



XI SIMPROD

XI SIMPÓSIO DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO DE SERGIPE

TEMA:

"A ENGENHARIA DE PRODUÇÃO
COMO MEIO DE TRANSFORMAÇÃO SOCIAL."

18 A 22 DE NOVEMBRO
2019

Estudo dos impactos causados no rendimento pelos microrganismos na etapa de fermentação

OLIVEIRA, Gabriel Martins*; SILVA, Thayna Farias

Departamento de Engenharia de Produção, Universidade Federal de Alagoas, Campus Arapiraca, Unidade de Ensino Penedo – UFAL;

* Autor de correspondência. E-mail: gabrielmartins300@outlook.com

RESUMO

O presente trabalho tem por finalidade realizar uma revisão da literatura sobre os impactos causados no rendimento fermentativo da produção de etanol por microrganismo. A metodologia utilizada foi um estudo bibliográfico, como fonte de pesquisa foram utilizados: documentos da internet, artigos científicos disponibilizados nas plataformas científicas e apostilas de fabricação de álcool. Os resultados foram qualitativos, sendo definido e aproximando o pesquisador da observação, fomentando-se discussões sobre: a produção de etanol, fermentação alcoólica, contaminação microbiana, condições que causam a contaminação, microrganismos contaminantes, impactos no rendimento e formas de controle da contaminação. Assim, por meio do debate comparativo dos dados, nota-se que o controle dos fatores, tais como: pH, temperatura, pressão osmótica e °Brix; influenciam direta e indiretamente na proliferação dos microrganismos que trazem malefícios a fermentação e consequentemente ao rendimento fermentativo.

Palavras-chave: Fermentação alcoólica, Rendimento, Microbiologia.

Study of impacts on yields by microorganisms in the fermentation stage

ABSTRACT

The aim of this paper is to review the literature on the impacts without fermentative yield of ethanol production by microorganism. The methodology used was a bibliographic study, as research source were used: Internet documents, scientific articles available on scientific platforms and handouts for alcohol manufacture. The results were qualitative, being defined and approximated or researched by observation, fostering discussions about: ethanol production, alcoholic fermentation, microbial contamination, conditions that cause contamination, contaminating microorganisms, performance and forms of contamination control. Thus, through the comparative debate of the data, it is noted whether the control of factors such as: pH, temperature, osmotic pressure and °Brix; directly and indirectly influences the proliferation of microorganisms that brings harm to the fermentation and consequently to the fermentative yield.

Keywords: Alcoholic Fermentation, Yield, Microbiology.

1 Introdução

A fabricação do álcool se deu desde a antiguidade com os egípcios na produção de vinho para consumo, ela se manteve no Brasil como uma alternativa de combustível diante da crise do petróleo em 1970, não obstante a utilização do etanol combustível já vinha sido testada em 1927 pela Usina Serra Grande Alagoas, em São José da Laje, no estado de Alagoas (MELO, 1981). Em 1975 houve um crescimento na produção de etanol combustível, pois a utilização de petróleo como combustível seria uma alternativa com alto custo para indústria. O governo brasileiro resolveu, portanto, investir na implantação de indústrias para a produção de etanol combustível como forma de substituição da gasolina, aprovando o Proálcool– Programa Nacional do Álcool (MORAES e BACCHI, 2014).

Atualmente, o Brasil é referência na produção de cana-de-açúcar para obtenção de etanol. O seguimento empregou mais de 774 mil empregos formais gerados apenas pelo setor produtivo, em 2017, equivale a cerca de 2% do PIB do setor agrícola nacional. A safra 2017/2018 foi de 8,73 milhões de hectares, sendo mais de 50% dessa área plantada e cultivada no estado de São Paulo (CEPEA, 2018).

Segundo Kohlhepp (2010) o potencial do biocombustível brasileiro possui influência regional e global, o que garante a sua pretensão de líder político na América Latina. Os mais recentes desenvolvimentos no setor de biocombustíveis mostram que o Brasil passa por um processo abrangente de transformação, conduzindo não somente a enormes consequências econômicas, mas também na política interna levando a mudanças sociais, socioculturais e ecológicas.

Para obtenção do etanol são necessários alguns processos para obtê-lo através das moléculas de açúcar presentes em alguns vegetais. No Brasil, o vegetal utilizado na produção etanólica é a cana de açúcar, todo território brasileiro possui condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento da cana-de-açúcar, exceto no Rio Grande do Sul e Santa Catarina, devido ao risco de geadas (CASAGRANDE, 1991; CAMARA & OLIVEIRA, 1993).

Assim, diante da importância da indústria sucroalcooleira para o setor agroindustrial brasileiro medidas de melhoramento da produção são necessárias visando rendimentos satisfatórios. Sendo assim, se faz justo o monitoramento da produção, fazendo-se o estudo sobre a fermentação, contaminação microbiana, condições que causam contaminação, microrganismo contaminantes, impactos no rendimento e formas de controle de contaminante.

Este estudo teve como objetivo realizar uma revisão da literatura acerca dos impactos causados no rendimento da produção de etanol pela presença de microrganismo na fermentação,

por meio do levantamento de informações publicadas na plataforma Capes[®], Scopus, livros e internet.

2 Metodologia

Para o presente trabalho foi realizada pesquisa de natureza qualitativa e análise documental, conforme definem Santos (2000) e Lakatos e Marconi (2003). Segundo esses autores, a pesquisa documental se caracteriza por utilizar fontes cientificamente autênticas, por meio do levantamento de informações publicadas em fontes como livros, periódicos e internet.

As bases de dados utilizadas para a presente pesquisa foram: Plataforma Capes[®], Scopus, livros e internet. Para verificar se havia a presença da temática, houve a seleta de 10 artigos científicos e 2 (dois) livros, cujo tema foi explorado.

3 Resultados e discussões

Segundo Castro (2013), a produção de etanol é de suma importância para a agroindústria, tanto por sua utilidade e inúmeras aplicações dos subprodutos, como também pelo empreendimento relacionado e derivados dessa indústria. Sendo assim, a produção de etanol pode se dar por via bioquímica ou por via química, sendo este último o menos utilizado devido ao custo e disponibilidade da produção. No Brasil, a produção por via bioquímica é comumente utilizada através da fermentação de açúcares diretamente fermentescíveis tendo como matéria-prima a cana-de-açúcar. A Tabela 1 apresenta o crescimento do consumo do etanol na economia brasileira entre os anos de 1998 a 2007.

Tabela 1 – Apresenta o crescimento do consumo de etanol no Brasil entre os anos de 1998 a 2007.

Ano-Safra	Preço de álcool anidro (R\$/L)	Produção de álcool (m3)
1998/1999	0,66	9.038.651
1999/2000	0,70	8.492.368
2000/2001	1,06	6.439.113
2001/2002	0,93	7.134.529
2002/2003	0,94	7.690.689
2003/2004	0,71	8.828.353
2004/2005	0,73	8.172.488
2005/2006	0,82	9.103.940
2006/2007	0,93	9.951.710

Fonte: BACCHI (2006).

Conforme Chieppe Júnior (2012), como produto final na fermentação de açúcares pode se obter: etanol hidratado carburante com 92,6 °GL ou 93,2 INPM utilizado como combustível direto nos veículos com motores movidos a álcool; e anidro com 99,6°GL ou 99,3 INPM, utilizado como aditivo aos combustíveis.

A gasolina brasileira possui teor de 25% a 27% de álcool anidro. O anidro especial que é o mesmo citado anteriormente, porém isento de contaminantes (benzeno e ciclohexano), produzido através do processo de peneira molecular. O tipo refinado e neutro que é o álcool neutro de impurezas, com pouco odor. Por possuir preço mais baixo que o álcool extra neutro, é utilizado pelas indústrias de bebidas e cosméticos populares. O extra neutro é o álcool mais puro, que não interfere em aromas ou sabores, é utilizado na elaboração de bebidas, cosméticos e produtos farmacêuticos (ANP, 2018).

3.1 Produção do Etanol

Para a obtenção do etanol são necessárias algumas fases, inicialmente a partir da moagem da cana de açúcar obtém-se o caldo, e para a fabricação de etanol é necessário que parte desse caldo passe por um tratamento. Esse tratamento é denominado aquecimento, onde o caldo será aquecido a 105°C. Seguido desse aquecimento o caldo será decantado o tornando em um caldo clarificado que irá para a pré-evaporação. Nessa fase o caldo será aquecido novamente a 115°C, fazendo com que a água que está no caldo clarificado seja eliminada. Após a pré-evaporação o processo seguirá para o preparo do mosto, que é a junção do caldo clarificado, melaço e água (CASTRO, 2013).

No preparo do mosto o caldo quente que vem do pré-evaporador é resfriado a 30°C nos trocadores de calor e logo enviado as dornas de fermentação. A mistura vai ficar nas dornas por um período de 06 a 08 horas. É nessa fase que acontece a fermentação alcoólica, que é o processo que transforma os açúcares em álcool, através da ação das leveduras, as quais compõe o fermento que é misturado no caldo. O processo de fermentação acontece de maneira contínua e agitada. Sendo fermentado, o mosto passará a se denominar vinho que contém cerca de 9,5% de álcool (CHIEPPE JUNIOR, 2012).

O vinho seguirá para a centrifuga, onde lá será separando-se em duas partes: Leite de levedura e o vinho delevurado, este que contém 7% a 8% de etanol. Assim, restam ainda no vinho delevurado algumas impurezas líquidas. Sendo o etanol com um ponto de ebulição menor que o da água, separa-se um do outro pelo processo de destilação. Feito esse processo finalmente obtém-se o álcool hidratado (CHIEPPE JUNIOR, 2012). Dentro de todo esse longo

processo existem fases que podem afetar diretamente o rendimento da indústria sucroalcooleira, conforme é apresentado na Figura 1.

Figura 1 – Processo de produção do etanol.



Fonte: MARTINS, 2014.

3.2 Fermentação

A fermentação alcoólica vem sendo utilizada desde a mais remota antiguidade com a produção de pães e bebidas alcoólicas a partir de cereais e frutas. No entanto, apenas recentemente é que se pôde relacionar a fermentação com as leveduras. As leveduras beneficiaram a humanidade por um longo período, mesmo sem saber de sua existência, notada pela primeira vez por Antonie Van Leewenhoek (1623-1723), ao observar a amostra de cerveja em fermentação, com seu microscópio rudimentar (LIMA, et. al, 2001).

A fermentação é a principal fase na produção de etanol, pois é nela que alguns microrganismos agem como redutores das enzimas que aceleram a transformação do açúcar. Entretanto é um dos parâmetros que exige maior atenção durante sua realização, tendo em vista obter uma fermentação sadia. As leveduras utilizadas no processo fermentativo são um aspecto de grande influência no produto final, a levedura *Saccharomyces Cerevisiae* é considerada uma boa linhagem para a fermentação. Muitos fatores podem afetar o rendimento da fermentação alcoólica, dentre eles estão alguns parâmetros como pH, temperatura, °Brix e pressão osmótica. (LIMA et al., 2001).

Segundo Mutton (2004) os valores ideais dos parâmetros citados acima para manter o controle e boa qualidade da fermentação são de pH entre 4,5 e 5,0, temperatura entre 20 a 30°C,

°Brix entre 14 a 22 e a pressão osmótica necessita dos nutrientes necessários para manter a proteção da membrana da levedura. O acompanhamento desses valores é feito com o uso de equipamentos que auxiliam na mensuração dos parâmetros citados, tais como: phmêtro, termômetro e o refratômetro. Com a ocorrência da alteração no controle desses fatores há uma redução no rendimento fermentativo, modificando as características do vinho caracterizando as perdas de açúcares no processo.

É importante frisar que o fim da fermentação é dado com o consumo máximo do açúcar que é sinalizado pelo °Brix que o torna um parâmetro ainda mais importante no processo da fermentação.

3.3 Contaminação Microbiana

Conforme Angelis (2010) durante o processo podem estar presentes alguns microrganismos gerados ainda na cana-de-açúcar no campo que sobrevive aos tratamentos do caldo e condições como pH, temperatura e produtos inibitórios no meio fermentativo e se estabelecem nas dornas de fermentação.

Mutton (2003), salienta que a contaminação microbiana além de atrapalhar a transformação da sacarose, formando substâncias indesejadas de produtos indesejados como o ácido láctico e acético, pode consumir parte do álcool, provocando assim, perdas irreparáveis no rendimento da fermentação. A existência forte de microrganismos tem início no campo, estes penetram nos colmos através da ocorrência de infestação de pragas, danos provocados nos colmos pelas operações de corte/carregamento/transporte, facilitando assim a infecção.

O corte da cana contribui significativamente neste contexto, sendo que o corte manual deixa menor área exposta para penetração de micro-organismos enquanto o corte mecanizado aumenta esta área (MUTTON, 2003). Tais fatores unidos à influência do pH, temperatura e controle em geral na multiplicação das leveduras podem resultar em danos irreparáveis ao rendimento fermentativo do processo de produção de etanol, tendo em vista que estes mesmos provocam a proliferação de microrganismos, cujos quais têm grande influência no rendimento da fermentação (CHIEPPER JUNIOR, 2012).

3.4 Condições que causam a contaminação

No fator microbiológico, a contaminação bacteriana é favorecida a partir de condições em altas temperaturas, estresse da levedura, aumento da formação de ácido láctico. Altas temperaturas causam desnaturação da membrana celular das leveduras impedindo o aumento do rendimento. O estresse da levedura pode causar uma variedade de perturbações que podem

reduzir a atividade enzimática, interromper o fluxo metabólico, danificar as estruturas celulares e alterar os gradientes químicos, levando a célula a uma condição de instabilidade. (MELO, 2006).

O aumento da formação de ácido láctico está diretamente ligado à causa da floculação da levedura, contaminação esta considerada a principal responsável pelos problemas encontrados na fermentação alcoólica (LIMA et al., 2001). A floculação é um agrupamento das células de peso muitas vezes superior ao da célula individualizada. Quando ocorre uma interrupção na agitação da fermentação esses flocos se tornam bolhas de gases. Este fenômeno compromete a conversão de açúcar em álcool e CO₂, pela redução da superfície de contato direto entre as células e o meio (MUTTON et al., 2004).

3.5 Microrganismos contaminantes

Os microrganismos mais comumente encontrados no caule da cana são bactérias dos gêneros *Flavobacterium*, *Xanthomonas*, *Pseudomas*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Leuconostoc*, *Bacillus* e *Corynebacterium*, além de bolores e leveduras como, *Candida*, *Saccharomyces*, *Torula* e *Pichia* (GALLO, 1989).

A ação dessas bactérias consegue produzir ácidos orgânicos e gomas que são denominadas dextranas, a partir disso a viabilidade das células de leveduras é afetada negativamente fazendo com que as leveduras viáveis tenham menor tempo de duração na dorna de fermentação, tendo que ser substituídas por outras, viáveis (SOUZA, 2009).

Segundo Gallo (1989) dentre os problemas causados pela ação das bactérias estão também as fermentações indesejáveis, que são elas: acética, láctica, butírica, dextrana e da levana. A fermentação acética é proveniente às espécies *Acetobacter aceti*, *A. pasteurianum*, *A. acetosum*, *A. kuntzegianum* e *A. suboxydans*; a fermentação láctica principalmente às espécies *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei* e *L. leischmanii* e *Streptococcus lactis*; a fermentação butírica às espécies: *Clostridium pasteurianum* e *C. saccharobutyricum*; a fermentação da dextrana a *Leuconostoc mesenteroides* e a fermentação da levana às espécies dos gêneros *Bacillus*, *Aerobacter* e *Streptococcus*.

3.6 Impactos no rendimento

A diminuição do rendimento fermentativo em consequência da presença de bactérias lácticas é evidente, além da floculação, que ocasiona a redução na velocidade de fermentação, quando uma molécula de glicose é convertida em duas de ácido láctico, duas moléculas de álcool deixaram de ser produzidas pela levedura. Surgem também inconvenientes como entupimento

de tubulações, aumento de fundo de dorna, dificuldades do tratamento ácido do creme de levedura, além de reduzir a eficiência das centrífugas e dos antimicrobianos utilizados (SOUZA, 2009). Em consequência de descontrole do teor de acidez é comprovado a diminuição no rendimento fermentativo. Gallo (1989) realizou um estudo correlacionando acidez, contaminação e rendimento fermentativo, a Tabela 2 apresenta os dados correlacionados de acidez, bactérias e rendimento fermentativo.

Tabela 2 – Correlação entre acidez contaminação e rendimento.

Acidez (g/L)	Bactérias (UFC/mL)	Rendimento fermentativo
0,92	8,16E+06	79,34
0,83	6,47E+06	81,57
0,60	4,50E+06	83,58
0,58	4,24E+06	88,87
0,56	3,41E+05	89,85
0,47	2,77E+05	90,18
0,46	1,31E+05	90,53
0,46	8,27E+05	90,55
0,43	8,00E+05	90,62
0,42	7,47E+05	90,65
0,42	6,00E+05	90,70
0,40	3,50E+05	91,02
0,31	3,20E+05	91,18
0,30	3,00E+05	91,87
0,28	2,00E+05	91,97
0,28	1,40E+05	92,04

Fonte: GALLO, 1989.

Conforme os dados apresentados na Tabela 2, testifica-se que tanto a acidez como a contaminação bacteriana em níveis elevados afetam o rendimento fermentativo. As concentrações de bactérias acima de $3,0 \times 10^6$ apresentaram uma maior influência, tanto no aumento da acidez, como na queda do rendimento fermentativo.

Estudos revelam que a contaminação bacteriana leva a uma queda no rendimento fermentativo na faixa de 14 a 90% do teórico, quando a concentração de bactérias na fermentação atinge níveis de 10^8 a 10^9 células/ml, verificando ainda quedas de 10 a 40% no rendimento, associados a níveis de 10^7 a 10^8 células/mL (OLIVA-NETO, 1995).

3.7 Formas de controle da contaminação

Considerando a importância da fermentação, ao longo dos anos foram desenvolvidos estudos e formas para controlar o problema da contaminação, podem ser utilizados antissépticos e antibióticos que atuam de forma diferente, agindo sobre um ou mais grupos de

microrganismos. É necessário buscar de maneira eficiente controlar os parâmetros pH, temperatura, °Brix e estresse osmótico, cujos quais influenciam direta e indiretamente na proliferação dos microrganismos que trazem malefícios a fermentação e consequentemente ao seu rendimento (BREGAGNOLI, 2006).

Vale salientar que, o cuidado inicial na etapa de plantio, colheita, corte e preparo da cana é de grande importância para evitar uma futura contaminação. O controle microbiológico no setor sucroalcooleiro deve receber uma evidência maior, tendo em vista que análises podem ser realizadas desde o processo de lavagem da cana, passando pelos caldos primário e misto, caldo antes da sulfitação e calagem, caldo decantado, mosto, mel, xarope, água de diluição, caldo cru, mosto antes ou após os trocadores de calor, até durante o processo de início e final da alimentação da dorna e no leite de leveduras ou cuba (AMORIM, 1996).

4 Considerações finais

A produção de etanol é de suma importância para a atualidade, não só por sua utilização em bebidas alcoólicas, combustível renovável, e o aproveitamento de seus subprodutos na indústria, mas também como geração de emprego e renda para diversas famílias. Sendo assim, nota-se que o controle dos fatores, tais como: pH, temperatura, pressão osmótica e °Brix, é essencial para melhorar o rendimento fermentativo do álcool. Assim, caso haja o estresse da levedura, é possível se remediar através de suportes nutricionais para mantê-la em conforto no rendimento. Ainda assim, é imprescindível a utilização de técnicas adequadas de assepsia, pois o meio fermentativo é muito sensível aos contaminantes.

Por fim, conclui-se que os resultados adquiridos possibilitaram uma maior compreensão sobre o rendimento fermentativo, assim como da produção de etanol, fatores microbianos e formas de controle de contaminação.

Referências bibliográficas

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

ANGELIS, D. F. **Contaminação bacteriana na fermentação alcoólica**. Centro de Ciências Agrárias- UFSCar, São Carlos, 2010.

ANP–Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Dados Estatísticos**: Produção de derivados. 2018. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/dados-estatisticos>. Acesso em: 10 de jul. de 2019.

BACCHI, M.R.P. Formação de preços no setor sucroalcooleiro da região Centro-Sul do Brasil: relação com o mercado de combustível fóssil. In: Encontro Nacional de Economia, **Anais...** Natal - RN p.33, 2005.

BREGAGNOLI, M. **Qualidade e produtividade de cultivares de batata para indústria sob diferentes adubações**, Piracicaba, SP, 2006. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

CAMARA, G.M.S.; OLIVEIRA E. A. M. **Produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: ESALQ/USP/Departamento de Agricultura/FEALQ, 1993. 242p.

CASAGRANDE, A. A. **Tópicos de morfologia e fisiologia da cana-de-açúcar**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. p.157.

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

CEPEA. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - ESALQ/USP. **Mercado do trabalho do agronegócio brasileiro: dinâmica de dos empregos formais na agroindústria sucroenergética**; 2018. Disponível em http://www.cepea.esalq.usp.br/agromensal/2011/06_junho/Pecuaria.htm. Acessado em 24 de jul. de 2019.

CHIEPPE JÚNIOR, J. B. **Tecnologia e Fabricação do Alcool**. Universidade Federal de Santa Maria, IFG-Inhumas. Rede-etec Brasil. Santa Maria, Goiás, 2012.

GALLO, C. R. **Determinação da microbiota bacteriana de mosto e de dornas na fermentação alcoólica**, Campinas, SP, 1989. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1989.

KOHLHEPP, G. **Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil**. Estud. Av, São Paulo, vol.24, n.68, p. 223-253, jan. 2010.

LAKATOS, E. M.; MARCONI, M. de A. **Fundamentos de metodologia científica**. 5. ed. São Paulo: Atlas, 2003. 311p.

LIMA, U. A., BASSO, L. C., AMORIM, H. V. Produção de Etanol. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. (Coord.). **Biotechnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**, v.3, capítulo 1, São Paulo, SP, Ed.Edgard Blucher, 2001.

MELO, F. H.; FONSECA, E. G. **Proálcool, energia e transportes**. São Paulo: Editora Pioneira/Fundação Instituto de Pesquisas Econômicas, 1981. 163 p.

MELO, H. F. **Resposta ao estresse ácido em leveduras da fermentação alcoólica industrial**. Recife, 2006, Tese (Doutorado), Biologia de Fungos do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE, 2006.

MORAES, M., BACCHI, M.. Etanol: do início às fases atuais de produção. **Revista de Política Agrícola**, São Paulo, v. 23, n.4, p 5-22, fev. 2014.

MUTTON, M. J. R., SOUZA, M. A. C. Flocculação de leveduras por *Lactobacillus fermentum* em processos industriais de fermentação alcoólica avaliada através de técnica fotométrica. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.4, p. 893-898, Jul./Ago. 2004.

MUTTON, M.J.R. Reflexos da qualidade da matéria-prima sobre a fermentação etanoica. In: Workshop sobre: “Produção de etanol: qualidade de matéria-prima”. **Anais...** Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil, 2003.

OLIVA-NETO, P. **Estudo de diferentes fatores que influenciam o crescimento da população bacteriana contaminante da fermentação alcoólica por leveduras**. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 1995.

SANTOS, A. R. **Metodologia científica: a construção do conhecimento**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Editora DP&A, 2000. 158p.

SOUZA, C. S. **Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de *S. cerevisiae***. São Paulo, 2009, Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia (USP), Instituto Butantan (IPT), 2009.