



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR  
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL  
SEMPRESENCIAL

**MÉTODOS DE CONTROLE MICROBIOLÓGICO EM PROCESSOS DE  
FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA: UM ESTUDO DE REVISÃO**

Eduardo Ramos Antunes Coelho, [eduardo.coelho@edu.unipar.br](mailto:eduardo.coelho@edu.unipar.br)  
Camila Pereira Giroto, [camilagiroto@prof.unipar.br](mailto:camilagiroto@prof.unipar.br)

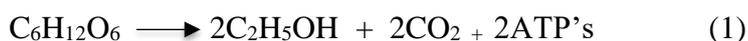
**Resumo:** As indústrias sucroalcooleiras têm como preocupação o controle de bactérias contaminantes da fermentação, responsáveis por afetar a viabilidade da levedura, provocando diversos transtornos no processo, comprometendo a eficiência fermentativa e o rendimento industrial. Diante desse cenário, este trabalho teve por objetivo avaliar diferentes métodos de controle microbiológico desses invasores, a fim de determinar a existência ou não de algum método que possa se sobressair sobre os mais aplicados no meio industrial. Na busca pelos trabalhos foram encontrados diferentes métodos como extratos naturais, agentes químicos e antibióticos. Dentre estes, o que mais se destacou nas pesquisas encontradas foi o extrato de lúpulo, pois apresentou elevada eficiência na eliminação dos micro-organismos invasores, é sustentável e permite a reutilização do fermento.

**Palavras-chave:** Etanol, Lactobacillus, Leveduras, Micro-organismos Invasores, Extrato de Lúpulo.

## 1. INTRODUÇÃO

A fermentação consiste em um processo bioquímico realizado por alguns organismos para a obtenção de energia na ausência de oxigênio, ou seja, um processo anaeróbio. A fermentação é muito aplicada na produção de alimentos e medicamentos e já era utilizada pelos egípcios há 3.000 anos a.C., mas as primeiras evidências sólidas da natureza viva das leveduras apareceram entre 1837 e 1838 com três publicações de autores diferentes: C. Cagniard de la Tour, Swann T., e Kuetzing F. Entre os anos de 1850 e 1860, Louis Pasteur mostrou por uma série de investigações que a fermentação é iniciada por organismos vivos (Mello, 2011).

Existem diferentes tipos de fermentação realizadas por diversos micro-organismos, sendo: bactérias, bolores, actinomicetos e leveduras. A fermentação alcoólica é um processo biológico no qual açúcares como a glicose, frutose e sacarose são convertidas em energia celular com produção de etanol e dióxido de carbono como resíduos metabólicos, conforme a Equação 1 (Andrietta *et al.*, 2006).



Algumas bactérias e leveduras podem realizar a fermentação alcoólica e a mais utilizada para esse processo são as do tipo *Saccharomyces cerevisiae*. Neste processo também há bactérias indesejadas que diminuem o rendimento alcoólico, como as dos gêneros *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus*, que competem pelos nutrientes disponíveis no meio de cultura juntamente com as leveduras. Em geral, no vinho fermentado as

bactérias Gram-positivas em formas de bastonete abrangem 65% do total, sendo a maioria do gênero *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. megaterium* e *B. coagulans*) (Andrietta *et al.*, 2006).

CEBALLOS-SCHIAVONE (2009) relata que a contaminação bacteriana na fermentação impacta diretamente na produtividade e no rendimento final, devido à degradação da sacarose para geração de ácidos, ao invés de etanol, e intoxicação das leveduras causadas por esses ácidos. A infecção bacteriana na fermentação também causa outros danos ao processo, tais como: consumo de açúcar, formação de goma, floculação do fermento, inibição e queda da viabilidade das leveduras devido às toxinas e ácidos orgânicos excretados no meio e, por consequência, redução no rendimento e na produtividade da fermentação ocasionando menor lucro a empresa (ALCARDE; HORII; NOBREI, 2007).

Para o controle dessas bactérias e outros micro-organismos dentro de um processo existem vários meios e produtos a serem utilizados tais como: limpeza de linhas, dornas e trocadores de calor com água condensada ou flegmassa entre 90° e 100°C, controle de temperatura das dornas, controle de pH na formação do pé de cuba, concentração do creme na centrifugação do vinho e utilização de produtos químicos como o dióxido de cloro, antibióticos e produtos naturais como o extrato de lúpulo. O controle destes microrganismos permite obter melhores rendimentos na fermentação, pois as condições operacionais ficam muito favoráveis para as atividades metabólicas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Mello, 2011).

A partir das considerações sobre o processo de fermentação alcoólica e a importância de realizar o controle microbiológico neste processo, o objetivo deste estudo é avaliar métodos de controle microbiológico, por meio de uma revisão bibliográfica, utilizando trabalhos já finalizados e publicados que englobem antibióticos e extratos naturais como principais atuantes, de forma a determinar qual o método mais adequado.

## 2. METODOLOGIA

Para este estudo de revisão foram selecionados artigos na plataforma Google Acadêmico entre os anos de 2008 a 2020 com as palavras-chave: fermentação alcoólica, controle microbiológico, etanol, cana-de-açúcar, bactérias, antibióticos, extrato de lúpulo e dióxido de cloro. Foram considerados apenas os artigos de pesquisa que realizaram controle microbiológico no processo de fermentação alcoólica para a produção de etanol a partir da cana-de-açúcar. Todos os trabalhos encontrados estão listados na Tabela 1, em que foram analisados o micro-organismo inoculado, as condições operacionais, o processo de operação, o método de controle microbiológico e sua dosagem, o micro-organismo invasor e seu percentual de eliminação.

## 3. DESENVOLVIMENTO

### 3.1. Fundamentação Teórica

#### 3.1.1 Produção de Etanol

O etanol, também conhecido como álcool etílico ( $C_2H_5OH$ ), é produzido pela fermentação alcoólica de açúcares encontrados em produtos vegetais como: cana-de-açúcar, beterraba, milho. Existem dois tipos de etanol: o hidratado e o anidro. A diferença entre ambos se deve apenas à concentração de água em sua composição. O hidratado apresenta teor em torno de 92,6% de etanol, já o anidro tem o teor de água equivalente a 0,5%. O processo industrial usado convencionalmente produz o etanol hidratado, que é vendido nos postos de combustíveis para ser usado em veículos automotores. Já a produção do etanol anidro requer um procedimento adicional e específico para a retirada do excesso de água (Schmidell e Facciotti, 2001).

O Brasil é o segundo país que mais produz etanol no mundo, perdendo apenas para os

Estados Unidos, sendo a diferença que a maior parte produzida no Brasil é por meio da cana-de-açúcar e nos EUA é usado o milho. Estima-se que a produção em 2020 no Brasil tenha ficado na casa dos 31 bilhões de litros, 16% a menos que 2019, devido à alta do preço do açúcar (Novaca, 2020). Na produção de etanol pela cana-de-açúcar pode-se usar a matéria-prima em duas formas diferentes: moer a cana, tratar o caldo e mandá-lo direto para a fermentação ou usar esse caldo no processo de fabricação de açúcar, o resíduo desse processo é um melaço com baixo teor de sacarose que não pode mais ser utilizado para obtenção do açúcar. Em ambas formas, o processo bioquímico ocorre pela fermentação alcoólica realizada por micro-organismos, que convertem os açúcares em moléculas de etanol (Andrietta *et al.*, 2011).

### 3.1.2 Fermentação Alcoólica

A fermentação alcoólica é um processo de liberação de energia que ocorre sem a participação de oxigênio, compreende um conjunto de reações controladas por enzimas, através das quais uma molécula orgânica é degradada em compostos mais simples, liberando energia. Como este processo pode ser realizado sem a presença de oxigênio é considerado um processo anaeróbico. O que determina quais substâncias serão produzidas depende do tipo de microrganismos e o meio de cultura onde vivem. As leveduras de cervejarias e padarias fermentam a glicose em etanol e gás carbônico (Mello, 2011).

O desempenho fermentativo é bastante afetado pelo tipo de levedura que o desenvolve, sendo o tipo de micro-organismos mais aplicado nos processos fermentativos. Apesar de esforços visando a utilização de outros micro-organismos para a obtenção de etanol, a utilização de *Saccharomyces cerevisiae* continua sendo a mais adequada, pois por se tratar de processos não estéreis, necessita-se de um microrganismo “robusto”, capaz de suportar condições drásticas como o elevado teor alcoólico e a grande quantidade de reciclós (Andrietta *et al.*, 2011).

Nesse processo metabólico, a levedura utiliza a fermentação para conseguir energia e assim sobreviver. Assim, o etanol produzido é apenas um dos subprodutos, além do gás carbônico. As leveduras produzem uma enzima conhecida com invertase, essa fica responsável por hidrolisar (decompor) a molécula de sacarose (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) formando duas moléculas menores, monossacarídeos chamados D-glicose e D-frutose, que possuem as mesmas fórmulas moleculares, mas apresentam fórmulas estruturais diferentes (Equação 2). Na sequência, estes monossacarídeos são consumidos pelas leveduras e ocorre a formação do etanol propriamente dita (Equação 1) (Souza, 2009).



Na prática industrial, são aplicados 2 tipos de processos fermentativos distintos: o contínuo e o batelada. No processo contínuo não há interrupções ao longo do processo, visto que ocorre a retirada contínua do produto a uma vazão igual à alimentação, permitindo um fluxo permanente. No processo por batelada o meio fermentativo é inoculado com os micro-organismos na dorna de fermentação, após o tempo de fermentação a dorna é descarregada, o meio fermentado passa para os tratamentos finais e as dornas passam por um processo de limpeza e desinfecção da mesma para dar início a um novo processo (Schmidell e Facciotti, 2001). Geralmente são utilizados biorreatores de aço fechados, conhecidos como Dornas de fermentação, com sistema de agitação e controle de temperatura. Também é importante realizar o controle microbiológico para analisar se há a presença de outros micro-organismos invasores na fermentação que poderiam afetar negativamente o desempenho das leveduras no processo (Schmidell e Facciotti, 2001). Durante a fermentação do mosto nos reatores, podem ocorrer diversos problemas, entre eles a contaminação bacteriana devido à temperatura, acidez, concentração de

açúcares e nutrientes favoráveis também a esses micro-organismos (CHERUBIN, 2003).

As bactérias presentes nos reatores consomem o açúcar destinado às leveduras para a produção de etanol, porém produzem os ácidos lático e acético, os quais não são de interesse das usinas, o que ocasionou perda de substrato, além de esses ácidos causarem intoxicação nas leveduras (OLIVA-NETO e YOKOYA, 1997).

### 3.1.3 Controle microbiológico na Fermentação Alcoólica

As leveduras na fermentação alcoólica competem pelos açúcares com as bactérias que normalmente habitam as dornas de fermentação. Um processo de fermentação considerado relativamente sadio apresenta níveis de contaminação bacteriana próximos a  $10^5$  células mL<sup>-1</sup>. A presença de certos índices de bactérias acima de  $1,0 \times 10^6$  ou até mesmo  $1,0 \times 10^7$  pode resultar em prejuízos ao processo devido ao consumo de açúcar, formação de goma, aglomeração das leveduras e queda na viabilidade das leveduras devido às toxinas e ácidos orgânicos produzidos por essas bactérias (Mello, 2011).

As principais bactérias encontradas como micro-organismos invasores da fermentação alcoólica são dos gêneros *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus*. Em vinho fermentado com mel final geralmente a maior parte são bactérias Gram-positivas em formas de bastonetes, com destaque para os gêneros *Bacillus* e *Lactobacillus*. (Andrietta *et al.*, 2006).

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. Por isso, é muito importante que se faça o controle microbiológico no processo fermentativo, de forma que as condições operacionais sejam favoráveis para o desenvolvimento da *Saccharomyces cerevisiae* (Ventura e Zink, 2002).

### 3.1.4 Métodos de controle

O controle microbiológico da fermentação alcoólica é realizado de várias formas sendo que estes trabalham em conjunto. Dentre eles podem ser citados a assepsia das dornas de fermentação, assepsia dos trocadores de calor do mosto, controle de temperatura das dornas, tratamento com ácido sulfúrico e outros agentes químicos que atuam diretamente no organismo das bactérias invasoras (Mello, 2011).

Geralmente são utilizados os seguintes procedimentos na ajuda do controle bacteriano: Assepsia de dornas no final de cada ciclo fermentativo, quando a mesma se encontra vazia, é realizada uma limpeza com água condensada a 90°C durante 5 minutos para a retirada de resíduos na parede interna, onde as bactérias podem se acumular e criar biofilme. Neste caso, também pode ser usada a flegmaça (resíduo da retificação do flegma nas destilarias, é uma água com traços de álcool e óleo fúsel) vindo dos aparelhos de destilação no lugar da água condensada, dependendo do projeto. Nos trocadores de calor do mosto também é feita a limpeza com água condensada, sendo a cada 12 horas de trabalho, 4 horas de limpeza. Para isso são necessários dois trocadores de calor: um em funcionamento e outro em limpeza (Andrietta *et al.*, 2006).

Durante a fermentação também ocorre a liberação de calor e sem o devido controle de temperatura, esta pode chegar a 45°C. Esta temperatura é um ótimo ambiente para a proliferação de bactérias e morte das leveduras, por isso deve ser controlada com o auxílio de trocadores para se manter entre 32 e 34 °C. Após a fermentação, o vinho é centrifugado e o fermento é diluído a

concentração entre 20 e 22% (em massa) e é utilizado ácido sulfúrico para que o pH do meio fique entre 2,4 e 2,8 dependendo das condições do fermento. A diminuição do pH ajuda no controle das bactérias, mas não pode ser muito baixo ou deixar a levedura muito tempo nesse meio ácido, pois pode ocasionar queda na sua viabilidade (Andrietta *et al*, 2011).

### 3.1.5 Agentes Químicos

O controle no processo fermentativo também pode ser realizado com o uso de agentes químicos. Os mais utilizados na indústria de açúcar e álcool e seu modo de ação são os compostos fenólicos, clorados, quaternário de amônio, antibióticos, extratos a base de lúpulo e dióxido de cloro. As descrições de como cada agente químico atua estão apresentadas a seguir. Compostos fenólicos: em altas concentrações penetram e rompem a parede celular do microrganismo, resultando na precipitação das proteínas situadas no protoplasma. Quando estão em concentrações baixas, agem de forma a promover a inativação de enzimas essenciais para a manutenção da célula (Eguchi, 2007).

Compostos Clorados: ocorre a liberação de oxigênio nascente, o qual vai se combinar com componentes do protoplasma celular destruindo os microrganismos. Ocorre uma combinação do cloro com proteínas da membrana celular formando N-cloro, o qual interfere no metabolismo celular e causa a morte do micro-organismo. Também modifica a membrana celular, o que permite a difusão do conteúdo do interior da célula para o meio externo e inibe a ação de enzimas-chaves das reações celulares (Eguchi, 2007).

Quaternário de amônio: promove a desnaturação de proteínas, interferência com a glicólise e danos na membrana celular, causando a destruição dos micro-organismos no meio (Eguchi, 2007).

Antibióticos: Denominam-se antibióticos, compostos orgânicos, podendo ser naturais ou sintéticos, e que inibem o crescimento ou possam causar a morte de microrganismos específicos. São capazes de inibir a ação de cofatores enzimáticos, o que afeta a síntese proteica e a biossíntese de constituintes essenciais da membrana, de forma a interferir no transporte ativo da mesma. Tem a característica de apresentar seletividade quanto aos alvos, que são as bactérias Gram-positivas. Outra característica, é que, devido os microrganismos alvos serem específicos, o constante uso de antibióticos para o controle de contaminação em indústrias pode induzir à seleção de microrganismos resistentes (Eguchi, 2007).

O uso indiscriminado e contínuo dos antibióticos convencionais durante os processos fermentativos nas indústrias de álcool provocam seletividade nas cepas de bactérias presentes nestes processos. Com isso, as bactérias selecionadas tornam-se menos sensíveis à ação dos antibióticos (CINELLI, 2012).

Os antibióticos mais utilizados no Brasil são a penicilina e antibióticos a base de monensina. A monensina é uma substância monitorada em países europeus importadores de levedura seca quanto ao seu residual no produto final. Ambos agem em bactérias Gram-positivas, sendo a monensina considerada a mais eficiente (MORAES *et al.*, 2006).

Antimicrobianos à base de lúpulo: O lúpulo (*Humulus lupulus*) pertence à família Cannabinaceae e à ordem Urticales. Portanto, botanicamente, está relacionada com as urtigas irritantes. As flores femininas apresentam uma estrutura morfológica denominada “cone de lúpulo”, cujas pétalas contêm glândulas de lupulina, que é constituída por uma resina rica em ácidos alfa e beta (Ruckle; Senn, 2006). A lupulina contém óleos essenciais (0,2 – 3%), ácidos beta ou lupulonas (1,5 – 9,5%) e ácidos alfa ou humulonas (2,0 – 16%) que variam em suas proporções nas diferentes variedades da planta (Silva; Faria, 2008). Os ácidos do lúpulo interferem no transporte de metabólitos na membrana celular e modificam o pH intracelular, o que provoca a morte das bactérias por meio de insuficiência nutricional. Sua ação é mais eficiente em bactérias Gram-positivas (Silva; Faria, 2008).

Em 2007, o extrato de lúpulo 45% foi lançado no setor sucroalcooleiro brasileiro. O uso do extrato para controle bacteriano mostrou vantagens, como a redução no gasto com ácido sulfúrico no tratamento do levedo e incremento no rendimento de etanol. Além disso, o extrato é um produto natural que as empresas produtoras de levedura seca podem aderir ao uso, pois não deixa residual químico em alimentos. Em relação aos custos para as usinas, o uso do extrato de lúpulo é semelhante aos antibióticos (Caetano; Madaleno, 2011).

Todos esses agentes são aplicados na fase de tratamento da levedura antes do processo de alimentação enquanto ela está no seu período de “recuperação”. Como a maioria dos produtos são líquidos, os agentes já são dosados diretamente no meio fermentativo. Em alguns antibióticos, que são em pó, é preciso fazer uma diluição prévia em água (Mello, 2011).

#### 4. ANÁLISE DOS TRABALHOS

A partir da análise dos trabalhos da Tabela 1, foi possível constatar que todos os produtos utilizados para o controle microbiológico obtiveram um alto índice de eficiência, influenciado diretamente pelo tipo de processo e pela quantidade utilizada. Extrato de Lúpulo, Monensina Sódica e Extrato de Própolis atingiram índices de eliminação acima de 95%. Este fato também ocorreu com o Dióxido de Cloro que chegou próximo aos 90%.

Quanto ao micro-organismo inoculado, em todos os trabalhos foi utilizada a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, mudando somente sua Cepa entre PE-2 e C2/00, que são as mais aplicadas para o processo industrial.

A maioria dos autores listados na Tabela 1 trabalhou com temperaturas entre 32 e 34°C, que seria o ideal para o processo fermentativo da levedura e baixa proliferação das bactérias. Contudo Meneghin *et al.* (2008) trabalhou com a temperatura em 37°C, o que pode ter prejudicado o rendimento do Dióxido de Cloro devido à alta multiplicação das bactérias. Em termos de pH muitos pesquisadores utilizaram a faixa de 4,5 que é o pH encontrado no final do processo de fermentação. Gomes *et al.* (2020) utilizou um pH de 2,5 e Freitas um pH de 2,2, esta faixa de pH pode ajudar no controle microbiológico, mas elevam o custo na produção devido ao alto consumo de ácido sulfúrico. O sistema de operação mais aplicado foi o batelada, somente Gomes *et al.* (2020) utilizou sistema contínuo. Nesta configuração é mais difícil de realizar o controle microbiológico por não haver tempo para a assepsia dos biorreatores. Além disto, o batelada foi o mais utilizado por grande parte dos testes terem sido realizados em escala laboratorial.

Em praticamente todos os estudos, os micro-organismos invasores são bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Bacillus*, que estão presentes na flora de muitos organismos e no ambiente. Em termos de eliminação dos micro-organismos invasores, 7 trabalhos obtiveram valores entre 90 e 97%, com o uso de Monensina Sódica (3 ppm), Extrato de Lúpulo (50 ppm), Extrato de Própolis (20 ppm), Ampicilina (50 ppm) e Ácido Nalidixico (50 ppm). Outros 8 estudos obtiveram um percentual de eliminação entre 80 a 89,5 %. Meneghin *et al.* (2008) estudou o controle microbiológico com Dióxido de Cloro a 100 ppm e a eliminação dos micro-organismos se aproximou a 89%. Entre os estudos com menores percentuais de eliminação destacam-se o Extrato de Lúpulo (20 ppm) nos trabalhos de Gomes *et al.* (2020) e Santos *et al.* (2014) com 76% e 69 % de eficiência, respectivamente. Também se destacam os trabalhos de Santos *et al.* (2014) com uso da Monensina Sódica a 1 ppm e 67% de eficiência, e por último Meneghin *et al.* (2008) que testou o Dióxido de Cloro a 50 ppm e obteve somente 60% de eliminação dos micro-organismos invasores.

Ao analisar o percentual de eliminação dos micro-organismos pode-se citar que o controle microbiológico com extrato de lúpulo obteve resultados mais satisfatórios (>90%) a uma concentração de 50 ppm. Este fato também ocorre com a Monensina, que apresentou maiores percentuais de eliminação com concentração de 3 ppm.

O controle microbiológico utilizando extrato de lúpulo e outras fontes naturais obtém bons resultados e não prejudicam o meio ambiente, contribuindo para o desenvolvimento sustentável. Um dos maiores problemas da Monensina é que ela deixa residuais na levedura seca usada na alimentação principalmente de bovinos onde não é permitido residual acima de 1,25 ppm. (QUÍMICA REAL). O que coloca o Extrato de Lúpulo como uma opção viável para que essa renda extra com a venda da levedura seca não seja perdida.

**Tabela 1. Estudos encontrados envolvendo o controle microbiológico no processo de obtenção do etanol por fermentação alcoólica a partir da cana-de-açúcar entre os anos de 2008 a 2020.**

<b>Autor</b>	<b>Micro-organismo Inoculado</b>	<b>Condições Operacionais</b>	<b>Processo de Operação</b>	<b>Controle Microbiológico</b>	<b>Dosagem</b>	<b>Micro-organismo Invasor</b>	<b>Eliminação do MO Invasor</b>
Meneghin <i>et al.</i> (2008)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	T=37°C	Batelada	Dióxido de Cloro	50 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	60%
Meneghin <i>et al.</i> (2008)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	T=37°C	Batelada	Dióxido de Cloro	75 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	80%
Meneghin <i>et al.</i> (2008)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	T=37°C	Batelada	Dióxido de Cloro	100 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	89%
Badin <i>et al.</i> (2010)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	T=32°C pH=4,5 TF 6h	Batelada	Extrato de Própolis	20 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	95%
Badin <i>et al.</i> (2010)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	T=32°C pH=4,5 TF 6h	Batelada	Monensina Sódica Cristalina	3 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	97%
Leite <i>et al.</i> (2011)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (PE-2)	T=32°C pH = 4,5 TF = 8h	Batelada	Extrato de Lúpulo	50 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	90-95%
Leite <i>et al.</i> (2011)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (PE-2)	T=32°C pH=4,5 TF 8h	Batelada	Monensina Sódica Cristalina	3 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	>95%
Souza <i>et al.</i> (2014)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (C2/00)	T=32°C pH=4,5 TF 10h	Batelada	Extrato de Lúpulo	35 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	87%
Souza <i>et al.</i> (2014)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (C2/00)	T=32°C pH=4,5 TF 10h	Batelada	Monensina Sódica Cristalina	3 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	86%
Freitas <i>et al.</i> (2014)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (PE-2)	T=33°C pH=2,2	Batelada	Extrato de Lúpulo	10 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus, Acetobacter</i>	95%
Santos <i>et al.</i> (2014)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (C2/00)	T=34°C pH=4,5	Batelada	Extrato de Lúpulo	20 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	69%
Santos <i>et al.</i> (2014)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (C2/00)	T=34°C pH=4,5	Batelada	Extrato de Lúpulo	35 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	88%
Santos <i>et al.</i> (2014)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (C2/00)	T=34°C pH=4,5	Batelada	Extrato de Lúpulo	45 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	86%
Santos <i>et al.</i> (2014)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (C2/00)	T=34°C pH=4,5	Batelada	Monensina Sódica Cristalina	1 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	67%
Santos <i>et al.</i> (2014)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (C2/00)	T=34°C pH=4,5	Batelada	Monensina Sódica Cristalina	3 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	83%

Autor	Micro-organismo Inoculado	Condições Operacionais	Processo de Operação	Controle Microbiológico	Dosagem	Micro-organismo Invasor	Eliminação do MO Invasor
Santos <i>et al.</i> (2014)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (C2/00)	T=34°C pH=4,5	Batelada	Monensina Sódica Cristalina	6 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	89,50%
Santos <i>et al.</i> (2014)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (C2/00)	T=34°C pH=4,5	Batelada	Ampicilina	50 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	91%
Santos <i>et al.</i> (2014)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (C2/00)	T=34°C pH=4,5	Batelada	Ácido Nalidíxico	50 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	91%
Gomes <i>et al.</i> (2020)	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (PE-2)	T=32°C pH=2,5	Continua	Extrato de Lúpulo	20 ppm	<i>Lactobacillus, Baccillus</i>	76%

\* T = temperatura, pH = potencial hidrogeniônico, TF = tempo de fermentação

## 5. CONCLUSÃO

A partir dos trabalhos selecionados e analisados pode-se afirmar que em toda fermentação industrial é essencial o controle bacteriano para maiores rendimentos, o que vai definir o melhor produto a ser utilizado será o tipo de processo e a dosagem utilizada em comparação ao custo. Todos os produtos testados (Tabela 1) no controle microbiológico se mostraram eficientes a uma certa taxa de dosagem que quando diminuída interfere claramente na eficiência do mesmo. Dentre todos os métodos de realizar o controle microbiológico apresentado, pode-se dizer que o Extrato de lúpulo se mostrou mais adequado e vem ganhando muito espaço em pouco tempo, principalmente por ser um produto natural, eficiente e sustentável. Vale ressaltar que uma grande vantagem destes extratos naturais é permitir a reutilização do fermento para comercialização, pois evita a contaminação do mesmo. O Brasil como país pioneiro na produção e utilização de um combustível limpo merece lugar de destaque no cenário mundial. Ele tem sido apontado como um exemplo a ser seguido, pelas inúmeras delegações internacionais que visitam o Brasil em busca de informações técnicas e científicas, já que a produção vem se expandindo em países como EUA e Índia, o cenário se torna favorável para que novas tecnologias surjam e produtos “sustentáveis” sejam criados e utilizados no seu processo de fabricação.

## 6. REFERÊNCIAS

ANDRADE, N.J., PINTO, C. L., ROSADO, M. S. **Higiene na indústria de alimentos: Avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos**. 1. ed. São Paulo: Varela, 2008. 410 p.

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

ANDRIETTA, M. G. S.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, S. R. **Bioetanol: Brasil, 30 anos na vanguarda**. In: *Multiciência: Construindo a história dos produtos naturais*, 2006, p.1-16.

ALCARDE, A.R.; HORII, J.; NOBREI, T.P. 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.

BADIN, F. **Biocidas Naturais e seus reflexos sobre contaminantes na produção de etanol**. 51 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010.

CAETANO, A. C. G.; MADALENO, L. L. Controle de contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica com a aplicação de biocidas naturais. *Ciência e Tecnologia*, Jaboticabal, v. 2, n. 1, p. 27-37, 2011. Disponível em: Acesso em: 05 jun. 2021.

CEBALLOS SCHIAVONE, C. A. D. M. Tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar visando a redução de contaminantes bacterianos – *Lactobacillus* – na produção de etanol e eficiência de tratamento do fermento por etanol. 2009. 177 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2009.

CHERUBIN, R. A. **Efeitos da viabilidade da levedura e da contaminação bacteriana na fermentação alcoólica**. 2003. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

CINELLI, B. A. **Produção de etanol a partir da fermentação simultânea à hidrólise do amido granular de resíduo agroindustrial**. 2012. 68 f. Dissertação (Mestrado em engenharia química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

CZARNESKI, M. A., LORCHEIM, P. **Isolator Decintamination Using Chlorine Dioxide Gas**. *Pharmaceutical Technology*, 2005, p. 124–133.

EGUCHI, J.Y. Ativos antimicrobianos utilizados na indústria. **Revista Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação**, São Paulo, n.22, p.35-39, 2007. Disponível em:<[http://www.sbcc.com.br/sumario\\_22.htm](http://www.sbcc.com.br/sumario_22.htm)>. Acesso em 05 jun. 2021.

FREITAS, M. D., ROMANO, F. P. **Avaliação do controle bacteriano na fermentação alcoólica com produtos naturais**. *Bioenergia em revista: diálogos*, ano 4, n. 2, p. 109-119, jul./dez. 2014.

GOMES, M. A. **Extrato de lúpulo no controle bacteriano em usinas de etanol**. 41 f. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia Aplicada e Sustentabilidade) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, Rio Verde - GO, 2020.

JACULI, M. F. L. **Avaliação do uso de compostos saneantes em serviços de alimentação coletiva**. Monografia (Especialização em Qualidade de Alimentos), Universidade de Brasília. Brasília, DF, 2009.

LEITE, I. R. **Avaliação da ação de antibiótico natural na fermentação alcoólica contaminada por cultura mista**. 89 f. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG, 2011.

MELLO, G. **Produção de etanol a partir da cana-de-açúcar: Fermentação alcoólica industrial**. Apostila de curso técnico. Senar Paraná, 2011.

MENEGHIN, S. P. et al. **Chlorine Dioxide against bacteria and yeasts from the alcoholic fermentation**. *Brazilian Journal of Microbiology* p.337-343, 2008.

MORAES, J. A. S., BERCHIELLI, T. T., REIS, R. A. Aditivos. In: BERCHIELLI, T. T., PIRES, A. V., OLIVEIRA, S. G. *Nutrição de ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 2006. cap 1, p. 539-561.

NASCIMENTO, G. M. **Uso de desinfetantes em produção de aves**. Seminário (Doutorado em Saúde Animal), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2013.

OLIVA-NETO, P.; YOKOYA, F. Effects of nutritional factors on growth of *Lactobacillus fermentum* mixed with *Saccharomyces cerevisiae* in alcoholic fermentation. *Revista de Microbiologia*, v.28, p.25-31, 1997.

Produção de etanol no Brasil deve cair 16% em 2020, para 31,35 bilhões de litros, diz USDA. NovaCana, 2020. Disponível em: <https://www.novacana.com/n/etanol/mercado/producao-etanol-brasil-cair-16-2020-31-35-bilhoes-litros-usda-090920>. Acesso em: 29 maio 2021.

QUÍMICA REAL. Controle das Bactérias. Disponível em: <http://www.quimicareal.com.br/qrhp/produtos/abrir/1>, Acesso em: 28 outubro 2021.

RUCKLE, L., SENN, T. **Hop acids as natural antibacterials can efficiently replace antibiotics in ethanol production. Betatec Hop Products: Nuremberg, Germany, v. 7, n. 9, 2006.** Disponível em: [www.betatechopproducts.com/literature/files/Hop\\_acids\\_natural\\_antibacterials.pdf](http://www.betatechopproducts.com/literature/files/Hop_acids_natural_antibacterials.pdf). Acesso em: 25 maio 2021.

SANTOS, D. L. **Fermentação alcoólica empregando leveduras floculantes em sistema de reatores torre**. 129 f. Tese de Doutorado (Pesquisa de desenvolvimento de processos químicos) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, 2014.

SHMIDELL, W. *et al.* **Biotecnologia Industrial** : Engenharia Bioquímica. 1ª ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2001.

SHMIDELL, W. *et al.* **Biotecnologia Industrial** : Processos Fermentativos e Enzimáticos. 1ª ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2001.

SILVA, P.H.A.; FARIA, F.C. **Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais**. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v.28 n.4, p. 902-906, out./dez. 2008.

SOUSA, M. D. B. *et al.* **Estudo da Contaminação em fermentação alcoólica com leveduras floculantes**. In: X CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2013, Rio de Janeiro. Vassouras: Universidade Severino Sombra, 2013.

SOUZA, C. S. **Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de S. Cerevisiae**. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo/Instituto Butantan, 155 f. 2009.

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.

## MICROBIOLOGICAL CONTROL METHODS IN ALCOHOLIC FERMENTATION PROCESSES: A REVIEW STUDY

Eduardo Ramos Antunes Coelho, [eduardo.coelho@edu.unipar.br](mailto:eduardo.coelho@edu.unipar.br)  
Camila Pereira Giroto, [camilagiroto@prof.unipar.br](mailto:camilagiroto@prof.unipar.br)

**Abstract:** *The sugar and alcohol industries are concerned with the control of bacteria that contaminate fermentation, which are responsible for affecting the yeast viability, causing several disturbances in the process, compromising fermentation efficiency and industrial yield. Given this scenario, this work aimed to evaluate different methods of microbiological control of these invaders, in order to determine the existence or not of any method that can stand out over the most applied in the industrial environment. In the search for the works, different methods were found, such as natural extracts, chemical agents and antibiotics. Among these, the one that stood out the most in the research found was the hop extract, as it showed high efficiency in eliminating invading microorganisms, it is sustainable and allows the reuse of yeast.*

**Keywords:** *Ethanol, Lactobacillus, Yeasts, Invasive Microorganisms, Hop Extract.*