 8883470, n.d; 2014.

R Core Team. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: dez. 2018.

RIBEIRO, C.A.F.; BLUMER, S.A.G.; HORII, J. **Fundamentos de tecnologia sucroalcooleira**. 2ª Parte. Tecnologia do Alcool. Piracicaba, p. 34, 1999.

STEINLE, L.A. **Fatores que interferem na fermentação alcoólica**. 58 p. Pós-Graduação, Universidade Federal de São Carlos, Sertãozinho, 2013.

TOSETTO, G. M. **Influência da matéria-prima no comportamento cinético de levedura na produção de etanol**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR (UNICA). **Moagem de cana-de-açúcar e produção de açúcar e etanol – safra 2018/2019**. Disponível em: <http://www.unicadata.com.br>. Acesso em: 23 jul. 2019.

VASCONCELOS, J. N. Fermentação Etanólica. In: Santos, E.; Borém, A.; Caldas, C. **Cana-de-Açúcar: Bioenergia, Açúcar e Alcool? Tecnologia e perspectivas**. Suprema Gráfica e Editorial LTDA. Viçosa, p. 400-437, 2010.

ZAGO, E.A.; SILVA, L.F.L.F.; BERNARDINO, C.D.; AMORIM, H.V. **Métodos analíticos para o controle da produção de álcool e açúcar**. Piracicaba: ESALQ FERMENTEC, 1996.