
Faculdade de Tecnologia Nilo De Stéfani
Trabalho de Graduação

Curso de Tecnologia em Biocombustíveis

ALTERNATIVA NATURAL PARA O CONTROLE DE CONTAMINANTES NA PRODUÇÃO DE BIOETANOL

MICHELE CÉLICO DA SILVA

Orientador: Profª Drª Mariana Carina Frigeri Salaro
Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Lucas Madaleno
Coorientador: Arlindo José Lima de Carvalho

**Trabalho apresentado a Faculdade de Tecnologia Nilo
De Stéfani - Jaboticabal, como um dos requisitos para
obtenção do título de Tecnólogo em Biocombustíveis.**

Jaboticabal – SP
2º Semestre/2019

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Silva, Michele Célico da

S586o Alternativa natural para o controle de contaminantes na produção de bioetanol / Michele Célico da Silva. — Jaboticabal: Fatec Nilo De Stéfani, 2019.
23p.

Orientador: Prof^a Dr^a Mariana Carina Frigeri Salaro

Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Lucas Madaleno

Coorientador: Arlindo José Lima de Carvalho

Trabalho (graduação) – Apresentado ao Curso de Tecnologia em Biocombustíveis, Faculdade de Tecnologia Nilo De Stéfani - Jaboticabal, 2019.

1.Biocida. 2. Extratos Vegetais. 3 Fermentação. I. Salaro, M. C. F. II. Alternativa natural para o controle de contaminantes na produção de bioetanol.

Faculdade de Tecnologia Nilo De Stéfani
Trabalho de Graduação

Curso de Tecnologia em Biocombustíveis

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ALTERNATIVA NATURAL PARA O CONTROLE DE
CONTAMINANTES NA PRODUÇÃO DE BIOETANOL.

AUTOR: MICHELE CÉLICO DA SILVA

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. MARIANA CARINA FRIGERI SALARO

COORIENTADOR: PROF. DR. LEONARDO LUCAS MADALENO

COORIENTADOR: ARLINDO JOSÉ LIMA DE CARVALHO

Trabalho de Graduação aprovado pela Banca Examinadora como parte das exigências para conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Biocombustíveis, apresentado à Fatec-JB para a obtenção do título de Tecnólogo.

PROF^a DR^a MARIANA CARINA FRIGERI SALARO

PROF. ME. JOSÉ HENRIQUE FACCO

PROF^a ME^a RITA DE CASSIA VIEIRA MACRI

Data da apresentação: 27 de novembro de 2019.

ALTERNATIVA NATURAL PARA O CONTROLE DE CONTAMINANTES NA PRODUÇÃO DE BIOETANOL

NATURAL ALTERNATIVE FOR CONTROL OF CONTAMINANTS IN BIOETHANOL PRODUCTION

Michele Célico da Silva ⁽¹⁾

Resumo

Fermentação industrial é um processo de transformação da glicose presente no mosto em etanol por meio das leveduras. Durante esse processo podem ocorrer diversos tipos de contaminação que prejudicam a obtenção do produto, entre elas, a contaminação microbiana. Assim, procurando contribuir com esse problema significativo do setor sucroenergético foi elaborado o presente projeto de extratos naturais, quais busca à redução da população microbiana sem, no entanto, alterar o rendimento do processo fermentativo e, ainda promovendo fermentações mais puras com a redução do uso de antibióticos, os quais acarretam gastos excessivos e sérios problemas ambientais. Os ensaios foram realizados com as plantas do cerrado *Astronium fraxinifolium*, *Arrabidaea brachypoda*, *Bauhinia holophylla*, *Byrsonima intermedia*, *Machaerium hirtum*, *Myrcia bella* e *Rizophora mangle*.

Palavras-chave: Biocida. Extratos Vegetais. Fermentação.

Abstract

*Industrial fermentation is a process of transforming the glucose present in the wort in ethanol through yeast. During this process several types of contamination can occur that hinder the obtaining of the product, including microbial contamination. Thus, seeking to contribute to this significant problem of the sugar-energy sector, the present project of natural extracts was elaborated, which seeks to reduce the microbial population without, however, altering the yield of the fermentation process and, still promoting purer fermentations with the reduction of use. antibiotics, which entail excessive spending and serious environmental problems. The assays were performed with plants of the *Astronium fraxinifolium*, *Arrabidaea brachypoda*,*

¹ Graduanda em Tecnologia em Biocombustíveis pela Fatec “Nilo De Stéfani” - Jaboicabal. Endereço eletrônico: michelecelico2015@gmail.com

Bauhinia holophylla, *Byrsonima intermedia*, *Machaerium hirtum*, *Myrcia bella* and *Rizophora mangle* plants.

Keywords: *biocide. Vegetable extracts. Fermentation.*

1 Introdução

A obtenção de etanol ocorre, principalmente através do processo de fermentação, envolvendo a reação de oxidação dos monômeros de açúcar, resultando, principalmente em etanol e gás carbônico (DELLA-BIANCA e colab., 2013). Os principais micro-organismos responsáveis pelo processo são fungos unicelulares, conhecidos como leveduras, em especial a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (MOHD AZHAR e colab., 2017). No Brasil o caldo de cana e o melaço são as principais matérias-primas utilizadas na preparação do mosto, o qual gera um ambiente com teor de açúcar e pH ajustados para favorecer o processo fermentativo e inibir o processo respiratório nas leveduras (DELLA-BIANCA e colab., 2013). Neste ambiente fica propício não só o desenvolvimento do micro-organismo produtor, mas também o desenvolvimento de uma série de micro-organismos contaminantes como bactérias e leveduras selvagens (MUTHAIYAN e colab., 2011; BECKNER e colab., 2011).

As contaminações podem ocorrer em todas as fases do processo industrial (MUTHAIYAN e colab., 2011; OLIVEIRA e colab., 2013) e podem causar perda de açúcar, floculação do fermento, formação de goma, inibição e morte das leveduras, acúmulo de glicerol, formação de biofilmes (RAVANELI e colab., 2011; DONG e colab., 2015; RICH e colab., 2015).

A presença de contaminantes gera grande preocupação e o seu controle é de fundamental importância (NAVES e colab., 2010). Atualmente, uma das alternativas para controlar a proliferação bacteriana é feita através do tratamento com ácido sulfúrico. Para valores muito altos de contaminação é recomendado a utilização de antibióticos (MUTHAIYAN e colab., 2011; FREITAS e ROMANO, 2013), porém muitos desses, como o

Kamoran® um dos mais utilizados neste setor, frequentemente deixa resíduos nas leveduras, prejudicando o comércio deste subproduto (FREITAS e ROMANO, 2013).

Desta forma a busca por alternativas de controle tem sido cada vez mais constante (CAETANO e MADALENO, 2011; MADALENO e colab., 2016; RICH e colab., 2018). Procurando contribuir neste cenário o presente projeto propõe a busca de alternativas que contribuam para maior efetividade do controle da contaminação no processo fermentativo.

O estudo de plantas tem contribuído significativamente na identificação de atividades terapêuticas de interesse (PETROVSKA, 2012; ABU-DARWISH E EFFERTH, 2018).

Extratos vegetais bioativos são utilizados em diversas áreas como saúde, agricultura, pecuária entre outras, onde vários autores estudam atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente à bactérias de interesse (SALES e colab., 2014; FURTADO e colab., 2015). O Brasil por ser um país de dimensões continentais, possui diversos biomas com enorme biodiversidade, podendo ser explorado imensamente.

Figura 1- *Astronium fraxinifolium* ou popularmente conhecida como “Gonçalo-alves”



Fonte: Antonino Campos de Lima, 2015

Figura 2- *Byrsonima intermedia* ou popularmente conhecida como “Murici-mirim”



Fonte: Mauricio Kuhlmann, 2011

Figura 3 – *Myrcia bella*. Aspecto de indivíduo (esquerda) e ramo com frutos jovens(direita)



Fonte: Durigan, 2004

2 Material e Métodos ou Desenvolvimento

2.1 – Local de realização dos experimentos

Os experimentos foram realizados nos Laboratórios da Fatec – Jaboticabal.

2.2 – Obtenção dos extratos vegetais

Os extratos vegetais foram obtidos pela maceração na proporção 1:10 em etanol 70% por 5 dias. Após a filtração, foram realizados os procedimentos de concentração em rota-evaporador e liofilização para eliminação do etanol e da água, respectivamente. O extrato obtido no final do processo será armazenado em refrigeração em frasco âmbar. Para as análises, os extratos vegetais serão solubilizados em água.

2.3 – Determinação da solubilidade em água dos extratos

A determinação da solubilidade em água foi realizada transferindo determinada quantidade dos extratos para tubo de ensaio ou erlenmeyer onde foram adicionados volumes sucessivos de solvente, exatamente medidos, utilizando o agitador mecânico (vórtex) para completa homogeneização e solubilização das amostras. Em seguida, foi centrifugada uma alíquota por 5 minutos a 100 rpm para confirmação da ausência de material suspenso. A solubilidade foi expressa conforme os termos descritivos da Farmacopéia Brasileira 5ª edição

2.4 – Obtenção das leveduras e dos contaminantes microbianos do processo fermentativo

As leveduras e os contaminantes microbianos foram isolados à partir do material da cuba de tratamento do fermento de três usinas diferentes da região de Jaboticabal. Os micro-organismos foram crescidos a 32°C em meio YPD (extrato de levedura 10g/L, Dextrose 20g/L e Peptona 20g/L) para o isolamento das leveduras em caldo nutriente (extrato de carne 3g/L e peptona 5g/L) para isolamento das bactérias. Quando atingiu absorvância 600nm = 0,3 as amostras foram centrifugadas a 1.600xg por 5 minutos. O precipitado foi suspenso em glicerol 20% estéril e distribuído em tubos de microcentrífugas resistentes a baixas temperaturas (criotubos). Os micro-organismos foram estocados em ultrafreezer até o momento de utilização.

2.5 – Avaliação do potencial antibacteriano dos extratos vegetais

A atividade antimicrobiana dos extratos vegetais obtidos foi avaliada método hole plate de difusão em ágar (SILVA, 2012). Para os ensaios os micro-organismos foram crescidos em caldo Mueller-Hinton (extrato bovino 2g/L, Hidrolizado ácido de caseína 17,5g/L e amido 1,5g/L) até que a cultura atingir a fase exponencial, e posteriormente diluídos até densidade ótica correspondente ao padrão 0,5 da escala de Mac-Farland ($OD_{620}=0,10$). Após isso, 100 µL da suspensão microbiana foram espalhados com alça de Drigalsky em placas de ágar Mueller Hinton (Caldo anteriormente descrito adicionado de 2% de ágar). Em seguida furos de aproximadamente 5 mm de diâmetro e 3 mm de altura foram feitos no ágar e 30 µL dos extratos adicionados. Como controles foram utilizados água e Amoxicilina (1µg/µL). Todos os testes foram realizados em triplicata.

3 Resultados e Discussão

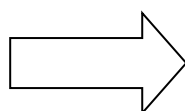
Inicialmente, foi realizada a preparação dos extratos vegetais como descrito anteriormente (Figura 4).

Figura 4 – Obtenção dos extratos vegetais



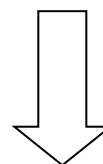
Maceração no etanol 70 % por cinco dias
ou em água por 3 dias

Fonte: Arquivo COMINAT



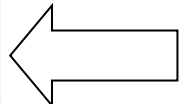
Filtração

Fonte: Arquivo COMINAT



Liofilização

Fonte: Arquivo COMINAT



Rotaevaporador

Fonte: Arquivo COMINAT

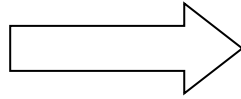
Os extratos vegetais foram solubilizados e posteriormente adicionados em orifícios presentes na placa de cultura como esquematizado na Figura 5. A sensibilidade ao extrato foi verificada pela formação de zonas (circunferências) sem crescimento, denominadas halos de inibição do crescimento microbiano (Figura 6).

Figura 5– Padronização do extrato



Extrato vegetal

Fonte: Arquivo COMINAT



Extrato vegetal + solvente

Fonte: Arquivo COMINAT



Método *hole plate*

Fonte: Arquivo COMINAT

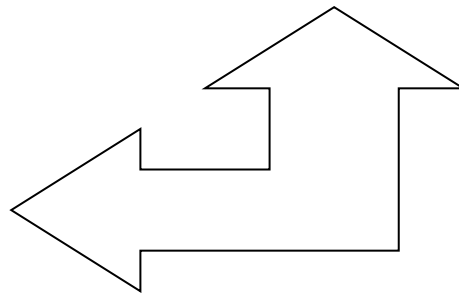


Figura 6 – Observação e determinação do diâmetro dos halos de inibição obtidos



Fonte: Arquivo COMINAT

A seguir, foi realizado um teste utilizando a concentração 150mg/mL do extrato hidroalcoólico, diluído em água, DMSO ou etanol hidratado, com o objetivo de verificar qual seria o solvente mais adequado. Cada extrato foi testado para os micro-organismos padrões (Tabela 1) e para os isolados do processo fermentativo realizado na Fatec e nas três usinas sucroenergéticas da região de Jaboatão, separadamente (Tabela 2). As amostras que apresentaram inibição, tiveram seus halos medidos através do diâmetro da circunferência obtida.

Tabela 1 – Halos de inibição obtidos para micro-organismos padrões (mm)

Amostra	Solvente	Halos obtidos	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>A. fraxinifolium</i> Pós seca	Água	13,0	11,0
	DMSO	16,0	14,0
	Etanol	12,0	12,0
	Água	14,0	11,0
	DMSO	12,5	12,0
	Etanol	12,0	9,5
<i>B. holophylla</i>	Água	11,0	9,0
	DMSO	11,0	11,0
	Etanol	11,0	10,0
<i>B. intermedia</i>	Água	14,0	*
	DMSO	16,0	15,0
	Etanol	14,0	12,0
<i>M. hirtum</i>	Água	*	*
	DMSO	11,0	*
	Etanol	10,0	10,0
<i>M. bella</i>	Água	12,0	9,0
	DMSO	15,0	12,0
	Etanol	15,0	12,0
<i>R. mangle</i>	Água	14,0	*
	DMSO	16,0	10,0
	Etanol	12,0	11,0
Controles			

Água	*	*
DMSO	*	*
Etanol	12,0	15,0

*Não ocorreu formação de halos ou apresentaram halos < 7mm.

Tabela 2 –Halos de inibição obtidos (mm) para micro-organismos isolados do processo fermentativo utilizando extratos hidroalcóolicos diluídos em água, DMSO e etanol.

Amostra	Solvente	Halos obtidos			
		FATEC	Usina A	Usina B	Usina C
<i>A. fraxinifolium</i> Pós seca	Água	11,0	15,0	15,0	12,0
	DMSO	14,0	15,0	13,0	14,0
	Etanol	12,0	9,0	16,0	15,0
	Água	10,0	11,0	11,0	10,0
	DMSO	11,0	16,0	12,0	19,0
	Etanol	10,0	14,0	10,0	11,5
<i>B. holophylla</i>	Água	*	13,0	8,5	14,0
	DMSO	11,0	12,0	11,0	17,0
	Etanol	9,0	12,0	11,0	16,5
<i>B. intermedia</i>	Água	*	15,0	*	11,0
	DMSO	13,0	15,0	15,0	13,0
	Etanol	15,0	16,0	12,0	10,0
<i>M. hirtum</i>	Água	*	9,0	11,0	10,0
	DMSO	*	*	13,0	*
	Etanol	9,0	11,0	10,0	11,0
<i>M. bella</i>	Água	9,5	12,0	10,0	14,0
	DMSO	13,0	14,0	13,0	17,0
	Etanol	11,0	12,0	11,0	17,0
<i>R. mangle</i>	Água	*	9,0	*	*
	DMSO	8,0	9,0	9,0	8,0
	Etanol	11,0	11,0	12,0	11,0
Controles	Água	*	*	*	*
	DMSO	*	*	*	*
	Etanol	12,0	15,0	12,0	15,0

*Não ocorreu formação de halos ou apresentaram halos < 7mm.

O etanol não se apresentou como solvente indicado, pois apresentou halo mesmo quando não acrescentado de extrato vegetal. Tanto a água quanto o DMSO não revelaram halo de inibição sendo indicados como ótimos solventes. Foi possível verificar que os extratos apresentaram atividade inibitória quando diluídos em água, embora em alguns casos apresentando ação menor que quando diluído com DMSO o que pode ser resolvido com uma adequação da concentração testada. O fato do extrato apresentar ação quando diluído em água aumenta o interesse do setor produtivo, uma vez que este solvente é abundante e relativamente diminui o custo da produção.

Como continuidade das análises foi determinada a solubilidade os extratos vegetais obtidos por extração hidroalcóolica e aquosa de *A. fraxinifolium* pós chuva, *B. intermedia* e *M. bella*.

Na Tabela 3 é possível observar os resultados da determinação da solubilidade.

Tabela 3 – Solubilidade dos extratos vegetais em termos descritivos

Extrato vegetal		Solubilidade observada	
		(mg/mL)	Termo descritivo
<i>A. fraxinifolium</i> Pós chuva	EtOH	1:200	Pouco solúvel
	Aquoso	1:40	Ligeiramente solúvel
<i>B. intermedia</i>	EtOH	1:150	Pouco solúvel
	Aquoso	1:20	Solúvel
<i>M. bella</i>	EtOH	1:100	Ligeiramente solúvel
	Aquoso	1:20	Solúvel

A seguir, foram realizados novos experimentos com extratos (150mg/mL) hidroalcólico e aquoso apenas com os extratos *A. fraxinifolium* pós chuva, *B. intermedia*, *M. bella*, que apresentaram os melhores resultados no experimento anterior. As análises

utilizaram água como solvente e foram novamente avaliados os micro-organismos padrões (Tabela 4) e isolados (Tabela 5).

Tabela 4 – Halos de inibição obtidos para micro-organismos padrões (mm)

Amostra	Extrato	Halos obtidos	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>A. fraxinifolium</i>	EtOH	11,3	10,3
	Aquoso	10,7	9,0
<i>B. intermedia</i>	EtOH	12,0	11,0
	Aquoso	13,3	11,0
<i>M. bella</i>	EtOH	12,0	11,3
	Aquoso	10,7	10,7

*Não ocorreu formação de halos ou apresentaram halos < 7mm.

Tabela 5 – Halos de inibição obtidos (mm) para micro-organismos isolados do processo fermentativo utilizando extratos hidroalcóolicos e aquosos diluídos em água.

Amostra	Extrato	Halos obtidos			
		FATEC	Usina A	Usina B	Usina C
<i>A. fraxinifolium</i>	EtOH	10,0	11,3	11,0	11,7
	Aquoso	9,7	9,7	9,7	11,0
<i>B. intermedia</i>	EtOH	11,0	11,6	9,6	10,3
	Aquoso	12,3	12,6	10,6	12,6
<i>M. bella</i>	EtOH	13,0	10,3	10,0	12,6
	Aquoso	11,6	11,3	10,3	11,0
Controle	Água	*	*	*	*

*Não ocorreu formação de halos ou apresentaram halos < 7mm.

Foi possível observar que os extratos de *Astronium fraxinifolium* apresentaram inibição dos dois micro-organismos padrões, sendo que para *S. aureus* apresentaram halo de inibição superior ao apresentado para *E. coli* (Tabela 4). Salvat, et. al., 2004, estudando extrato de *A. balansae* observou maior atividade em *S. aureus* do que em *E. coli*. Foi possível observar também a inibição dos quatro grupos de micro-organismos isolados (Tabela 5). Em todas as análises empregando-se essa espécie vegetal foi verificado que o extrato hidroalcóolico mostrou-se mais efetivo. A ação antimicrobiana observada em consonância com estudos de outras espécies do gênero *Astronium*, as quais mostraram potencial antimicrobiano (SALVAT, et. al., 2004; COSTA, et. al., 2010).

O extrato de *Byrsonima Intermedia*, apresentou maior ação sobre a bactéria *S. aureus* em relação à *E. coli*, porém a ação foi mais efetiva para o extrato aquoso (Tabela 4). Essa maior efetividade do extrato aquoso foi novamente observada sobre os quatro grupos de micro-organismos isolados (Tabela 5), apresentando os maiores valores de halo obtido entre todas as espécies vegetais avaliadas. Santos et al., 2018, utilizando extrato metanólico deste vegetal também observou a presença de ação antimicrobiana nos mesmos micro-organismos padrões utilizados no presente estudo.

A atividade antimicrobiana observada pode ser favorecida pela presença de flavonoides, taninos e saponinas evidenciadas nos extratos de *A. fraxinifolium* e *Byrsonima intermedia* (CARDOSO et. al., 2014).

Para o extrato de *Myrcia bella* foi possível verificar que também foi mais ativo para inibir o crescimento da bactéria padrão *S. aureus* (Tabela 4) e revelou ação nos quatro grupos de micro-organismos isolados (Tabela 5). Jesus et al., 2016, estudando a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Myrcia ovata* observou também maior atividade em *S. aureus* que em *E. coli*.

Cascaes et al., 2015, destaca que estudos fitoquímicos revelaram a presença predominante de mono- e sesquiterpenos, além de flavonóides, taninos, derivados de acetofenona e triterpenos neste gênero. Flavonóides, glicosídeos e ácidos fenólicos foram evidenciados por Saldanha et al. 2013, na espécie *M. bella*. Santos et. al., 2018, também verificou atividade antimicrobiana de extratos hidroalcóolico de *M. bella* desta e de outras

espécies dentro do mesmo gênero e concluiu que a atividade observada está intimamente relacionada com a composição fenólica dessas plantas.

Arias et al., 2004, estudando extratos hidroalcóolicos e aquoso de *Acacia aroma* observou atividade antimicrobiana similar entre eles.

O fato de observar maior atividade para a bactéria padrão *S. aureus*, com valores parecidos com os observados com os micro-organismos isolados pode significar que os extratos vegetais estudados têm atividade mais efetiva em bactérias gram-positivas.

4 Conclusões

Foi possível observar que tanto os extratos aquosos quanto os hidroalcóolicos apresentam solubilidade em água, sendo possível a substituição do solvente DMSO por água e foram capazes de inibir as amostras bacterianas testadas, sendo que os melhores valores encontrados para inibição de micro-organismos foram para *A. fraxinifolium* *B. intermedia* e *M. bella*. A continuidade do estudo será importante para a utilização dos extratos vegetais nas etapas do processo industrial.

5 Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por me ajudar a alcançar meus objetivos.

Agradeço minha mãe, meu pai, meu irmão, meu namorado pelo incentivo de todos os dias.

Agradeço a Professora Mariana Carina Frigeri Salaro, que me aceitou como orientada, com toda sua dedicação e ajuda para a realização desse trabalho!

Agradeço aos professores participantes da banca examinadora que dividiram comigo este momento tão importante e esperado: Prof^a Me^a Rita de Cassia Vieira Macri e Prof. Me. José Henrique Facco.

Agradeço meus co-orientadores pelo apoio.

Agradeço todos os Professores que me auxiliaram até aqui Obrigada cada um de vocês.

Agradeço a equipe da secretaria acadêmica, aos vigilantes pela segurança e as moças da limpeza pelo ambiente sempre limpo e agradável.

Agradeço aos meus amigos, pelo incentivo e pelo companheirismo desses três anos que passamos juntos, foram mais que especiais.

Muito Obrigada!!

Referências

- ABU-DARWISH, Mohammad S.; EFFERTH, Thomas. Medicinal plants from near east for cancer therapy. *Frontiers in Pharmacology*, v. 9, p. 56, 2018.
- ARIAS, Myriam. E. et al. Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Acacia aroma* Gill. ex Hook et Arn. *Life Sciences*, v. 75, n. 2, p. 191-202, 2004.
- AZHAR, Siti Hajar Mohd et al. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports*, v. 10, p. 52-61, 2017.
- BECKNER, Margaret et al Microbial contamination of fuel ethanol fermentations. *Letters in Applied Microbiology*, v. 53, n. 4, p. 387-394, 2011.
- CAETANO, Alessandra Carolina Gonçalves; MADALENO, Leonardo Lucas. Controle de contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica com a aplicação de biocidas naturais. *Ciência & Tecnologia Fatec-JB*, v. 2, n. 1, 2011.
- CARDOSO, Cássia Regina Primila et al. Controle de qualidade preliminar de *astronium fraxinifolium*, uma planta promissora do cerrado brasileiro. *Ciência & Tecnologia Fatec-JB*, v. 6, n. 1, 2014.
- COSTA, Edja Maria Melo de Brito et al. Estudo in vitro da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 46, n. 3, p. 175-180, 2010.
- DELLA-BIANCA, Bianca Eli et al. What do we know about the yeast strains from the Brazilian fuel ethanol industry? *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 97, n. 3, p. 979-991, 2013.
- DONG, Shi-Jun et al.. Regulation of *Lactobacillus plantarum* contamination on the carbohydrate and energy related metabolisms of *Saccharomyces cerevisiae* during bioethanol

fermentation. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, v. 68, p. 33-41, 2015.

DURIGAN, G.; BAITELLO, J.B.; FRANCO, G.A.D.C.; SIQUEIRA, M.F. Plantas do cerrado paulista. Imagens de uma paisagem ameaçada. São Paulo: Páginas e Letras Editora e Gráfica, 2004.

FREITAS, Marcela Domingues; ROMANO, Flávia Piacentini. Tipos de contaminações bacterianas presentes no processo de fermentação alcoólica. Bioenergia em Revista: Diálogos, v. 3, n. 2, p. 29-37, 2013.

FURTADO, Jéssika Medeiros et al. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *Eucalyptus globulus*, *Justicia pectoralis* e *Cymbopogon citratus* frente a bactérias de interesse. Journal of Health Sciences, v. 17, n. 4, 2015.

JESUS, Isabela Cristina et al. Myrcia ovata Cambessedes essential oils: A proposal for a novel natural antimicrobial against foodborne bacteria. Microbial Pathogenesis, v. 99, p. 142-147, 2016.

KUHLMANN, M. *Byrsonima intermedia* Frutos e Sementes do Cerrado Atrativos para a Fauna. Rede de Sementes do Cerrado, 2012. Disponível em: <<https://www.flickr.com/photos/mercadanteweb/8290067710/in/album-72157632287684793/>>. Acesso em: 21 novembro, 2019.

LIMA, A. O Gonçalves-alves. Disponível em: <<http://curiosidadesvegetais.blogspot.com/2015/10/o-goncalo-alves.html>>. Acesso em: 21 novembro, 2019.

MADALENO, Leonardo Lucas et al. Use of antimicrobials for contamination control during ethanolic fermentation. Científica, v. 44, n. 2, p. 226-234, 2016.

MUTHAIYAN, Arunachalam; LIMAYEM, Alya; RICKE, Steven C. Antimicrobial strategies for limiting bacterial contaminants in fuel bioethanol fermentations. Progress in Energy and Combustion Science, v. 37, n. 3, p. 351-370, 2011.

NAVES, Raquel Ferreira et al. Contaminação microbiana nas etapas do processamento e sua influência no rendimento fermentativo em usinas alcooleiras. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 6, n. 11, p. 1-16, 2010.

OLIVEIRA, J. A. et al. Radiação ultravioleta no controle dos micro-Organismos na água de diluição e no mosto de melão. STAB. 32. 1., 2013.

PETROVSKA, Biljana Bauer. Historical review of medicinal plants' usage. Pharmacognosy Reviews, v. 6, n. 11, p. 1, 2012

RAVANELI, Gisele Cristina et al. Spittlebug impacts on sugarcane quality and ethanol production. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 46, n. 2, p. 120-129, 2011.

RICH, Joseph O. et al. Biofilm formation and ethanol inhibition by bacterial contaminants of biofuel fermentation. Bioresource Technology, v. 196, p. 347-354, 2015.

RICH, Joseph O. et al. Resolving bacterial contamination of fuel ethanol fermentations with beneficial bacteria—An alternative to antibiotic treatment. Bioresource Technology, v. 247, p. 357-362, 2018.

SALDANHA, Luiz et al. Characterization of flavonoids and phenolic acids in *Myrcia bella* Cambess. Using FIA-ESI-IT-MSn and HPLC-PAD-ESI-IT-MS combined with NMR. Molecules, v. 18, n. 7, p. 8402-8416, 2013.

SALES, Gleilton Weyne Passos et al. Efeito antimicrobiano e modulador do óleo essencial extraído da casca de frutos da *Hymenaea courbaril* L. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 35, n. 4, 2015.

SALVAT, A. et al. Antimicrobial activity in methanolic extracts of several plant species from northern Argentina. Phytomedicine, v. 11, n. 2-3, p. 230-234, 2004.

SANTOS, Catarina et al. Antioxidative, Antiproliferative and Antimicrobial Activities of Phenolic Compounds from Three Myrcia Species. *Molecules*, v. 23, n. 5, p. 986, 2018.