



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE DOURADOS



NAMIR MEDEIROS DE OLIVEIRA

**LEVEDURAS INDUSTRIAIS: ANÁLISE DO SUBSTRATO
E CONDIÇÕES FERMENTATIVAS**

DOURADOS – MS

2016



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE DOURADOS



NAMIR MEDEIROS DE OLIVEIRA

LEVEDURAS INDUSTRIAIS: ANÁLISE DO SUBSTRATO
E CONDIÇÕES FERMENTATIVAS

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado como parte da exigência para
obtenção do título de Bacharel em Química
Industrial pela Universidade Estadual de
Mato Grosso do Sul sob orientação da
Profa. Dra. Margareth Batistote

DOURADOS – MS

2016

O48L Oliveira, Namir Medeiros
Leveduras industriais: análise do substrato e condições
fermentativas/ Namir Medeiros de Oliveira. – Dourados, MS:
UEMS, 2016.
33f.

Monografia (Graduação) – Química Industrial –
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2016.
Orientador: Dra. Margareth Batistote

1. Mosto 2. Fermentação 3. Etanol I. Universidade Estadual
de Mato Grosso do Sul II. Título

CDD 23.ed. - 660.28449

AGRADECIMENTO

Meus agradecimentos vão para todos meus amigos que, de forma direto ou indireta, participaram durante a minha formação acadêmica.

Aos todos os meus familiares que me apoiaram durante a graduação acadêmica, em especial aos meus primos, Antônio Marcio Oliveira Fernandes, Quenidd Fernandes, Keng Daniel Fernandes e Kemer Darlan Fernandes, por ter disponibilizado a sua residência para a minha moradia durante a formação.

Ao meus pais Nailo de Oliveira e Ramona de Lourdes Medeiros de Oliveira pelo amor e confiança que depositaram sobre mim.

Aos meus padrinhos Jarbas Gonçalves Dias e Lucia Helena Carneiro pelos conselhos, ensinamentos e incentivos.

Ao meu irmão Naildo Medeiros de Oliveira e esposa Flávia Regina de Almeida que sempre esteve a meu lado para que eu tivesse força durante este caminho acadêmico.

A Regiane Medeiros de Oliveira Severo e marido Leandro Severo de Lima, por toda força, compreensão, apoio financeiro e confiança depositado sobre mim.

Agradeço a professora Dra. Margareth Batistote, pela orientação, dedicação e ensinamento, me proporcionando conhecimentos que me tornaram uma pessoa com mais potencialidade. Por ter disponibilizado a oportunidade de participação de congressos e eventos científicos, que serão de muita importância para meu futuro. E pela paciência e persistência para elaboração e conclusão desse trabalho.

E agradeço pelo o apoio e pela integração dos indígenas o programa Rede de Saberes, em especial as professoras Beatriz do Santos Landa e Antônia de Souza Silva, pelo o apoio financeiro nas participações de congressos e eventos científicos.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 ANÁLISE DO CALDO	13
2.2 FERMENTAÇÃO.....	14
3 OBEJTIVOS	17
3.1 OBJETIVO GERAL	17
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
4 MATERIAIS E MÉTODOS	18
4.1 PREPARO DO CALDO	18
4.2 ANÁLISE QUÍMICA DO CALDO	18
4.3 MICRORGANISMOS UTILIZADOS	18
4.4 PRÉ-INÓCULO	18
4.5 FERMENTAÇÃO.....	18
4.6 PARÂMETROS FERMENTATIVOS	19
4.6.1 Produção de Biomassa	19
4.6.2 Viabilidade Celular	19
4.6.3 Concentração de Etanol	19
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.1 ANÁLISE QUÍMICA DO MOSTO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO SUBSTRATO E TEMPERATURA.....	20
5.2 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS DE LEVEDURAS INDUSTRIAIS CULTIVADAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GRAUS BRX NA TEMPERATURA DE 30°C.....	23
5.3 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS DE LEVEDURAS INDUSTRIAIS CULTIVADAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GRAUS BRX NA TEMPERATURA DE 40°C.....	27
6 CONCLUSÕES	31
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Análise de produção de biomassa de linhagens industriais Cat-1  e FT-858 . Cultivadas nas concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) na temperatura de 30°C por diferentes tempos de fermentação. 24
- Figura 2-** Análise de taxa de viabilidade celular de linhagens industriais de Cat-1  e FT-858 . Cultivadas nas concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) na temperatura de 30°C por diferentes tempos de fermentação. 25
- Figura 3-**Análise de concentração de etanol de linhagens industriais Cat-1  e FT-858 . Cultivadas nas concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) na temperatura de 30°C por diferentes tempos de fermentação. 26
- Figura 4-** Análise de produção de biomassa de linhagens industriais Cat-1  e FT-858 . Cultivadas nas concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) na temperatura de 40°C por diferentes tempos de fermentação. 27
- Figura 5-** Análise de taxa de viabilidade celular de linhagens industriais Cat-1  e FT-858 . Cultivadas nas concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) na temperatura de 40°C por diferentes tempos de fermentação. 28
- Figura 6-**Análise de concentração de etanol de linhagens industriais Cat-1  e FT-858 . Cultivadas nas concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) na temperatura de 40°C por diferentes tempos de fermentação. 29

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 – Avaliação do pH e condutividade das linhagens Cat-1 e FT-858 cultivadas em mosto nas concentrações de graus Brix 18, 22 e 25 nas temperaturas de 30 e 40°C, nos tempos de 0 e 60 horas.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP: adenosina difosfato

ATP: adenosina Trifosfato

°C: graus Celsius

CaCl₂: cloreto de cálcio

Cat-1: Cantaduva-1

CH₃CH₂OH: etanol

C₂H₅OH: etanol

C₆H₁₂O₆: glicose

CO₂: dióxido de carbono

g/mL: gramas/ mililitros

GEE: gases efeito estufas

h: horas

H₂O: água

H₂SO₄: ácido sulfúrico

Kcal: quilocalorias

KCl: cloreto de potássio

m: metros

mL: mililitro

mg: miligramas

mg/mL: miligramas/mililitro

mmHg: milímetro de mercúrio

mS/cm: milisiemens/centímetro

NaCl: cloreto de sódio

NaHCO₃: bicarbonato de sódio

NIPE: Núcleo Interdisciplinar de Planejamento Energético

nm: nanômetro

Ohm: resistência elétrica

pH: potencial hidrogeniônico

Pi: fosfato inorgânico

ppm: partes por milhão

SO₂: dióxido de enxofre

v/v: volume/volume

YPD: 1%(m/v) extrato de levedo, 2%(m/v) glicose e 1%(m/v) peptona

μL: microlitro

μm: micrometro

%: porcentagem

RESUMO

Devido a dependência de consumo de combustível não renovável (petróleo), houve uma preocupação mundial com a segurança energética, ambiental e social. Pois a grande consequência era o aumento da densidade de gases de efeito estufa na atmosfera. Como alternativa, o setor sucroenergético passou a se destacar. Hoje o cenário brasileiro vem expandindo a produção de etanol, sendo os maiores produtores de cana-de-açúcar. O processo de produção de etanol passa por inúmeras etapas de processamento, sendo a fermentação uma delas, no qual os açúcares são transformados em álcool etílico e gás carbônico pela ação das leveduras. As mais importantes e utilizadas na indústria produtora do etanol são os do gênero *Saccharomyces* (Cantaduva-1, Pedra-2, Santa Adélia, Barra Grande, Fleischman e FT-858). O objetivo do estudo foi avaliar os parâmetros químicos e fermentativos antes e após a fermentação com linhagens de leveduras industriais Cantaduva-1 e FT-858 em diferentes concentrações de substrato e temperatura. No preparo do pré-inóculo, foi utilizado o meio de sólido YPD (1%(m/v) extrato de levedo, 2%(m/v) glicose e 1%(m/v) peptona) e esterilizado em autoclave a 120°C por 20 min. Os microrganismos foram multiplicados a partir de amostra liofilizadas, linhagens puras foram diluídas em solução salina de 0,85%, plaqueadas em meio YPD e incubadas por 72 horas a 30°C. Os ensaios de fermentação foram realizados em mosto a base de caldo de cana esterilizada e incubada na temperatura de 30°C e 40°C, em diferentes tempos de cultivo, com agitação. Nas análises de avaliação química e fermentativa, foi possível apresentar a importância da temperatura e concentração de substrato durante o processo fermentativo. Dados mostraram uma variação de pH de 5,38 a 3,80 e na condutividade houve aumento de íons variado de 2,29 a 4,85mS/cm. A levedura Catanduva-1 foi a que obteve maior variação de pH e FT-858 na avaliação de condutividade. Na avaliação fermentativa, na temperatura de 30°C a produção de etanol variou entre 3,5 a 2,1(v/v), a linhagem Catanduva-1 apresentou a maior produção de etanol na concentração de 18° Brix. Os resultados mostraram que a levedura FT-858 sofreu menos a ação do estresse fermentativo que a linhagem Catanduva-1 quando cultivada em maiores concentrações do substrato e temperatura.

Palavras-chave: Mosto, Fermentação, Etanol.

1 INTRODUÇÃO

O Programa Nacional do Álcool (Proálcool) lançado em 1975, tinha como objetivo maior a redução da dependência nacional em relação ao petróleo importado. Naquele momento, o Brasil importava, aproximadamente, 80% do petróleo consumido, o que correspondia a cerca de 50% da balança comercial. Àquela época, ainda não havia a percepção da influência da emissão de gás carbônico (CO₂) durante a queima de combustíveis fósseis no bem-estar da humanidade. Embora cientistas já viessem alertando o público e os governantes quanto às consequências do aumento da densidade de gases de efeito estufa (GEE) na atmosfera, nenhum país adotou qualquer medida restritiva (LEITE & CORTEZ, 2015).

Nos últimos anos, o setor sucroenergético passou a ser destaque no cenário internacional, devido à preocupação mundial com a segurança energética, ambiental e social. Neste contexto, o Brasil, como líder mundial na produção de cana-de-açúcar, passou a ser alvo da mídia internacional, estimulando novos investimentos de capital estrangeiro e levando os produtores a expandir cada vez mais a sua produção (CALDAS & SANTOS, 2011).

Nos dias atuais, o Brasil se defronta com a perspectiva de um aumento significativo da demanda de álcool combustível. Essa previsão se sustenta em três realidades de mercado: aumento interno do consumo de álcool hidratado pelo sucesso da introdução da alternativa "flex-fuel" no mercado de veículos automotivos leves; expansão das exportações brasileiras de álcool misturada à gasolina, como forma de enfrentar o aquecimento global; opção brasileira pela produção do biodiesel, utilizando etanol na transesterificação dos óleos vegetais (BANOMI & FELIPE, 2010). O aumento do consumo interno de álcool e as questões ambientais por combustíveis obtidos por fontes renováveis é uma realidade no cenário nacional.

O bicomcombustível álcool é a espécie química etanol, composto ternário orgânica, com fórmula CH₃CH₂OH (52,15% de carbono, 37,73% de oxigênio e 13,12% de hidrogênio). Solidifica-se a -130°C, em forma de uma massa branca. Ferve a 78,35°C, sob pressão de 760mmHg. Sua densidade a 20°C é 0,7893g/mL e, a 15°C, 0,7943g/mL. É um líquido claro, incolor, de odor aromático, reação neutra e sabor ardente. Queima com chama azulada, pouco luminosa, porém muito quente e em estado puro se inflama espontaneamente pela ação dos raios de sol. Dada a sua grande avidez por água, é um

excelente agente para impedir putrefações, pois desidrata os tecidos nele submersos (VASCONCELOS, 2011).

O Brasil desponta na produção de cana, etanol e açúcar com 572,7 milhões de toneladas, 27,7 bilhões de litros e 31,3 milhões de toneladas, respectivamente, na safra 2008/2009 segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2009). A cana-de-açúcar é cultivada em mais de 101 países, sendo que os maiores produtores são representados por Brasil, Índia, China e México e representam cerca de 3/4 da produção mundial. O Brasil representou 33% da produção mundial de cana em 2007 (FAOSTAT, 2008). O processo de produção de etanol passa por inúmeras etapas de processamento sendo que a fermentação é uma delas.

O processo de fermentação em uso no Brasil atende a diversos requisitos importantes para a produção de etanol em larga escala para emprego como combustível. Trata-se de um processo robusto, sem interrupções, capaz de suportar alterações bruscas na matéria-prima e opera em condições de baixo nível de assepsia. Embora a fermentação alcoólica no seu estágio atual atenda às necessidades de produção de etanol existe ampla margem para otimização dos processos de fermentação em uso (FELIPE, 2010).

Há pouco mais de dois anos iniciou-se, no Núcleo Interdisciplinar de Planejamento Energético - NIPE, da Unicamp, um estudo visando à expansão da produção do álcool no Brasil de maneira a substituir 10% da gasolina no mundo em 2025, ou seja, uma produção anual de 200 bilhões de litros (LEITE & CORTEZ, 2015).

O desenvolvimento da atividade canavieira no estado de Mato Grosso do Sul- MS, a partir das toneladas de cana moída desde a primeira safra até os últimos anos foi de 2.386,6 toneladas na safra 1984/1985 e de 41.496,0 toneladas na safra 2013/2014, segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2014). O estado de Mato Grosso do Sul apresentou um crescimento de 19% de área plantada de cana-de-açúcar, passando de 654,5 mil em 2013 para 668,3 mil hectares em 2014, segundo o terceiro levantamento do mês de dezembro/2014. Assim, no que diz respeito ao território brasileiro, a expansão da cana-de-açúcar no estado de MS cresceu devido ao seu clima e solo, e a sua localização, pois está muito próximo dos grandes centros consumidores do país, particularmente, o Estado de São Paulo, o que contribui muito para o seu desenvolvimento econômico (DOMINGUES & THOMAZ, 2012). Em Mato Grosso do Sul o potencial para crescimento da produção do etanol, quer seja aditivo à

gasolina ou em veículos flex, é um dos maiores do país. As 24 usinas processam 47 milhões de toneladas de cana e com os novos empreendimentos industriais o volume iria passar de 1,9 bilhão de litros (safra 2009/2010), para 5,9 bilhões de litros na safra 2015, segundo dados da (BIOSUL, 2015).

O microrganismo mais estudado para produção de etanol é a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, seguida pela bactéria *Zymomonas mobilis*. Em escala industrial, no Brasil, predomina a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Em várias unidades industriais, ainda é comum, no início de safra, a utilização de levedura de panificação, na forma prensada ou granulada seca. Em outras unidades industriais, ao final de safra, isola-se a levedura produtora de etanol e conserva-se o microrganismo em meio nutritivo até o início da safra seguinte, quando esta será reutilizada. É crescente o número de destilarias que utilizam leveduras isoladas e selecionadas do próprio processo de fermentação (VASCONCELOS, 2011).

Saccharomyces são o gênero de levedura mais largamente utilizada na indústria produtora de fermentados que tem como produto final o álcool. A capacidade deste gênero de ser utilizado em processos industriais transformando açúcares em etanol propicia uma alta tolerância ao produto formado, tolerância a variações de temperatura, atividade celular em ambiente ácido. Todos esses atributos podem ser resumidos por representantes do gênero *Saccharomyces* (SANTOS et al., 2013).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ANÁLISE DO CALDO

Mosto é um líquido açucarado que pode ser fermentado, porém devem ser tomados alguns cuidados quanto à concentração de açúcares totais e sua relação com sólidos solúveis, acidez total e pH, preparado a partir de méis, caldo e água. O mosto é um composto orgânico e rico em íons eletricamente carregado. A condução da eletricidade é devida das soluções iônica por migração de íons positivos e negativos com a aplicação de um campo eletrostático. Essa propriedade varia com a concentração total de substâncias ionizadas dissolvidas na água, com a temperatura, com a mobilidade dos íons, com a valência dos íons e com a concentração real e relativa de cada íon (PINTO, 2007).

O pH influencia na atividade dos microrganismos e logo, na fermentação, sendo este importante para o controle de contaminação bacteriana, crescimento da levedura, taxa de fermentação e formação de subprodutos (SOUZA, 2009). Para um bom desenvolvimento da levedura o pH deve ser de aproximadamente 5,0. Para valores de pH maiores, próximo de 6,0, no processo de fermentação produz uma quantidade excessiva de glicerina e ácido acético, além de álcool etílico e anidrido carbônico (ZULIM et al., 2014). O ácido sulfúrico (H_2SO_4) é um ácido mineral forte utilizado para o controle de pH nas cubas e bactericida, com objetivo de controlar a contaminação. Um pH muito ácido restringe o crescimento da levedura diminuindo sua viabilidade celular, pois afeta o metabolismo da levedura, ocasionando perdas de nutrientes. Um pH alcalino acelera o brotamento da levedura e acelera proliferação das bactérias (CÂNDIDO, 2012).

Durante as fermentações o pH pode variar por diversas razões, como variações devido ao consumo de fontes de nutrientes e também formação de ácidos, tais como acético, láctico, pirúvico, succínico (RIBEIRO, 2010).

A condutimetria é um método de análise que se fundamenta na medida da condutividade elétrica de uma solução eletrolítica. A condução da eletricidade através das soluções iônicas ocorre devido à migração de íons positivos e negativos. Durante a aplicação de um potencial de corrente alternada, os valores das resistências medidas obedecem a 1ª lei de Ohm. A condutância das soluções eletrolíticas pode ser determinada por medida direta ou indireta (SOUZA & JOST, 2013). Em geral, a

condutividade aumenta com a temperatura, por isso ela deve ser medida anotando-se também a temperatura de referência da amostra, para posterior conversão ao padrão. No entanto, praticamente todos os equipamentos disponíveis no mercado, utilizados para medir a condutividade, já fornecem o valor corrigido de acordo com a temperatura padrão (OLIVEIRA, 2009).

2.2 FERMENTAÇÃO

A palavra fermentação teve origem da palavra latina “fervere”, palavra que vem de fermentare, que significa ebulição, borbulhamento, sendo aplicada desde tempos imemoriais. Na fermentação, os microrganismos liberam enzimas para retirar do meio os nutrientes que precisam para se multiplicar, liberando em troca substâncias como ácidos, álcool e outras. O resultado da fermentação é a produção de um grupo de alimentos chamados de produtos fermentados. Entre os produtos fermentados mais conhecidos temos o iogurte, o queijo, o vinho, a cerveja e até mesmo o pão. Na natureza, existem vários tipos de fermentação, sendo as mais importantes para a população a fermentação alcoólica, a fermentação láctica e a fermentação acética (BARROS & BARROS, 2010).

A fermentação alcoólica é um processo de liberação de energia que ocorre sem a participação do oxigênio (processo anaeróbico). A fermentação compreende um conjunto de reações enzimaticamente controladas, através das quais uma molécula orgânica é degradada em compostos mais simples, liberando energia. A glicose é uma das substâncias mais empregadas pelos microrganismos como ponto de partida na fermentação (SOBIOLOGIA, 2015).

Fermentação alcoólica é a transformação de açúcares em álcool etílico e CO_2 pela ação de um determinado grupo de organismos unicelulares denominados leveduras. Os mais importantes e usados na produção do etanol são os do gênero *Saccharomyces*. Esses organismos são desenvolvidos para propiciar fermentação uniforme, rápida e com alto rendimento em etanol (SILVA et al., 2015).

Diversos estudos relatam o processo fermentativo. No entanto foi Lavoisier o pioneiro a demonstrar que o açúcar se transforma em álcool e em CO_2 . Baseado nestes estudos, surgiu o primeiro princípio “Nada se perde, tudo se transforma”. Sobre a fermentação disse também: “é uma das operações mais surpreendentes e mais

extraordinárias de todas as que a microbiologia nos apresenta”. O esquema abaixo representa a estequiometria da fermentação segundo Gay-Lussac:

Açúcar → Álcool + Gás Carbônico

100g 51,34g 48,66g

Na realidade, o fenômeno é mais complexo, como todas as reações das células vivas. Pasteur estabeleceu que a equação de Gay-Lussac é apenas válida para 90% do açúcar transformado, sendo os outros 10% transformados em glicerina, ácido succínico e ácido acético. Descobriram-se outros produtos secundários, como por exemplo, ácido láctico, acetaldeídos, ácido pirúvico, alcoóis superiores e um grande número de substâncias presentes em menores quantidades (SCARTAZZINI, 2001). De forma global, pode-se representar a fermentação alcoólica pela equação de Gay-Lussac, na qual se observa que 1mol de glicose produz 2mols de etanol, 2mols de dióxido de carbono e 57kcal de energia (LEHNINGER et. al., 1995; KOLB, 2002), segundo a fórmula:



A eficiência do processo fermentativo é dada em função direta da manutenção das células ativas dispersas no mosto em contato com o substrato. A remoção precoce das células devido à floculação provoca redução do rendimento e aumenta o tempo de fermentação, com perdas econômicas significativas. Mas, se a floculação ocorrer num ponto desejável na fermentação, atuará eficientemente na remoção das células do mosto, contribuindo na diminuição do custo do processo e aumentando sua produtividade (PASCHOALINI & ALCARDE, 2009). O processo de fermentação ocorre, por meio de linhagens selecionadas de leveduras *Sacchomyces cereviseae* (Cantaduva-1, Pedra-2, Santa Adélia, Barra Grande, Fleischman e FT-858), o caldo é esterilizado e purificado. O álcool produzido é, então, separado da água por destilação (BUCKERIDGE et al., 2010).

Para estabelecer condições favoráveis para as leveduras no processo de fermentação é necessário manter uma condição de temperatura adequada, pois esta etapa é essencial para o processo fermentativo. Segundo DIAS (2008), as leveduras são capazes de executar eficientemente a fermentação alcoólica entre 28°C a 35°C.

A temperatura está entre as condições que mais afetam a atividade dos microrganismos, influenciando no crescimento e capacidade fermentativa, devido a formações de novos compostos, alterando o meio fermentativo, como aumento da presença de substância ácida, sólidos solúveis e concentração de etanol (NAVES et al., 2010). As fermentações conduzidas a temperaturas mais baixas podem levar a uma maior resistência da levedura ao teor de etanol final e também uma menor geração de subprodutos do metabolismo celular devido ao menor estresse ao qual as células são submetidas (CRUZ et al., 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as condições químicas do mosto a base de caldo de cana, bem como analisar os parâmetros fermentativos de linhagens de leveduras industriais com potencial para a produção de etanol.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Análise química do caldo.
2. Avaliar a capacidade fermentativa de linhagens de leveduras Catanduva-1 e FT-858 durante o processo fermentativo em diferentes concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) e temperatura de 30° e 40°C.
3. Analisar os parâmetros fermentativos: biomassa, viabilidade celular e etanol.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PREPARO DO CALDO

O mosto foi coletado na usina em frasco esterilizado e transportado a baixa temperatura de 4°C e levado ao laboratório para realização das análises experimentais. No preparo o mosto foi filtrado em algodão para tirar as impurezas maiores, e posteriormente filtrado em papel filtro. Para acertar a concentração de graus Brix, foi utilizada a sacarose para concentrar o mosto, e para diluir água destilada, com auxílio de um sacarímetro para acertar as concentrações de graus Brix.

4.2 ANÁLISE QUÍMICA DO CALDO

Na avaliação química do caldo foi utilizado uma proveta para retirar um volume de 30mL do caldo, que foi adicionado em um Becker e foram analisados os parâmetros pH utilizando um pHmetro de bancada (Hanna) e a condutividade por um condutivímetro (Lucadema), antes e após o processo fermentativo.

4.3 MICRORGANISMOS UTILIZADOS

As linhagens de leveduras industriais utilizadas neste estudo foram Catanduva-1 (Cat-1) e FT-858. Linhagens que se encontram disponíveis no Laboratório do Centro de Pesquisa de Biodiversidade (CPBio), da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul – UEMS, unidade de Dourados.

4.4 PRÉ-INÓCULO

No preparo do pré-inóculo, foi utilizado o meio de sólido YPD e esterilizados em autoclave a 120°C por 20 min. Os microrganismos foram multiplicados a partir de amostra liofilizadas, linhagens puras foram diluídas em solução salina de 0,85%, e 0,1mL foram plaqueadas em meio YPD e incubadas por 72 horas a 30°C.

4.5 FERMENTAÇÃO

Os ensaios de fermentação foram realizados em mosto a base de caldo de cana esterilizados e em diferentes concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) sem correção do pH, em frascos de erlenmeyers de 125mL, contendo 50mL do mosto e incubados nas

temperaturas de 30°C e 40°C, com agitação. Em tempos determinados da fermentação (20, 40 e 60, horas), alíquotas foram retiradas para análises dos parâmetros fermentativos: biomassa, viabilidade e etanol.

4.6 PARÂMETROS FERMENTATIVOS

4.6.1 Produção de Biomassa

As análises da produção de biomassa foram realizadas em espectrofotômetro a 570nm (Biospectro) de uma suspensão de células com diluições conhecidas e relacionadas com a massa celular, na seguinte equação:

$$[\text{célula}](\text{mg/mL}) = A_{570} \times \text{diluição} \times f$$

Onde f é o fator de conversão de absorvância em massa seca, para a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é 0,6711. As leituras foram realizadas em tempos determinados através de absorvância e massa seca de suspensões celulares, em diferentes concentrações.

4.6.2 Viabilidade Celular

Na determinação da viabilidade celular, 10µL das amostras foram transferidos para 0,9mL da solução padrão de azul de metileno (0,025g de azul de metileno; 0,09g NaCl; 0,042g KCl; 0,048g CaCl₂.6H₂O; 0,02g NaHCO₃, para 100mL de solução aquosa) e agitados. Após 10 minutos, tempo necessário para que as células absorvam o corante, foi realizada à contagem com o auxílio do microscópio óptico (Taimin) em câmara de Neubauer. As células viáveis apresentaram-se incolores, e as não viáveis, coloridas. Através do método de coloração azul de metileno (LEE et al., 1981).

4.6.3 Concentração de Etanol

A concentração do etanol foi determinada em cromatógrafo a gás CG 3900 com detector de ionização de chama (Varian), utilizando uma coluna capilar de sílica fundida de 30m de comprimento (ZB-5). A condição cromatográfica empregada foi volume de injeção 1µL, razão de split 1:20 e temperatura do forno de 90°C. As temperaturas do injetor e do detector foram de 240°C. As amostras foram filtradas em ultrafiltro de 0,22µm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE QUÍMICA DO MOSTO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO SUBSTRATO E TEMPERATURA

Nas análises de pH e condutividade, observou-se que ocorreu uma diferença das variáveis antes e após a fermentação em relação as linhagens analisadas, como apresenta no quadro 1. Na concentração de 18° Brix o mosto inicial sem a adição das leveduras apresentava o valor de pH de 5,38 que ao final da fermentação foi de 4,07 para a linhagem Cat-1 em 60 horas, sendo o menor valor de pH analisado na temperatura de 30°C. Na concentração de 22° Brix o mosto variou de 4,96 para um valor no final do processo de 4,11 para a linhagem Cat-1 e 4,37 para a levedura FT-858. Na concentração de 25° Brix o mosto inicial era de 4,82 e passou a ser de 4,22 da linhagem Cat-1 e 4,41 para a levedura FT-858. Os parâmetros analisados na temperatura de 40°C, ocorreu um aumento na acidez do mosto apresentando uma queda no valor de pH. Na concentração de 18° Brix ocorreu o menor valor de pH, para linhagem Cat-1, sendo que o pH inicial do mosto era de 5,01, podemos observar que após as 60 horas de fermentação o mesmo foi para 3,80. No entanto na concentração de 22° Brix o pH do mosto era de 4,89, passando para um valor final 4,52 para a linhagem Cat-1 e de 4,40 para a levedura FT-858. E na concentração de 25° Brix o mosto variou de pH 4,88 para um valor de pH de 4,17 em 60 horas da linhagem de levedura Cat-1 e da linhagem de levedura FT-858 para 4,24.

No estudo de análise de condutividade ocorreu alteração em relação aos íons presentes nas concentrações analisadas entre as linhagens. Na concentração de 18° Brix o valor da linhagem Cat-1 foi a que obteve uma maior variação íons na temperatura de 30°C, passou de uma condutividade 2,32mS/cm para 4,54mS/cm. Nas concentrações de 22° e 25° Brix a levedura FT-858 apresentou uma elevação de condutividade maior que a levedura Cat-1. Na temperatura de 40°C, como podemos observar o maior valor de condutividade foi da linhagem FT-858 de 4,85mS/cm na concentração de 25° Brix. Nas concentrações de 18° e 25° Brix a linhagem de levedura FT-858 apresentou valores maiores. Já em concentração de 22° Brix a linhagem de levedura Cat-1 obteve o valor de condutividade maior, como mostra a quadro 1.

Para as leveduras o ponto ótimo de acidez, representada pelo pH, é o valor mediano da variação em que o crescimento é possível, no que difere da temperatura

como fator de estresse. Diferentes espécies são adaptadas a diferentes valores de pH. Essas variações podem ocorrer entre diferentes linhagens de uma mesma espécie (CCOPA & CALARGE, 2013). Estudos realizados com caldo de cana mostraram que o pH sofre variações devido à variedade de cana-de-açúcar e normalmente o valor médio é em torno 5,00 a 5,50 (MOLINA et al., 2008) como apresentado nesse estudo. Porém, sabe-se valores muito baixos de pH, além de ocasionarem perda de nutrientes como nitrogênio e potássio, aumentam a sensibilidade ao etanol, aos ácidos orgânicos e ao SO₂ (REIS & RIBEIROS, 2009).

Em uma solução de um não-eletrólito, não há dissociação, as moléculas de soluto mantêm sua identidade sem se romperem. Os açúcares estão dissolvidos, porém não possui carga, de tal forma que quando são inseridos eletrodos positivo e negativo na solução, as moléculas de açúcar não se movimentam. Em consequência disso não há condutividade elétrica. Entretanto, as variações de ácidos, bases e sais que compõem na solução do mosto, vão determinar a condutividade com o aumento do transporte total de cargas negativas e positivas, possibilitando um aumento da passagem de corrente elétrica, durante a fermentação (MORA et al., 2006). A condutividade molar varia com a concentração do eletrólito. Entre as principais razões para este efeito estão a variação no número ou na mobilidade dos íons presentes. O primeiro caso acontece em eletrólitos fracos, onde a dissociação dos íons em solução não é completa. O segundo caso ocorre com eletrólitos fortes, cuja dissociação da molécula em seus íons em solução é total, ocasionando uma interação muito forte entre os íons de carga oposta, que pode reduzir sua mobilidade em solução (DALMOLIN, 2014).

Estudos realizados por Costa et al. (2001), relatam que a vinhaça como solução nutritiva para o plantio hidropônico de alface e rúcula, apresentaram uma condutividade da solução nutritiva na faixa que corresponde 1,50 a 3,50mS/cm, que corresponde de 1000 a 1500ppm de concentração total de íons na solução. A condutividade também fornece uma boa indicação das modificações na composição de uma solução, especialmente na sua concentração mineral, mas não fornece indicação das quantidades relativas dos vários componentes. À medida que mais sólidos dissolvidos são adicionados, a condutividade aumenta (PINTO & GODOY, 2006).

Quadro 1 – Avaliação do pH e condutividade das linhagens Cat-1 e FT-858 cultivadas em mosto nas concentrações de graus Brix 18, 22 e 25 nas temperaturas de 30 e 40°C, nos tempos de 0 e 60 horas.

Temperatura °C	Concentrações graus Brix	Condições de cultivos (horas)	Condutividade (mS/cm)	pH
30°C	18°	0	2,32	5,38
		Cat-1 (60 horas)	4,54	4,07
		FT-858 (60 horas)	3,31	4,48
	22°	0	2,30	4,96
		Cat-1 (60 horas)	2,80	4,11
		FT-858 (60 horas)	3,03	4,37
	25°	0	2,35	4,82
		Cat-1 (60 horas)	2,70	4,22
		FT-858 (60 horas)	2,82	4,41
40°C	18°	0	2,35	5,01
		Cat-1 (60 horas)	2,96	3,80
		FT-858 (60 horas)	3,54	3,95
	22°	0	2,29	4,89
		Cat-1 (60 horas)	3,39	4,52
		FT-858 (60 horas)	2,95	4,40
	25°	0	2,35	4,88
		Cat-1 (60 horas)	3,98	4,17
		FT-858 (60 horas)	4,85	4,24

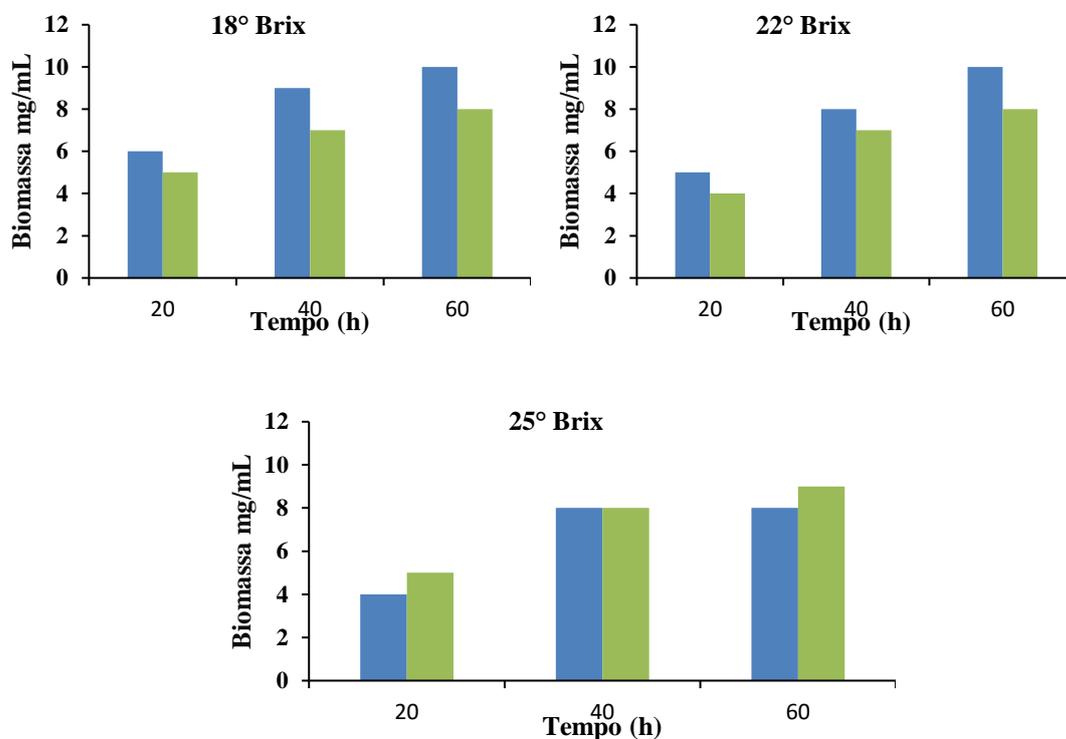
5.2 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS DE LEVEDURAS INDUSTRIAIS CULTIVADAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GRAUS BRIX NA TEMPERATURA DE 30°C

Na análise dos parâmetros fermentativos nas diferentes concentrações do substrato na temperatura de 30°C, as linhagens Cat-1 e FT-858 apresentaram diferenças para a produção de biomassa nas condições analisadas. A produção de biomassa da levedura Cat-1 ocorreu de forma gradativa para todas as concentrações avaliadas, no entanto podemos observar que nas concentrações de 18° e 22° Brix em 60 horas de fermentação ocorreu a maior produção de 10,0mg/mL. Em 25° Brix, nos tempos de 20 e 40 horas de fermentação a biomassa apresentou-se menor concentração, é possível que Cat-1 tenha sofrido a ação do estresse osmótico em função da concentração do substrato e o tempo de fermentação. Estudo realizados por Moreira et al (2015) utilizando diferentes linhagens industriais, a maior produção de biomassa, em diferentes concentrações Brix, ocorreu na concentração de 15° Brix na temperatura de 30°C para todas as linhagens analisadas.

A levedura FT-858 apresentou um perfil de produção de biomassa em relação ao substrato e tempo de fermentação semelhante a levedura Cat-1 nas menores concentrações de Brix, no entanto podemos observar que em 25° Brix a levedura FT-858 apresentou a maior produção de biomassa de 9,0mg/mL em 60 horas de fermentação, como descrito na figura 1.

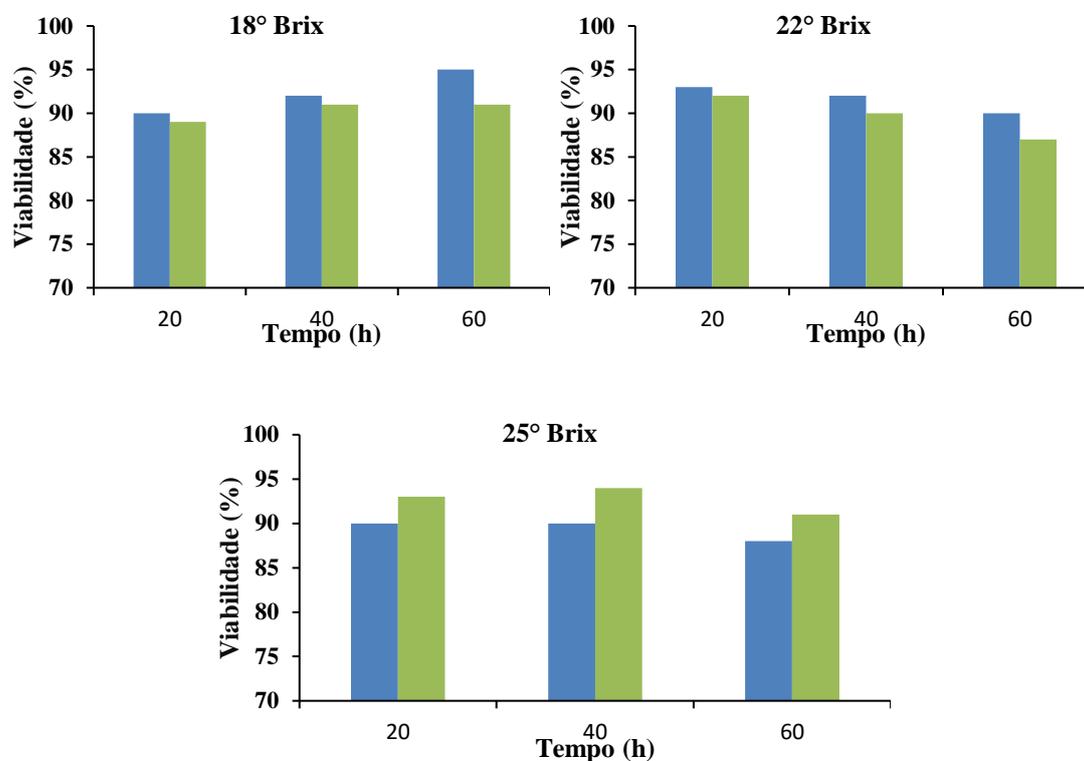
Ao compararmos a produção de biomassa das linhagens avaliadas em relação as condições de cultivos utilizadas, podemos observar que ocorreu pequenas alteração no perfil de produção de biomassa nas condições analisadas.

Figura 1- Análise de produção de biomassa de linhagens industriais Cat-1 ■ e FT-858 ■. Cultivadas nas concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) na temperatura de 30°C por diferentes tempos de fermentação.



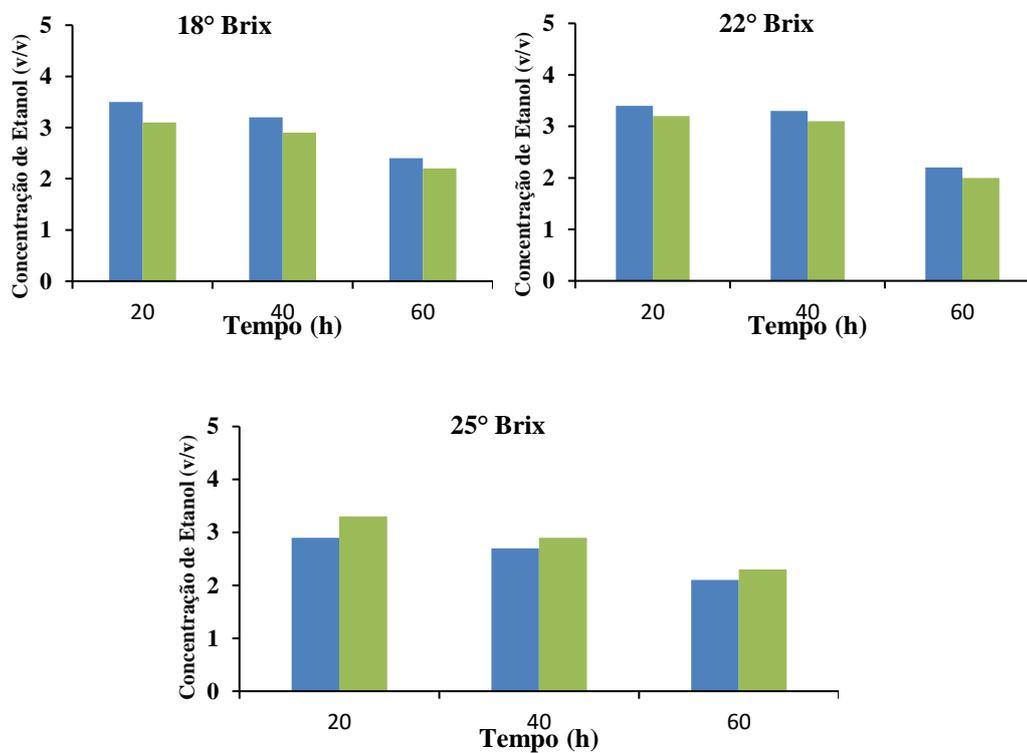
Para a determinação da viabilidade celular na temperatura de 30°C, a levedura Cat-1 no Brix de 18° obteve maior viabilidade de 95,0% em 60 horas de fermentação. E podemos observar que nas concentrações de 22° e 25° Brix ocorreram queda gradativa em todos os tempos analisados (Figura 2). A levedura FT-858 apresentou um crescimento maior na concentração de 25° Brix, atingindo a maior viabilidade celular de 94,0% no tempo de 40 horas. E na concentração de 22° Brix obteve a de menor eficiência com o valor de taxa de viabilidade celular de 87,0% em 60 horas, como apresentada na figura 2.

Figura 2- Análise de taxa de viabilidade celular de linhagens industriais de Cat-1 ■ e FT-858 ■. Cultivadas nas concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) na temperatura de 30°C por diferentes tempos de fermentação.



Na análise da concentração de etanol, a levedura Cat-1 apresentou uma maior produção de etanol nas concentrações de 18 e 22 graus Brix, onde na concentração de 18° Brix produziu a maior concentração de etanol de 3,5(v/v) em 20 horas, e na concentração de 25° Brix apresentou menor capacidade de produção, apresentando a menor concentração de etanol de 2,1(v/v) em 60 horas. A linhagem industrial FT-858 foi superior a levedura Cat-1 na concentração de 25° Brix, produzindo sua maior concentração de 3,3(v/v) no tempo de 20 horas, talvez esta linhagem apresenta alta eficiência fermentativa em alta concentração de substrato e em tempo mas prolongando de fermentação, isto pode estar relacionado com a sua robustez fermentativa como mostra a figura 3.

Figura 3-Análise de concentração de etanol de linhagens industriais Cat-1 ■ e FT-858 ■. Cultivadas nas concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) na temperatura de 30°C por diferentes tempos de fermentação.

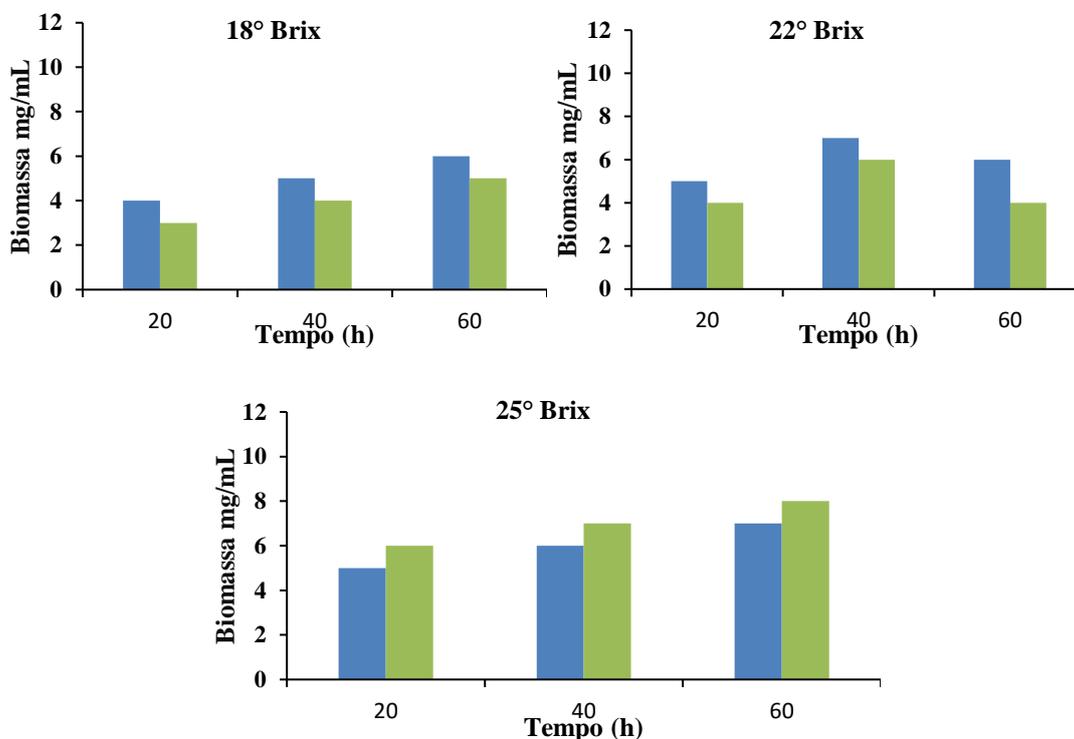


Altas concentrações de açúcares propiciam o estresse celular induzindo o aumento da osmolaridade externa levando à perda de crescimento e a taxa de viabilidade celular das células, por causar alterações no gradiente osmótico através da membrana plasmática. Isto acarreta, em perdas de volume das células que se contraem por causa de diferenças da pressão osmótica entre o meio intracelular e extracelular (SOUZA, 2009). Fatores como pH, temperatura, concentração de sacarose e álcool, concentração de biomassa, viabilidade celular dentre outros, influenciam na produtividade do sistema, requerendo assim, maior controle sobre o processo (PACHECO, 2010). O controle da temperatura do processo fermentativo representa um aspecto importante quanto à produção de etanol, pois a fermentação alcoólica é um processo exotérmico e, quando realizada em regiões de altas temperaturas médias anuais, a temperatura do mosto em fermentação tende a aumentar, ultrapassando assim faixa ideal (25°C a 32°C) para que seja favorável ao metabolismo fermentativo das leveduras (CARDOSO, 2006).

5.3 Avaliação dos parâmetros fermentativos de leveduras industriais cultivadas em diferentes concentrações de graus Brix na temperatura de 40°C.

Na análise dos parâmetros fermentativos na temperatura de 40°C em diferentes concentrações do substrato, a levedura Cat-1 apresentou um aumento gradativo da produção de biomassa nas concentrações de 18° e 25° Brix e sua maior produção de biomassa ocorreu em 25° Brix de 7,0mg/mL em 60 horas. Podemos observar que a melhor produção de biomassa foi da linhagem FT-858 com 8,0mg/mL na concentração de 25° Brix em 60 horas de fermentação, na concentração de 18° Brix foi onde apresentou a menor produção de biomassa de 3,0mg/mL em 20 horas. Na concentração de 25° Brix a linhagem de levedura FT-858 foi superior na produção de biomassa que a linhagem Cat-1, como mostra a figura 4.

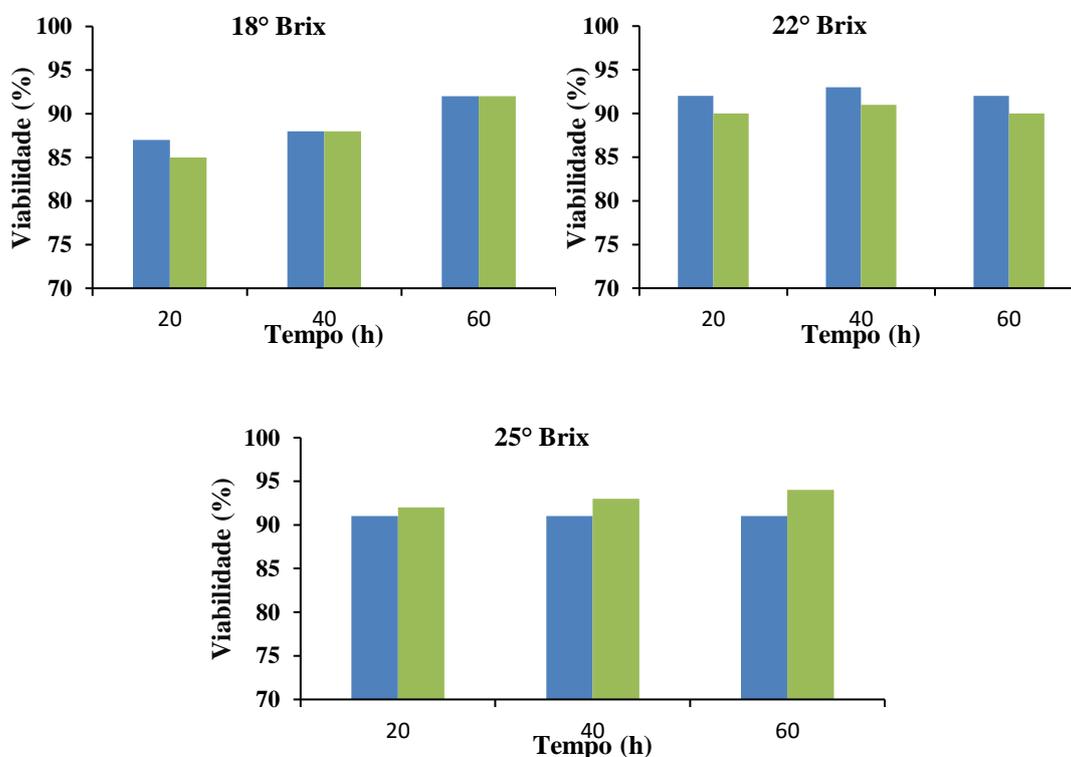
Figura 4- Análise de produção de biomassa de linhagens industriais Cat-1 ■ e FT-858 ■. Cultivadas nas concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) na temperatura de 40°C por diferentes tempos de fermentação.



Na análise da taxa de viabilidade celular, as linhagens de leveduras industriais se apresentaram muito próximas as viabilidades, nas diferentes concentrações de substrato.

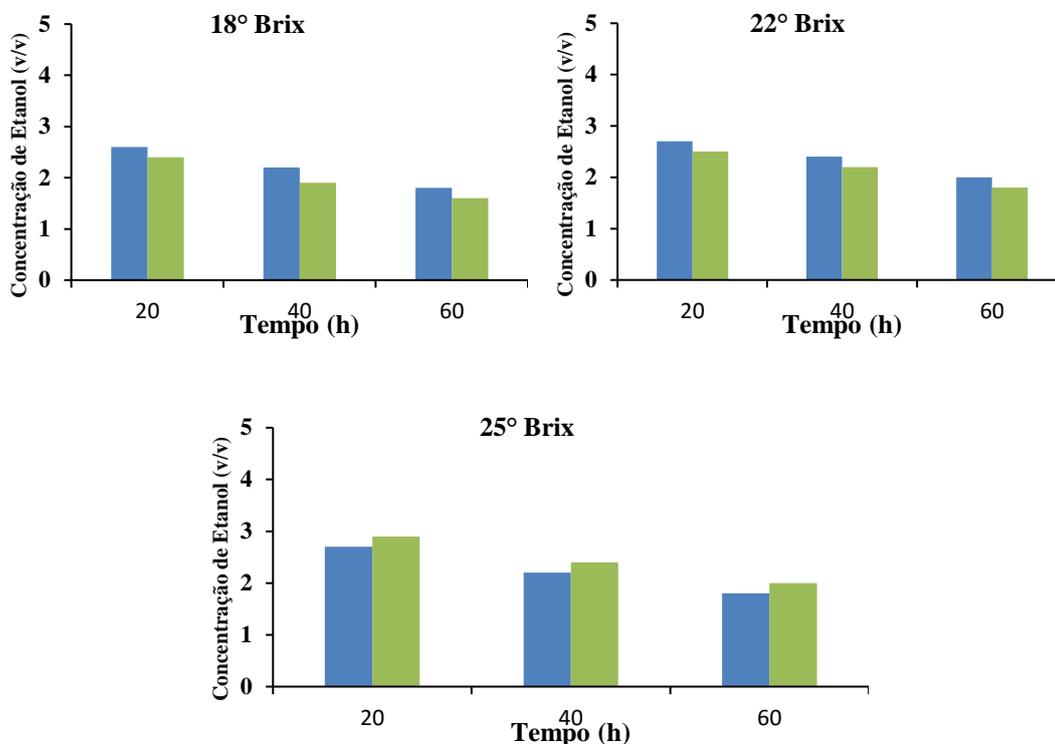
Podemos observar que esta semelhança ocorreu na concentração de 18° Brix nos tempos de 40 e 60 horas. A viabilidade para a levedura Cat-1 na concentração de 22° Brix foi a maior de 93,0% no tempo de 40 horas de fermentação. A levedura FT-858 apresentou sua maior viabilidade em na concentração de 25° Brix, com a maior produção de viabilidade celular de 94,0% em 60 horas. Na concentração de 18° Brix não houve perda na taxa de viabilidade celular para ambas as linhagens analisadas, como mostradas na figura 5.

Figura 5- Análise de taxa de viabilidade celular de linhagens industriais Cat-1 ■ e FT-858 ■. Cultivadas nas concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) na temperatura de 40°C por diferentes tempos de fermentação.



Os estudos realizados nas concentrações de 18° e 22° Brix a linhagem Cat-1 apresentou produção maiores de etanol em relação a que a levedura FT-858, sendo a levedura FT-858 apresentou em 18° Brix a menor produção de concentração de etanol de 1,6(v/v) no final da fermentação. Na concentração de 25° Brix, a levedura FT-858 indicou a maior concentração de etanol de 2,9(v/v) em 20 horas e se mantendo próximo de 2,0(v/v) nos demais tempos analisadas, mostrando ser mais eficiente que a linhagem Cat-1 nas condições analisadas, como descrito na figura 6.

Figura 6-Análise de concentração de etanol de linhagens industriais Cat-1 ■ e FT-858 ■. Cultivadas nas concentrações de graus Brix (18, 22 e 25) na temperatura de 40°C por diferentes tempos de fermentação.



A temperatura afeta diretamente a ecologia microbiana e as reações bioquímicas da levedura, exercendo efeito em todos os aspectos do crescimento, viabilidade e fermentação das leveduras. A escolha da temperatura de operação na fermentação alcoólica é influenciada tanto por fatores fisiológicos quanto físicos, tais como a perda do etanol por evaporação e a grande formação de espumas a temperaturas elevadas (SOUZA, 2009).

Diversos fatores físicos, químicos e microbiológicos, afetam o rendimento da fermentação e a eficiência da conversão de açúcar em etanol. Durante a fermentação, a levedura pode se expor a vários fatores estressantes, e dentre esses fatores, os mais frequentemente mencionados são os altos teores alcoólicos, a temperatura elevada, acidez do meio, a presença de sulfitos e a contaminação bacteriana e com leveduras não *Saccharomyces* (PACHECO, 2010).

As altas variações da temperatura durante os processos fermentativos produzem uma forte diminuição da viabilidade celular, bem como altas concentrações de etanol no meio afetando diretamente as células de leveduras. O controle da viabilidade é sem

dúvida um aspecto importante no controle da fermentação alcoólica, e quanto maior esse número melhor será o desempenho do processo (STECKELBERG, 2001).

6 CONCLUSÕES

Nas avaliações do mosto, em relação ao pH e condutividade, antes da fermentação o pH variou de 5,38 a 3,80, e a condutividade entre 2,29 a 4,85mS/cm. Após a fermentação ocorreu variação, sendo que na temperatura de 40°C em 25° Brix foi que obteve a maior dispersão dos íons no mosto.

O melhor desempenho para a produção de etanol ocorreu a 30°C em 20 horas de fermentação para ambas as linhagens industriais.

Como a Cat-1 utiliza menor concentrações de açúcares do que a FT-858, então tem maior capacidade de conversão a etanol em relação a FT-858.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANOMI, A.; FELIPE, M. G. A. **Bioetanol de Cana-de-açúcar**. 1ª edição- Editora Edgar Blucher LTDA. p. 543, 2010.

BARROS, A. A.; BARROS, E. B. P. A química dos alimentos: produtos fermentados e corantes. São Paulo: **Sociedade Brasileira de Química, Coleção Química no Cotidiano**, v. 4, p. 88, 2010.

BIOSUL- **Associação dos Produtores de Bioenergia de Mato Grosso do Sul**. Disponível em: <http://www.biosulms.com.br/bioenergia/etanol2015>. Acesso em: 18 mar. 2015.

BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, W. D.; SOUZA, A. P. As Rotas Para o Etanol Celulósico no Brasil In: **Bioetanol para Cana-de-açúcar, P & D para Produtividade e Sustentabilidades**. São Paulo/ SP, p. 365, 2010.

CALDAS, C. S.; SANTOS, F. **Cana-de-açúcar: Bioenergia, Açúcar e Etanol: Tecnologia e Perspectivas**. 2ª edição- Viçosa, MG: p. 379, 2011.

CÂNDIDO, L. A. **Treinamento Fermentação /Destilação**. Alvorada do Bebedouro S.A - Açúcar e Álcool, 2012.

CARDOSO, M. G. **Produção de Aguardente de Cana**. 2ª edição. Lavras: Editora UFLA, Minas Gerais, p. 445, 2006.

CCOPA, L. A.; CALARGE, F. A. Aplicação do Togaf Auxiliando a Integração de Sistemas de Gestão Integrados. **Revista Sodebras**, v.8, p.12- 15, 2013.

CONAB- Companhia Nacional De Abastecimento. **Acompanhamento de Safra Brasileira: Cana-de-açúcar**. Terceiro levantamento, Brasília, 2014.

COSTA, P. C.; DIDONE, E. B.; SESSO, P. M.; CAÑIZARES, K. A. L.; GOTO, R. Condutividade Elétrica Da Solução Nutritiva e Produção de Alface em Hidropônica. **Scientia Agricola**, v. 58, p. 595-597, 2001.

CRUZ, M. L.; RAMINHO, M. L. F.; CASTRO, A. L. M.; GUIDINI, C. Z.; RESENDE M. M.; RIBEIRO, E. J. **Estudo da Influência da Temperatura na Resistência ao**

Etanol da Levedura *Saccharomyces cerevisiae* Y904. XX Congresso Brasileiro De Engenharia Química. Florianópolis, SC, 2014.

DALMOLIN, C. **Físico-Química Experimental- Condutividade Elétrica.** Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC Centro de Ciências Tecnológicas – CCT Departamento de Química, cap. 07, 2014.

DIAS, M. O. S. **Simulação do Processo de Produção de Etanol a Partir do Açúcar e do Bagaço, Visando a Integração do Processo e a Maximização da Produção de Energia e Excedentes do Bagaço.** (Dissertação de Mestrado) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. p.282, 2008.

DOMINGUES, A. T; THOMAZ, A. J. A territorialização da cana-de-açúcar no Mato Grosso do Sul. **Caderno Prudentino de Geografia.** v.1, p.138-160, 2012.

FAOSTAT. Agricultura Data. **Faostat Database Results.** Disponível em: <http://faostat.fao.org>. Acesso em: 17 fev. 2008.

FELIPE, M. G. S. **Bioetanol de Cana-de-açúcar.** 1ª edição- Editora Edgar Blucher LTDA. p. 545, 2010.

KOLB, E. **Vinos de Frutas – Elaboración Artesanal e Industrial.** Zaragoza/ Espanha, Ed. Acribia, p. 232, 2002.

LEE, S. S.; ROBINSON, F. M.; WANG, H. Y. Rapid determination of yeast viability. **Biotechnology Bioengineering Symposium,** v.11, p.641-649, 1981.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D.L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica.** Traduzido por SIMÕES, A. A.; LODE, W.R.N. São Paulo: Ed. SARVIER, 2ª edição Tradução de: Principles of Biochemistry, 1995.

LEITE, R. C.; CORTEZ, L. A. B. **O Etanol Combustível no Brasil.** Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/etanol3_000g7gq2cz702wx5ok0wtedt3xdrmfk.pdf. Acesso em: 18 mar. 2015.

MAPA- Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento. **Diretrizes de Política de Agroenergia.** Disponível

em: http://www.biodiesel.gov.br/docs/diretrizesdepoliticadenegocioagroenergia14anovvers_03.pdf. >. Acesso em: 10 fev. 2009.

MOLINA, G.; SUZART, C. A. G.; BERGARA, S.; QUEIROZ, T.; DAISUKE, M.; MORETTI, R. H. **Caracterização de Cultivares de Cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) Para a Produção de Caldo de Cana: Rendimento de Caldo e Valor De Brix.** XXI Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos. Belo Horizonte, MG p. 05, 2008.

MORA, D. N.; SIHVENGER, J. C.; LUCAS, J. F. R. **Apostila de Química Geral.** Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Foz do Iguaçu Centro de Engenharias e Ciências Exatas LAMAT - laboratório de materiais, cap.6, 2006.

MOREIRA, C. S.; SANTOS, M. S. M.; BARROS, N. S.; CARDOSO, C. A. L.; BATISTOTE, M. Análise Dos Parâmetros Morfofisiológicos de Linhagens de Leveduras Industriais Com Potencial Biotecnológico Para a Produção De Etanol- **Ciência e Natura**, Santa Maria/ RS, v. 37, p. 55-63, 2015

NAVES, R. F.; FERNANDES, F. S.; PINTO, O. G.; NAVES, P. L. F. Contaminação microbiana nas etapas de processamento e sua influência no rendimento fermentativo em usina alcooleira. **Enciclopédia Biosfera: Centro Científico**, v. 6, p.1-16, 2010.

OLIVEIRA, J. C. P. T.; PADILHA, A. F. Caracterização micro estrutural dos alumínios comerciais AA1100, AA1050 e AA1070 e do alumínio superpuro AA1199. **Rem: Revista Escola de Minas**, v. 62, p. 373, 2009.

PACHECO, T. F. **Fermentação Alcólica com Levedura de Características Floculantes em Reator Tipo Torre com Escoamento Ascendente.** Programação de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de Uberlândia, MG, p. 12, 2010.

PASCHOALINI, G; ALCARDE, V. E. Estudo do Processo Fermentativo de Usina Sucroalcooleira e Proposta para sua Otimização. Universidade Metodista de Piracicaba. **Revista de Ciência & Tecnologia**, v.16, p. 59-68, 2009.

PINTO, B. V.; GODOY, J. M. O. **Características Químicas e Físico-Químicas de Águas Subterrâneas do Estado do Rio de Janeiro**. PUC-Rio/ Departamento de Química, cap. 06, 2006.

PINTO, M. C. F. **Manual Medição in loco: Temperatura, pH, Condutividade Elétrica e Oxigênio Dissolvido**. CPRM, Serviço Geológico do Brasil, Belo Horizonte, MG, p. 16, 2007.

REIS, H. B.; RIBEIROS, E. J. **Influência Conjunta do pH, Temperatura e Concentração de Sulfito em Fermentação Alcoólica de Mostos de Sacarose**. IX Encontro Interno e XIII Seminário de Iniciação Científica, UFU- Universidade Federal de Uberlândia, MG, 2009.

RIBEIRO, F. A. M. **Fermentação Alcoólica**. Apostila do Modulo II - Processamento na Indústria Sucroalcooleira da FAZU. Uberaba, MG, 2010.

SANTOS, E. F. S.; SCHAUTZ, L. C. A.; CARDOSO, A. L.; ERNANDES, J. R.; BASTITOTE, M. O Efeito da Complexidade Estrutural da Fonte de Carbono e Nitrogênio no Desempenho Fermentativo de Leveduras Industriais- **Ciência e Natura**, v. 35, p. 09-14, 2013.

SCARTAZZINI, L. S. **Utilização do Biorreator *Airlift* na Pré-Fermentação do Mosto de Uva**. Universidade Federal De Santa Catarina, Centro Tecnológico Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química/ Florianópolis/SC, 2001.

SILVA, J. S.; JESUS, J. C.; COUTO, S. M. **Noções Sobre Fermentação e Produção de Álcool na Fazenda**; Cap 01. p. 18. Disponível em: <ftp://www.ufv.br/Dea/poscolheita/Produ%E7%E3o%20de%20%C1lcool%20Combust%EDvel%20na%20Fazenda%20e%20em%20Sistema%20Cooperativo/Cap%EDtulo%201.pdf>. Acesso em: 04/2015.

SOBIOLOGIA- Fermentação: Liberação de Energia Através da Fermentação.
Disponível em: <http://www.sobiologia.com.br/conteudos/bioquimica/bioquimica3.php>.
Acesso em: 03/2015.

SOUZA, C. S. Avaliação da Produção de Etanol em Temperaturas Elevadas por uma Linhagem de *S. cerevisiae*. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia (USP), Instituto Butantan (IPT), São Paulo, SP, 2009.

SOUZA, I. G. & JOST, C. L. Estudo Dirigido Condutimetria. Química Analítica Instrumental. UFSC- Universidade Federal de Santa Catarina, Lab. Química Analítica, 2013.

STECKELBERG, C. Caracterização de Leveduras de Processos de Fermentação Alcoólica Utilizando Atributos de Decomposição Celular e Características Cinéticas. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, p. 215, 2001.

VASCONCELOS, J. N. Cana-de-Açúcar: Bioenergia, Açúcar e Etanol: Tecnologia e Perspectivas. - 2ª Edição.- Viçosa, MG, p. 451-464, 2011.

ZULIM, C.; FERREIRA, F.; ROCHA, J. S.; BUDEL, L. Fermentação de Pães. FAMESP- Faculdade Método de São Paulo, curso de Gastronomia, SP, 2014.

NAMIR MEDEIROS DE OLIVEIRA

**LEVEDURAS INDUSTRIAIS: ANÁLISE DO SUBSTRATO
E CONDIÇÕES FERMENTATIVAS**

*Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado como parte da exigência para
obtenção do título de Bacharel em Química
Industrial pela Universidade Estadual de
Mato Grosso do Sul sob orientação da
Profa. Dra. Margareth Batistote*

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Cinthia Aparecida de Andrade Silva (UFGD)

Profa. Dra. Emília Maria Silva (UEMS)

**Profa. Dra. Margareth Batistote (UEMS)
Orientadora**

DOURADOS – MS

04 de agosto de 2016