

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 12/12/2018.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA CLARIFICAÇÃO NA MICROBIOTA E QUALIDADE
DA CACHAÇA ORGÂNICA**

Vitor Teixeira

Tecnólogo em Biocombustíveis

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA CLARIFICAÇÃO NA MICROBIOTA E QUALIDADE
DA CACHAÇA ORGÂNICA**

Vitor Teixeira

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

2016

T266e Teixeira, Vitor
Efeito da clarificação na microbiota e qualidade da cachaça orgânica / Vitor Teixeira. -- Jaboticabal, 2016
viii, 63 p. 13 il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientadora: Márcia Justino Rossini Mutton
Banca examinadora: Everlon Cid Rigobelo, Francisco Vicente Gaiotto Cleto
Bibliografia

1. Cana-de-açúcar. 2. Antimicrobiano. 3. *Moringa oleifera* Lamarck. 4. Matéria-prima. 5. *Saccharomyces cerevisiae*. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 633.61

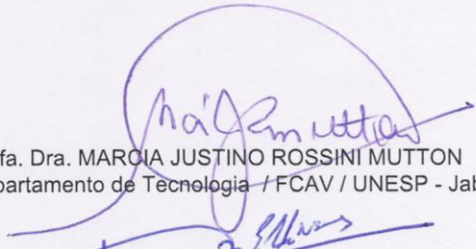
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EFEITO DA CLARIFICAÇÃO NA MICROBIOTA E QUALIDADE DA CACHAÇA
ORGÂNICA


AUTOR: VÍTOR TEIXEIRA

ORIENTADORA: MARCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON

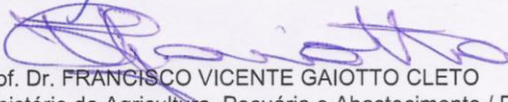
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em MICROBIOLOGIA
AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. EVERLONCID RIGOBELO
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. FRANCISCO VICENTE GAIOTTO CLETO
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento / Delegacia de Ribeirão Preto/SP

Jaboticabal, 12 de dezembro de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

VITOR TEIXEIRA – Nasceu aos 23 de setembro de 1993, na cidade de Novo Horizonte, estado de São Paulo. Em janeiro de 2011 ingressou no curso Superior em Tecnologia em Biocombustíveis na Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal – “Nilo de Stéfani”, Campus de Jaboticabal, recebendo o título de Tecnólogo em Biocombustíveis em 2014. A partir de abril de 2012 passou a integrar aos grupos de pesquisa “Processos Biotecnológicos aplicados à Agroindústria” e “Fisiologia e Manejo Sustentável da cana-de-açúcar”, participando de diversos projetos. Em agosto de 2014 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária da FCAV-UNESP Jaboticabal, SP, obtendo o título de Mestre em dezembro de 2016.

Epígrafe

“Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós mesmos.”

Friedrich Nietzsche

**A minha família, por todo amor,
apoio, dedicação e incentivo.**

Dedico.

**A Profa. Dra. Márcia Justino
Rossini Mutton e Prof. Dr. Miguel
Angelo Mutton, por toda ajuda,
paciência e conhecimento
profissional e de vida transmitido.**

Ofereço.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por ter-me iluminado e guiado na minha trajetória;

Aos meus pais e irmão, por todo carinho, apoio, incentivo e ajuda nas horas mais difíceis;

A Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton e ao Prof. Dr. Miguel Angelo Mutton, pela oportunidade, orientação e ensinamentos para minha vida profissional e pessoal;

Ao Programa de Microbiologia Agropecuária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV/UNESP) pela oportunidade de realizar o curso de mestrado;

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo;

A equipe do Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Álcool: Aline, Cristhyane, Franciele, Gustavo, Juliana, Karen, Letícia, Lidyane, Marcel, Matheus, Nathieli, Nayara, Osania, Sérgio e Welton, por toda ajuda e amizade durante o curso.

Aos membros da banca examinadora, Francisco Vicente Gaiotto Cleto e Everlon Cid Rigobelo, pela participação, disponibilidade e considerações;

A Usina São Francisco e ao Sr. Eduardo Garcia pelo fornecimento da cana orgânica;

A Profa. Dra. Maria das Graças Cardoso (UFLA), pelo auxílio nas análises de carbamato de etila;

A COPACESP - Cooperativa dos Produtores de Cana, Aguardente, Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo pela colaboração nas análises cromatográficas das cachaças;

Aos meus amigos Daiane, Gabriela, Marina, Pablo, Raissa e Thiago por toda amizade, conselho, comemorações e momentos que passamos juntos;

A todos que de uma maneira ou de outra, contribuíram para a concretização desse estudo.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	vi
1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1. Cachaça.....	11
2.2. Matéria-prima e composição tecnológica.....	12
2.3. Clarificação do caldo.....	15
2.4. Processo fermentativo.....	16
2.5. Compostos secundários e a qualidade da cachaça.....	17
2.5.1. Álcoois superiores.....	20
2.5.2. Ésteres.....	20
2.5.3. Aldeídos.....	21
2.5.4. Furfural e 5-hidroximetilfurfural (HMF).....	21
2.5.5. Ácidos orgânicos.....	21
2.5.6. Metanol.....	22
2.5.7. Carbamato de etila.....	22
2.5.8. Contaminantes inorgânicos.....	23
2.6. <i>Moringa oleifera</i> Lamark.....	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1. Delineamento experimental.....	25
3.2. Matéria-prima.....	25
3.3. Preparo do extrato de sementes de moringa.....	25
3.4. Extração e clarificação do caldo.....	26
3.5. Preparo do mosto.....	26
3.6. Preparo do inóculo.....	27
3.7. Processo fermentativo.....	27
3.8. Avaliação microbiológica.....	28

3.9. Caracterização dos vinhos.....	28
3.10. Destilação.....	28
3.11. Determinação e caracterização dos destilados.....	29
3.13. Análise dos resultados.....	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1. Caracterização tecnológica dos caldos extraídos.....	30
4.2. Clarificação do caldo.....	33
4.3. Caracterização tecnológica do mosto.....	35
4.4. Processo fermentativo.....	39
4.5. Caracterização tecnológica dos vinhos.....	48
4.6. Determinação e caracterização dos destilados.....	51
5. CONCLUSÕES.....	57
6. REFERÊNCIAS.....	58

EFEITO DA CLARIFICAÇÃO NA MICROBIOTA E QUALIDADE DA CACHAÇA ORGÂNICA

RESUMO - Na produção de cachaça, a presença de micro-organismos contaminantes é prejudicial à qualidade da bebida, estes deterioram os colmos e metabolizam os açúcares presentes para a produção de compostos indesejáveis. O objetivo do trabalho foi avaliar a ação da clarificação do caldo e a utilização do extrato de sementes de moringa na redução de micro-organismos contaminantes da fermentação alcoólica e a atividade antimicrobiana do extrato sobre duas matérias-primas diferentes, recém-processada e colmos armazenados por 24h, além dos reflexos dos componentes e caracterização das cachaças. O delineamento experimental foi realizado em parcelas subdivididas com três repetições, empregando-se 3 tratamentos principais: Caldo “in natura”, caldo caleado e caldo caleado com extrato de semente de moringa como flocculante. Os tratamentos secundários foram constituídos por colmos recém-colhidos e armazenados por 24 horas. Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas ao longo do processo de produção, além de análises dos componentes e caracterização das cachaças. A utilização do extrato de semente de moringa na clarificação do caldo resulta em redução significativa de 41,66% na microbiota total do caldo extraído. A matéria-prima não armazenada apresentou menor quantidade de bactérias lácticas e leveduras presente no processo fermentativo. As concentrações dos coeficientes de congêneres diminuíram 5,27% empregando-se o processo de caleagem e 10% com o uso do extrato de sementes de moringa como flocculante natural em ambas as matérias-primas. A redução dos compostos deve-se a menor formação dos alcoóis superiores nas cachaças. Conclui-se que o extrato de sementes de *Moringa oleifera* Lamarck apresenta atividade antimicrobiana sobre a microbiota total da matéria-prima, redução de bactérias lácticas durante o processo fermentativo e menor formação de alcoóis superiores na cachaça. O processamento de matéria-prima armazenada acarreta em um processo fermentativo com maiores contaminantes e produção de compostos indesejáveis.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar; Antimicrobiano; *Moringa oleifera* Lamarck; Matéria-prima; *Saccharomyces cerevisiae*.

EFFECT OF CLARIFICATION IN MICROBIOTE AND QUALITY OF ORGANIC SPIRIT

ABSTRACT- In the production of cachaça, the presence of contaminating microorganisms is detrimental to the quality of the beverage, they deteriorate the stalks and metabolize the sugars present for the production of undesirable compounds. The objective of this work was to evaluate the action of broth clarification and the use of the moringa seed extract in the reduction of microorganisms contaminating the alcoholic fermentation and the antimicrobial activity of the extract on two different raw materials, freshly processed and stored stems For 24 hours, besides the component reflexes and characterization of the cachaças. The experimental design was carried out in subdivided plots with three replicates, using 3 main treatments: "In natura" broth, calyx broth and calyx broth with moringa seed extract as flocculant. Secondary treatments consisted of freshly harvested stalks and stored for 24 hours. Physicochemical and microbiological analyzes were carried out throughout the production process, as well as component analysis and characterization of cachaças. The use of the moringa seed extract in broth clarification results in a significant reduction of 41.66% in the total microbiota of the extracted broth. The non-stored raw material showed less lactic acid bacteria and yeast present in the fermentation process. The concentrations of the congeners coefficients decreased 5.27% using the chalking process and 10% with the use of the moringa seed extract as natural flocculant in both raw materials. The reduction of the compounds is due to the lower formation of the higher alcohols in the cachaças. It is concluded that the *Moringa oleifera* Lamarck seed extract presents antimicrobial activity on the total microbiota of the raw material, reduction of lactic bacteria during the fermentation process and lower formation of higher alcohols in the cachaça. The processing of stored raw material entails a fermentation process with higher contaminants and production of undesirable compounds.

Index terms: Sugar cane; Antimicrobial; *Moringa oleifera* Lamarck; Raw material; *Saccharomyces cerevisiae*.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Principais alcoóis superiores encontrados na cachaça.....	19
Figura 2 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Viabilidade das células, Índice de brotamento e viabilidade dos brotos no inóculo do tratamento do caldo.....	40
Figura 3 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Micro-organismos totais, Bactérias lácticas e Leveduras no inóculo do tratamento do caldo.....	40
Figura 4 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Viabilidade das células, Índice de brotamento e viabilidade dos brotos no inóculo da qualidade da matéria-prima.....	41
Figura 5 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Micro-organismos totais, Bactérias lácticas e Leveduras no inóculo da qualidade da matéria-prima.....	42
Figura 6 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Viabilidade das células, Índice de brotamento e viabilidade dos brotos no início do processo fermentativo do tratamento do caldo.....	43
Figura 7 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Micro-organismos totais, Bactérias lácticas e Leveduras no início do processo fermentativo do tratamento do caldo.....	43
Figura 8 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Viabilidade das células, Índice de brotamento e viabilidade dos brotos no início do processo fermentativo da qualidade da matéria-prima.....	44
Figura 9 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Micro-organismos totais, Bactérias lácticas e Leveduras no início do processo fermentativo da qualidade da matéria-prima.....	44
Figura 10 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Micro-organismos totais, Bactérias lácticas e Leveduras no final do processo fermentativo da qualidade da matéria-prima.....	45
Figura 11 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Viabilidade das células, Índice de brotamento e viabilidade	

dos brotos no final do processo fermentativo da qualidade da matéria-prima.....

Figura 12 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Micro-organismos totais, Bactérias lácticas e Leveduras no final do processo fermentativo do tratamento do caldo..... 47

Figura 13 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Viabilidade das células, Índice de brotamento e viabilidade dos brotos no final do processo fermentativo do tratamento do caldo..... 47

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Limite dos compostos secundários na cachaça.....	18
Tabela 2 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Brix, pH, ART, AR, Acidez Total, Pol e Pureza do caldo extraído para os colmos armazenados.....	30
Tabela 3 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Nitrogênio, Potássio, Cálcio, Magnésio Zinco, Ferro, Cobre, Sódio e Mangânes do caldo extraído para os colmos armazenados.....	31
Tabela 4 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Micro-organismos totais, Bactérias lácticas e Leveduras do caldo extraído.....	32
Tabela 5 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para pH, Acidez Total e ART dos caldos clarificados.....	33
Tabela 6 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Nitrogênio, Potássio, Cálcio, Magnésio Zinco, Ferro, Cobre, Sódio e Mangânes dos caldos clarificados.....	35
Tabela 7 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para pH, Acidez Total e ART dos mostos.....	36
Tabela 8 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Micro-organismos totais, Bactérias lácticas e Leveduras dos mostos.....	37
Tabela 9 – Resultados da interação dos tratamentos TxM para Bactérias lácticas dos mostos.....	37
Tabela 10 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Nitrogênio, Potássio, Cálcio, Magnésio Zinco, Ferro, Cobre, Sódio e Mangânes dos mostos.....	39
Tabela 11 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para pH, Acidez Total, ARRT, Teor Alcoólico e Teor de Glicerol dos vinhos.....	49

Tabela 12 – Resultados da análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey para Nitrogênio, Potássio, Cálcio, Magnésio Zinco, Ferro, Cobre, Sódio e Mangânes dos vinhos.....	
Tabela 13 – Análise dos componentes e caracterização das cachaças.....	53
Tabela 14 – Resultados da análise do teor de Nitrogênio, Potássio, Cálcio, Magnésio Zinco, Ferro, Sódio e Mangânes das cachaças.....	55

1. INTRODUÇÃO

Cachaça é a denominação da bebida destilada de mosto fermentado de cana-de-açúcar, produzida exclusivamente no Brasil. Seu consumo, no país de origem, corresponde a 50% de todos os destilados, sendo a segunda bebida alcoólica mais consumida. Mundialmente ocupa a terceira posição no ranking de bebida destilada (IBRAC, 2015; SEBRAE, 2016).

Atualmente, seu consumo tem sido crescente, assim como a busca por produtos de qualidade, que atendam os requisitos de segurança alimentar, nacionais e internacionais, para tanto. Sob este foco as melhorias nos processos de produção são necessárias.

Avaliando-se a cadeia produtiva verifica-se que diversos micro-organismos, como as bactérias lácticas, são encontrados na matéria-prima. Além destas, a presença de leveduras contaminantes, tais como as *Schizosaccharomyces*, *Debaryomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Kloeckera*, dentre outras cepas. Considera-se que estes são indesejáveis quando presentes em níveis acima de 10^8 UFC.mL⁻¹, outra desvantagem é que as leveduras selvagens apresentam baixa taxa de multiplicação, intolerância ao etanol e baixa eficiência fermentativa.

As contaminações ocorrem a partir do corte da cana, quando os colmos podem ser colonizados por essas leveduras e bactérias, iniciando o processo de deterioração, como a formação de compostos indesejáveis e multiplicação dos micro-organismos contaminantes. Após algum tempo observa-se a redução dos açúcares redutores totais, pH e o aumento da acidez do caldo.

Tais compostos são classificados como congêneres (ácidos, ésteres, aldeídos, furfural, entre outros) e contaminantes orgânicos (álcool metílico, carbamato de etila, acroleína, entre outros), que podem impossibilitar a aceitação do mercado consumidor, por influenciar negativamente sobre os aspectos sensoriais do produto, ou ainda, serem tóxicos ao ser humano.

Neste contexto, a utilização de recursos nas etapas da produção pode resultar em um produto de melhor qualidade, Uma alternativa viável para redução

destes micro-organismos contaminantes é o tratamento de caldo que possibilita a remoção das impurezas presente no caldo, tais como ácidos orgânicos, gomas, lipídios, compostos inorgânicos, dentre outros.

Resultados de estudos com o processo de clarificação, empregando fontes naturais que possam substituir a ação coagulante do polímero sintético, estão sendo desenvolvidas atualmente. Dentre as alternativas economicamente promissoras, destaca-se a *Moringa oleifera* Lamark com atividade floculativa similar ao polímero sintético, tanto para a produção de açúcar e etanol. Cabe ainda destacar, além da atividade floculativa, as sementes possuem proteínas características de atividade antifúngica e antibacteriana, tais proteínas pertencem à família das 2S albuminas, apresentam estabilidades a alteração de pH e ponto de fusão de 98°C.

Esta pesquisa objetivou avaliar a ação da clarificação do caldo e a utilização do extrato de sementes de moringa na redução de micro-organismos contaminantes da fermentação alcoólica e a atividade antimicrobiana do extrato sobre duas matérias-primas diferentes, recém-processada e colmos armazenados por 24h, além dos reflexos dos componentes e caracterização das cachaças.

5. CONCLUSÕES

Considerando os resultados apresentados e discutidos, pode-se concluir que:

- a) O extrato de sementes de *Moringa oleifera* Lamarck apresenta atividade antimicrobiana sobre a microbiota total da matéria-prima;
- b) O processamento de matéria-prima armazenada acarreta em um processo fermentativo com maiores contaminantes e produção de compostos indesejáveis;
- c) O extrato de sementes de *Moringa oleifera* Lamarck possui atividade antimicrobiana durante o processo fermentativo, com redução na concentração de bactérias lácticas;
- d) O processo de clarificação e a utilização do extrato de sementes de moringa resultam em menor formação de alcoóis superiores na cachaça;

6. REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, L. M. **Processo de Fabricação de Açúcar**. 3º ed. UFPE: Recife, 2011, 273 p.
- ALCARDE, A. R. **Cachaça: Ciência, tecnologia e arte**. Editora Edgard Blucher Ltda, São Paulo, 2014. 96 p.
- AMORIM, H. V. **Fermentação alcoólica: ciência & tecnologia**. Fermentec: Piracicaba, 2005. 448 p.
- AMORIM, V.H. Nutrição mineral da levedura, aspectos teóricos e práticos. In: SEMANA DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA “JAIME ROCHA DE ALMEIDA”, 4. Piracicaba. 1985. Anais. Piracicaba: ESALQ, 1985. p.144-148.
- ANJOS, J. P.; CARDOSO, M. G.; SACZK, A. A.; ZACARONI, L. M.; SANTIAGO, W. D.; DÓREA, H. S.; MACHADO, A. M. R. Identificação do carbamato de etila durante o armazenamento da cachaça em tonel de carvalho (*Quercus* sp) e recipiente de vidro. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 874-878, 2011
- AOAC. **Association of Official Analytical Chemists - Official methods of analysis**. 18. ed. AOAC: Gaithersburg, 1997.
- AZEVEDO, L. C; REIS, M. M.; SILVA, L. A. da; ANDRADE, J. de. Efeito da presença e concentração de compostos carbonílicos na qualidade de vinhos. **Química nova**, v. 30, nº 8, p. 1968-1975, 2007.
- BARBOSA, E. A. **Caracterização molecular e bioquímica de linhagens de *saccharomyces cerevisiae* da região de salinas para fins de identificação geográfica**. 2013. 143 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Ouro Preto, 2013.
- BATHIA, S.; OTHMAN, Z.; AHMAD, A.L. Pretreatment of palm oil Mill effluent (POME) using *Moringa oleífera* seeds as natural coagulant. **Journal of Hazardous Materials**, v.145, p.120-126. 2007.
- BERGAMO, A. R, URIBE, R. A. M. **Desenvolvimento e otimização de produção de etanol por processo fermentativo com leveduras *Saccharomyces cerevisiae* em substrato de melão de cana-de-açúcar**. In: VII WORKSHOP AGROENERGIA, 2013, Ribeirão Preto.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 13, de 29 de junho de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça. **Diário Oficial da União** de 30/06/2005, Seção 1, p. 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa nº 28, de 8 de agosto de 2014. **Diário Oficial da União** de 11/08/2014, Seção 1.

CANUTO, M. H. **Influência de alguns parâmetros na produção de cachaça: linhagem de levedura, temperatura de fermentação e corte do destilado**. 2013. 119 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

CARDOSO, Maria das Graças. Produção de aguardente de cana. 3º Ed. Lavras: Editora UFLA, 2013. 340 p.

COPLANA – Características das variedades CTC. Disponível em: http://www.coplana.com/gxpfiles/ws001/design/Download/VariedadesCana/Variedad_e_CTC_115.pdf. Acesso em: 04 de janeiro de 2017.

COSTA, G. H. G.; MASSON, I. S.; FREITA, L. A.; ROVIERO, J. P.; MUTTON, M. J. R. Reflexos da clarificação do caldo de cana com moringa sobre compostos inorgânicos do açúcar VHP. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.2, p.154–159, 2015.

COSTA, G. H. G., **Emprego do extrato de moringa (*Moringa oleífera* Lamarck) na clarificação do caldo de cana para produção de açúcar e etanol**. 2015. 128 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP Jaboticabal, 2015.

COSTA, G. H. G., **Emprego do extrato de moringa (*Moringa oleífera* Lamarck) na clarificação do caldo de cana para produção de açúcar**. 2013. 115 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP Jaboticabal, 2013.

COSTA, G. H. G.; MASSON, I. S.; FREITA, L. A.; ROVIERO, J. P.; MUTTON, M. J. R. Use of *Moringa oleífera* Lamarck leaf extract as sugarcane juice clarifier: effects on clarified juice and sugar. **Food Science and Technology**, v.34, n.1, 2014.

CTC - Centro de Tecnologia Canavieira. **Manual de métodos de análises para açúcar**. Piracicaba: Centro de Tecnologia Canavieira, 2005.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, G. A. **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônomo, p. 882, 2008.

EGGLESTON, G.; MONGE, A. PEPPERMAN, A. Preheating and incubation of cane juice to liming: a comparison of intermediate and cold lime clarification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 484-490, 2002.

FERMENTEC – **Métodos analíticos para o controle da produção de açúcar e álcool**. 3º ed. Piracicaba – SP, 2003.

FERMENTEC. Centro de pesquisas e consultoria para usinas e destilarias. Ácido aconítico é o principal ácido da cana-de-açúcar. **Fermentec News**, 17 de jul. de 2012. Disponível em: <http://fermentecnews.com.br/2012/07/17/acido-aconitico/>. Acesso em: 09 de outubro de 2016.

FERMENTEC, 25, 2004, São Pedro. Resumos. Piracicaba: Fermentec, p. 8-9, 2004.

FILHO, J.H.O. Atividade antimicrobiana de própolis sobre contaminantes da fermentação alcoólica destinada a produção de cachaça. 2010. Tese (Mestrado Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp. Jaboticabal.

FREIRE, J. E., VASCONCELOS, I. M.; MORENO, F. B.; BATISTA, A. B.; LOBO, M. D.; PEREIRA, M. L.; , LIMA, J. P.; ALMEIDA, R. V.; SOUSA, A. J.; MONTEIROMOREIRA, A. C.; OLIVEIRA, J. T.; GRANGEIRO, T. B. Mo-CBP3, an antifungal chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seeds, is a member of the 2S albumin family. **PLoS One**, v.10, n.3, 2015.

GALLÃO, M. I.; DAMASCENO, L. F.; BRITO, E. S. de. Avaliação química e estrutural da semente de moringa. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, n. 1, pg. 106 – 109, 2006. Disponível em: <http://www.ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/224/219>. Acesso em: 13 de outubro de 2016.

GARCIA, G. Tratamento de caldo e tipos de fermentos sobre os componentes secundários e qualidade da cachaça de alambique. 2016. Dissertação (Mestrado Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp. Jaboticabal.

GHEBREMICHAEL, K. A.; GUNARATNA, K. R.; HENRIKSSON, H.; BRUMER, H.; DALHAMMAR, G.; A simple purification and activity assay of the coagulant protei from *Moringa oleifera* seed. **Water Research**, v. 39, p 2338 – 2344, 2005.

HONIG, P. Princípios de Tecnologia Azucareira, Editora Continental, Volume I, 1969.

IBRAC – Instituto Brasileiro da Cachaça. Informações a imprensa. Disponível em: http://ibrac.net/images/PDF/Informacoes_Imprensa_IBRAC_Cachaca_2015.pdf Acessado em: 09 de maio de 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas**. 4. ed. São Paulo, 2005. v. 1, p. 407-441.

INMETRO. Portaria nº 126, de 2005. Aprova o Regulamento de avaliação da conformidade da cachaça. DOU, Brasília. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Disponível em: www.inmetro.gov.br. Acesso em 04 de março de 2015.

JANZANTTI, N. S.; GARCIA, C. C. T. Influência da expectativa do consumidor de cachaça orgânica. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 1069-1082, 2011.

KRISHNAKUMAR, T., THAMILSELVI, C., DEVADAS, C. T. Effect of delayed extraction and storage on quality of sugarcane juice. **African Journal of Agricultural Research**, v.8, p. 930-935, 2013.

LACHENMEIER, D. W.; LIMA, M. C. P.; NOBREGA, I. C. C. PEREIRA, J. A. P.; KERR-CORRÊA, F.; KANTERES, F. e REHM, J. Cancer risk assessment of ethyl carbamate in alcoholic beverages from Brazil with special consideration to the spirits cachaça and tiquira. **BMC Cancer**, London, v.10, p. 1-15, 2010.

LÉAUTÉ, R. Distillation in alembic. *American Journal of Enology and Viticulture*, v.41, p. 90-103, 1990.

LEE, S. S; ROBINSON, F. M; WONG, H.Y. Rapid determination of yeast viability. **Biotechnology Bioengineering Symposium**, n.11, 1981.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIN, H. V. Produção de etanol. In: LIMA, U.A. **Biotecnologia**. São Paulo: E. Blucher, 2001. v. 3, cap. 1, p. 1-43.

LNF Latino Americana. **Manual de uso da LNF CA-11**. Bento Gonçalves – RS: LNF, 2011.

MACRI, R. C. V; COSTA, G. H. G; MONTIJO, N. A. ; FERREIRA, A. S.; MUTTON, M. J. R. Moringa extracts used in sugarcane juice treatment and effects on ethanolic fermentation, **African Journal of Biotechnology**, v.13, p. 4121-4130, 2014.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. **Microbiologia de brock**. Editora: Artmed, Porto Alegre, 14^o Edição, p. 1032, 2016.

MAN, J. C; ROGOSA, M; SHARP, M. E. A médium for the cultivation of *Lactobacillus*, **Journal applied bacteriology**, v. 23, p. 130-135, 1960.

MASSON, J.; CARDOSO, M. das G.; ZACARONI, L. M.; ANJOS, J. P. dos; SANTIAGO, W. G.; MACHADO, A. M. de R.; SACZK, A. A.; NELSON, D. L. GC-MS analysis of ethyl carbamate in distilled sugar cana spirits from the northern and southern regions of Minas Gerais. **Institute of Brewing & Distilling**, v. 120, p. 516-520, 2014.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: **Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato**, 1997. Cap.6, p.231-307: Metodologia para análise de nutrientes em material vegetal.

MARQUES, M. O.; MUTTON, M. A.; NOGUEIRA, T. A. R.; JÚNIOR, L. C. T.; NOGUEIRA, G. de A.; BERNARDI, J. H. **Tecnologias na agroindústria canavieira**, Jaboticabal – SP, Multipress Ltda., 166 p, 2008.

MENDONÇA, J. G. P., CARDOSO, M. das G.; SANTIAGO, W. D.; RODRIGUES, L. M. A.; NELSON, D. L.; BRANDÃO, R. M.; SILVA, B. L. da. Determination of ethyl carbamate in cachaças produced by selected yeast and spontaneous fermentation. **Journal of the Institute of Brewing**, vol. 122, p. 63-68, 2016.

MONTIJO, N. A.; SILVA, A. F.; COSTA, G. H. G.; FERREIRA, O. E.; MUTTON, M. J. R. Yeast CA-11 fermentation in musts trates with brown and green própolis. **African Journal of Microbiology Research**, vol. 8, n. 39, pág. 3515 – 3522, 2014.

MUTTON, M. J. R. & MUTTON, M. A. **Aguardente de cana - produção e qualidade**. Jaboticabal: FUNEP. 1992.

NELSON, D. L., COX, M. M., **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5 ed. São Paulo: Artmed, 2011.

OLIVEIRA, A. M. L; **O processo de produção da cachaça artesanal e sua importância comercial**. 2010. 55 f. (Trabalho de conclusão de curso) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

OLIVEIRA, M. de C., **Avaliação da qualidade físico-química e sensorial da cachaça orgânica envelhecida**. 2016. 81 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP Jaboticabal, 2016.

OLIVEIRA, M. C. F.; PAGNOCA, F. C. Aplicabilidade de meios seletivos empregados nas indústrias de cervejarias à detecção de leveduras selvagens em unidades sucro-alcooleiras. In: VII Sinaferm. 1988. **Anais**. São Lourenço-MG, p.78-81.

OLIVEIRA FILHO, J. H. de, **Qualidade pós-colheita de colmos de cana armazenados e seus reflexos na produção de cachaça**. 2015. 101 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ Piracicaba, 2015.

OKUDA, T.; BAES, A. U.; NISHIJIMA, W.; OKADA, M. Coagulation mechanism of salt solution extracted active component in Moringa oleifera seeds. **Water Research**, v.35, n.3, 2001.

REIN, P. **Cane Sugar Engineering**. 2ed. Bartens: Berlin, 2012.

RIPOLI T. C. C.; RIPOLI M. L. C. **Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente**. 2ª edição. Barros & Marques Editoração eletrônica. Piracicaba, 333 p., 2009.

SCHWARZ, D. **Water Clarification using Moringa oleifera**. Technical Information. 2000. Disponível em:

<http://www.gateinternational.org/documents/techbriefs/webdocs/pdfs/w1e_2000.pdf>
>. Acesso em: 01/11/2013.

SEBRAE (Serviço Brasileiro de Apoio as Micro e Pequenas Empresas). Sebrae Nacional. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/saiba-mais-sobre-tendencia-do-mercado-de-cachaca,39aa6a2bd9ded410VgnVCM1000003b74010aRCRD>>. Acessado em: 07 de maio de 2016.

SILVA, R. J. N.; GUIMARÃES, E. R.; GARCIA, J. F.; BOTELHO, P. S. M.; FERRO, M. I. T.; MUTTON, M. A., MUTTON, M. J. R. Infestation of froghopper nymphs change de amounts of total phenolics in sugarcane. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 6., p. 543-546, 2005.

SOLOMON, S. Post-harvest deterioration of sugarcane. **Sugar tech**, India, v. 11, nº 2, p. 109-123, 2009.

SOUZA, L. M. de; ALCARDE, A. R.; LIMA, F. V. de; BORTOLETTO, A. M. **Produção de cachaça de qualidade**. ESALQ/USP: Piracicaba, SP, 72 p., 2013.

TEIXEIRA, V. Extratos de semente de *Moringa (Moringa Oleifera Lam)* como floculante na clarificação do caldo de cana-de-açúcar. 2013 45 f. Trabalho de Graduação (Tecnologia em Biocombustíveis) - Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal "Nilo de Stéfani", Jaboticabal, 2013.

ULLAH, A., MARIUTTI, R. B., MASOOD, R., CARUSO, I. P., COSTA, G. H. G., FREITA, C. M. de, SANTOS, C. R., ZANPHORLIN, L. M., MUTTON, M. J. R., MURAKAMI, M. T., ARNI, R. K. Crystal structure of mature 2S albumin from *Moringa oleifera* seeds. **Biochemical and Biophysical Research Communication**, v. 468, p.365-371, 2015.

U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological analytical manual. 8^a ed. AOAC International. Gaithersburg, Maryland. 1995

VALSECHI, O. Aguardente de cana-de-açúcar. Piracicaba: ESALQ/USP, 1960.

VILLANUEVA, N. D. M.; PETENATE, A. J.; SILVA, M. A. A. P. P. Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. **Food Quality and Preference**, v. 16, p. 691-703, 2005.

ZACARONI, L. M.; CARDOSO, M. das G.; SACZK, A. A.; SANTIAGO, W. D.; ANJOS, J. P. dos; MASSON, J.; DUARTE, F. C.; NELSON, D. L. Caracterização e quantificação de contaminantes em aguardentes de cana. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, nº 2, p. 320-324, 2011.