

## RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 31/01/2022.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**"JULIO DE MESQUITA FILHO"**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**CÂMPUS DE ARARAQUARA**

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS**

**MESTRADO PROFISSIONAL**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO EXTRATO VEGETAL DE *Byrsonima intermedia* COMO ALTERNATIVA NA INIBIÇÃO MICROBIANA DURANTE O PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ETANOL POR VIA FERMENTATIVA**

**ARLINDO JOSÉ LIMA DE CARVALHO**

**ORIENTADO POR: Prof. Dr. Danilo Luiz Flumignan**

**COORIENTADORA: Profa. Dra. Mariana Carina Frigeri Salaro**

**ARARAQUARA - SP**

**2020**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO EXTRATO VEGETAL DE *Byrsonima intermedia* COMO ALTERNATIVA NA INIBIÇÃO MICROBIANA DURANTE O PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ETANOL POR VIA FERMENTATIVA

ARLINDO JOSÉ LIMA DE CARVALHO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos (Mestrado Profissional), Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

ORIENTADO POR: Prof. Dr. Danilo Luiz Flumignan

COORIENTADORA: Profa. Dra. Mariana Carina Frigeri Salaro

ARARAQUARA - SP

2020

---

**C331a** Carvalho, Arlindo José Lima de.  
Avaliação do potencial do extrato vegetal de *Byrsonima intermedia* como alternativa na inibição microbiana durante o processo de produção de etanol por via fermentativa / Arlindo José Lima de Carvalho. – Araraquara: [S.n.], 2020.  
85 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos. Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos.

Orientador: Danilo Luiz Flumignan.  
Coorientadora: Mariana Carina Frigeri Salaro.

1. Extrato vegetal. 2. Antimicrobiana. 3. Contaminantes. 4. Fermentação. I. Flumignan, Danilo Luiz, orient. II. Salaro, Mariana Carina Frigeri, coorient. III. Título.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO EXTRATO VEGETAL DA *Byrsonima intermédia* COMO ALTERNATIVA NA INIBIÇÃO MICROBIANA DURANTE O PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ETANOL POR VIA FERMENTATIVA

**AUTOR:** ARLINDO JOSÉ LIMA DE CARVALHO

**ORIENTADOR:** DANILO LUIZ FLUMIGNAN

**COORIENTADORA:** MARIANA CARINA FRIGIERI SALARO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS, área: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. DANILO LUIZ FLUMIGNAN

Departamento das Áreas de Base Comum / Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso - IFMT Câmpus Cuiabá

Prof. Dr. LEONARDO LUCAS MADALENO

Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza / FATEC - Jaboticabal/SP

Profa. Dra. ARIELA VELOSO DE PAULA

Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Araraquara, 31 de agosto de 2020

# *Dedicatória*

A todos meus familiares e amigos que sempre estiveram  
ao meu lado, me incentivando e entendendo a razão da  
minha ausência em momentos de reuniões e  
confraternizações.

A Gisele, minha amiga e grande incentivadora, nessa  
jornada a caminho do conhecimento contínuo.

E a todos, que estão vencendo as dificuldades  
enfrentadas nesse momento de pandemia, mas que de  
alguma forma, não mediram esforços para contribuírem  
com essa minha conquista.

# *Agradecimentos*

Ao meu Orientador Prof. Dr. Danilo Luiz Flumignan,  
pela oportunidade.

A minha Coorientadora Profa. Dra. Mariana Carina  
Frigeri Salaro, pela colaboração e paciência.

Aos professores, Prof. Dr. Wilton Rogério Lustru e  
Profa. Silmara Cristina Lazarini Frajácomo, pela imensa  
contribuição e atenção.

A todos os docentes e funcionários da FCFar/UNESP,  
em especial ao Departamento de Bioprocessos e  
Biotecnologia, que sempre foram muito prestativos e  
me ajudaram a vencer as barreiras encontradas pelo  
caminho.

## Sumário

1	Introdução.....	17
2	Objetivos.....	21
2.1	Objetivo Geral .....	21
2.2	Objetivos Específicos .....	21
2.2.1	Obtenção dos extratos aquosos e hidroalcoólicos do vegetal;.....	21
2.2.2	Avaliação da solubilidade em água dos extratos obtidos; .....	21
2.2.3	Obtenção e manutenção de leveduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e contaminantes de três usinas parceiras;.....	21
2.2.4	Avaliação do potencial antibacteriano dos extratos vegetais <i>in vitro</i> pelo método hole plate; .....	21
2.2.5	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de acordo com Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); .....	21
2.2.6	Estudo do controle de microrganismos com o extrato vegetal, verificando os produtos obtidos, por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), do vinho resultante da fermentação.....	21
3	Revisão da literatura.....	22
3.1	Produtividade e perspectiva do setor sucroenergético.....	22
3.2	Processo fermentativo.....	31
3.3	Parâmetros tecnológicos do processo fermentativo.....	33
3.4	Controle microbiológico durante a produção de etanol .....	35
3.5	Controle microbiológico natural.....	38
3.6	<i>Byrsonima intermedia</i> .....	40
4	Material e métodos .....	44
4.1	Local de realização dos experimentos .....	44
4.2	Amostras vegetais.....	44
4.3	Preparo dos extratos vegetais.....	45
4.4	Determinação da solubilidade em água dos extratos.....	46
4.5	Microrganismos padrões .....	47
4.6	Obtenção das leveduras e dos contaminantes microbianos do processo fermentativo .....	47
4.7	Avaliação do potencial antibacteriano dos extratos vegetais <i>in vitro</i> .....	48
4.8	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM).....	50

4.9	Estudo do controle de microrganismos, verificando os produtos obtidos da fermentação .....	52
5	Resultados e discussão .....	58
5.1	Obtenção e avaliação da solubilidade dos extratos vegetais .....	58
5.2	Avaliação do potencial antimicrobiano dos extratos vegetais <i>in vitro</i> .....	59
5.3	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM).....	62
5.4	Estudo do controle de microrganismos, verificando os produtos obtidos da fermentação .....	65
6	Conclusão.....	72
7	Referências.....	73

## RESUMO

Durante o processo de fermentação industrial tradicional, ocorre a produção de bioetanol pela levedura a partir de um mosto açucarado, onde vários tipos de contaminações podem ocorrer prejudicando a obtenção do produto, dentre essas, a contaminação microbiana. O controle microbiológico do processo requer um tratamento diferencial, onde é necessário controlar os contaminantes, sem, no entanto, afetar a ação das leveduras selecionadas. Atualmente, estão sendo estudadas formas naturais de controle que atendem aos requisitos de produção sem afetar adversamente o meio ambiente ou impedir o comércio subsequente dos subprodutos gerados. Diante desta realidade o presente trabalho procurou uma alternativa que contribuísse para o controle da contaminação no processo fermentativo, utilizando extratos aquoso e hidroalcoólico do vegetal *Byrsonima intermedia*, uma planta típica do cerrado brasileiro. Inicialmente, foi determinada a atividade antibacteriana in vitro e a concentração mínima inibitória (CIM), onde ambos extratos mostraram ser efetivos em baixas dosagens para amostras bacterianas isoladas de processos fermentativos diferentes, apresentando halos que variaram de 9,26 mm a 15,70 mm e a CIM entre 2,5 mg.mL<sup>-1</sup> a 0,156 mg.mL<sup>-1</sup>. Os ensaios diretamente no processo fermentativo foram realizados utilizando apenas com o extrato aquoso, o qual apresentou resultados de eficiência fermentativa (65,02%) enquanto o produto comercial atualmente empregado (62,43%), esse ganho de 2,59% gera, para cada 100 milhões de litros de etanol produzido, um adicional de 2,59 milhões de litros de etanol e uma margem bruta adicional de R\$4,7 milhões, podendo ser uma alternativa para o controle microbiano em processos fermentativos para a produção de bioetanol por possuir qualidades desejáveis como viabilidade econômica e facilidade de solubilização.

**Palavras-chave:** Extrato vegetal. Antimicrobiana. Contaminantes. Fermentação.

## ABSTRACT

During the traditional industrial fermentation process, yeast bioethanol is produced from a little sugar, where various types of contamination can impair the use of the product, such as microbial contamination. The microbiological control of the process requires a differential treatment, where it is necessary to control the contaminants, without, however, applying an action of the selected changes. Currently, natural forms of control that meet production requirements are being studied without adversely affecting the environment or preventing subsequent trade in the generated by-products. Faced with this reality or present work, you are looking for an alternative that contributes to the control of contamination in the fermentation process, using aqueous and hydroalcoholic extracts from the vegetable *Byrsonima Intermedia*, a typical plant from the Brazilian cerrado. Initially, an antibacterial activity was provided in vitro and the minimum inhibitory concentration (MIC), where the two affected extracts will be effective in low doses for the bacterial processes of different fermentation processes, represented halos that ranged from 9.26 mm to 15.70 mm and MIC between 2.5 mg.mL<sup>-1</sup> to 0.156 mg.mL<sup>-1</sup>. The tests directly in the fermentation process were carried out using only the aqueous extract, which showed results of fermentative efficiency (65.02%), while the commercial product currently employed (62.43%), this gain of 2.59% generates , for every 100 million liters of ethanol produced, an additional 2.59 million liters of ethanol and an additional gross margin of R \$ 4.7 million, which may be an alternative for microbial control in fermentation processes for the production of bioethanol for having desirable qualities such as economic viability and ease of solubilization.

**Keywords:** Vegetable extract. Antimicrobial. Contaminants. Fermentation.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mix de Produção de Açúcar e Etanol – Safra 2008/09 até 2018/19.....	26
<b>Figura 2.</b> Evolução mensal da produção anual brasileira de bioetanol.....	27
<b>Figura 3.</b> Processo bioquímico de fermentação etanólica.....	32
<b>Figura 4.</b> Esquema da produção brasileira de bioetanol.....	34
<b>Figura 5.</b> Biomas no Estado de São Paulo.....	41
<b>Figura 6.</b> <i>Byrsonima intermedia</i> .....	42
<b>Figura 7.</b> Obtenção dos extratos vegetais hidroalcoólico e aquoso.....	45
<b>Figura 8.</b> Fluxograma da obtenção dos microrganismos.....	48
<b>Figura 9.</b> Etapas realizadas na avaliação pelo método Hole plate.....	49
<b>Figura 10.</b> Fluxograma da avaliação do potencial antimicrobiano in vitro.....	49
<b>Figura 11.</b> Esquema do procedimento realizado na avaliação da CIM.....	51
<b>Figura 12.</b> Fluxograma do processo fermentativo realizado.....	54
<b>Figura 13.</b> Cromatograma obtido para a amostra C do tratamento 4.....	56
<b>Figura 14.</b> Fluxograma do preparo das amostras e análise no HPLC.....	57
<b>Figura 15.</b> Não observação de halo para levedura em extrato aquoso.....	60
<b>Figura 16.</b> Avaliação da CIM para o extrato hidroalcoólico de <i>Byrsonima intermedia</i> .....	62
<b>Figura 17.</b> Avaliação da CIM para o extrato aquoso de <i>Byrsonima intermedia</i> .....	63
<b>Figura 18.</b> Cálculo do rendimento teórico ( $Y_t$ ) a partir da reação de Gay-Lussac.....	68
<b>Figura 19.</b> Eficiência fermentativa (%) e o ganho em pontos percentuais.....	69

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Produção de bioetanol, consumo e preços médios dos antibióticos durante a safra de 2019/20 de três usinas produtoras do Estado de São Paulo.....	18
<b>Tabela 2.</b> Etanol – Indicador mensal etanol hidratado combustível CEPEA/ESALQ – São Paulo.....	19
<b>Tabela 3.</b> Produção anual mundial de bioetanol combustível (Mil.m <sup>3</sup> ) .....	24
<b>Tabela 4.</b> Moagem de Cana-de-Açúcar no Brasil nas Últimas Cinco Safras.....	28
<b>Tabela 5.</b> Produção de bioetanol no Brasil por safra.....	28
<b>Tabela 6.</b> Perspectiva de oferta interna de Energia – Brasil e Mundial no ano de 2025.....	30
<b>Tabela 7.</b> Substituição de M <sub>TEP</sub> por Derivados da Cana.....	30
<b>Tabela 8.</b> Cálculo do valor estimado com consumo de antibióticos no mundo.....	37
<b>Tabela 9.</b> Cálculo do valor estimado com consumo de antibióticos no Brasil.....	37
<b>Tabela 10.</b> Quantidades de amostra e de solventes utilizados para avaliação da solubilidade.....	46
<b>Tabela 11.</b> Termos descritivos para expressar a solubilidade.....	46
<b>Tabela 12.</b> Tempo de eluição das substâncias de interesse por HPLC.....	57
<b>Tabela 13.</b> Solubilidade de extratos vegetais em termos descritivos.....	58
<b>Tabela 14.</b> Medida dos halos de inibição obtida para os microrganismos padrão....	60
<b>Tabela 15.</b> Medida dos halos de inibição para microrganismos isolados do processo de fermentação.....	61
<b>Tabela 16.</b> Concentração Inibitória Mínima dos extratos.....	63
<b>Tabela 17.</b> Resultado das análises por cromatografia Líquida (HPLC).....	65
<b>Tabela 18.</b> Açúcares fermentescíveis totais e consumo para conversão em produtos da fermentação.....	66
<b>Tabela 19.</b> Açúcar total consumido e Etanol produzido.....	66

<b>Tabela 20.</b> Análise estatística das variáveis da Tabela 19.....	66
<b>Tabela 21.</b> Produção de etanol – g.100g <sup>-1</sup> de açúcar total .....	67
<b>Tabela 22.</b> Eficiência fermentativa.....	68
<b>Tabela 23.</b> Produção de ácido succínico na fermentação.....	70
<b>Tabela 24.</b> Produção de ácido succínico na fermentação – g.100g <sup>-1</sup> de açúcar total.....	70
<b>Tabela 25.</b> Produção de glicerol na fermentação.....	70
<b>Tabela 26.</b> Produção de glicerol na fermentação – g.100g <sup>-1</sup> de açúcar total.....	71

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANP: Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC: American Type Collection Culture

ATP: Adenosina Trifosfato

BHI: Brain Heart Infusion

Bi US\$: Bilhões de dólares

BIOTA: Programa da FAPESP de Pesquisas em Caracterização, Conservação, Restauração e Uso Sustentável da Biodiversidade

Brix: Índice refratométrico utilizado para indicar a quantidade de compostos solúveis

CBIO: Crédito de Descarbonização

CEPEA: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CLSI: Clinical Lab Standards Institute

CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento

CV: Coeficiente de variação

DDD: Dose Diária Definida

DMSO: Dimetilsulfóxido

EPE: Empresa de Pesquisa Energética

et al.: e outros

FAPESP: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FATEC: Faculdade de Tecnologia do Estado de São Paulo

g: Grama

G<sub>TEP</sub>: Bilhões de toneladas de petróleo equivalente

h: Horas

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

HUEC: Herbário UEC da Unicamp

IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IFSP: Instituto Federal de São Paulo

IQ: Instituto de Química

L: Litro

LCFS: Low Carbon Fuel Standart

m<sup>3</sup>: Metros cúbicos

mg: miligramas

Mix: Mistura

mL: Mililitros

mm: milímetros

MMA: Ministério do Meio Ambiente

M<sub>TEP</sub>: Milhões de toneladas de petróleo equivalente

N: normal

NADH: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo

ns: Não significativo

°C: Graus Celsius

OD: Densidade ótica

OMS: Organização Mundial de Saúde

p: Peso

PDA: antimicrobianos de origem vegetal

pH: Potencial Hidrogeniônico

R\$: Reais

RED: Diretiva da União Européia

RenovaBio: Política Nacional de Biocombustíveis, instituída pela Lei nº 13.576/2017

RFA: Renewable Fuels Association

RFS: Renewable Fuel Standard

Sp.: espécie

UFC: Unidades formadoras de colônia

UFMT: Universidade Federal do Mato Grosso

UNESP: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

UNICA: União da Indústria de Cana-de-açúcar

UNICAMP: Universidade Estadual de Campinas

US\$: Dólares

WHO: World Health Organization

$Y_P$ : Rendimento prático

YPD: Yeast Peptone Dextrose

$Y_t$ : Rendimento teórico

$\mu\text{L}$ :

Microlitros

## 1 Introdução

O processo fermentativo é a principal via de obtenção do etanol através da oxidação dos monômeros de açúcar pelas leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) (NIELSEN *et al.*, 2013; AZHAR *et al.*, 2017). Para que este processo se realize é preparado o mosto, o qual pode ser procedente do caldo de cana e/ou melaço gerando um ambiente com teor de açúcar e pH ajustados para favorecer o processo fermentativo e inibir o processo respiratório nas leveduras (DELLA-BIANCA *et al.*, 2013). Porém, essas mesmas condições também facilitam o desenvolvimento de uma série de microrganismos contaminantes como bactérias e leveduras selvagens (MUTHAIYAN; LIMAYEM; RICKE, 2011; BECKNER; IVEY; PHISTER, 2011), os quais são facilmente assimilados durante todo o processo, desde a colheita, armazenamento e processamento da matéria-prima (MUTHAIYAN; LIMAYEM; RICKE, 2011), até pela água de diluição do mosto e pelos equipamentos e tubulações do próprio processo (OLIVEIRA *et al.*, 2013; BREXÓ; SANT'ANA, 2017).

A presença de microrganismos contaminantes resulta em queda no rendimento fermentativo e o controle torna-se de fundamental importância para o setor produtivo (NAVES *et al.*, 2010). O controle bacteriano no processo é feito pela adição de ácido sulfúrico, porém para altos níveis de contaminação é realizada a utilização de antibióticos (MUTHAIYAN; LIMAYEM; RICKE, 2011), no entanto esse uso inviabiliza o comércio posterior da levedura seca para alimentação animal e outros fins, por deixarem resíduos nas células (FREITAS; ROMANO, 2013).

Além disso, o gasto com antibióticos torna-se um dos grandes desafios do processo (BREXÓ; SANT'ANA, 2017) e a busca por formas alternativas de controle

passa a despertar muito interesse (CAETANO; MADALENO, 2011; MADALENO *et al.*, 2016; RICH *et al.*, 2018).

Os produtos naturais derivados de vegetais possuem grande potencial ao desenvolvimento de produtos de interesse por serem, atualmente, a principal fonte de novas moléculas químicas bioativas (ANAND, *et al.*, 2020).

Na pesquisa econômica realizada no mês de setembro de 2020 com três usinas produtoras de bioetanol, uma da região nordeste (Usina 1) e outras duas da região noroeste (Usina 2 e Usina 3) do Estado de São Paulo, foi possível verificar a produção de bioetanol, consumo e preços médios dos antibióticos utilizados, Tabela 1, durante a safra, encerrada, de 2019/20.

**Tabela 1.** Produção de bioetanol, consumo e preços médios dos antibióticos durante a safra de 2019/20 de três usinas produtoras do Estado de São Paulo.

<b>Usina</b>	<b>Bioetanol produzido (m<sup>3</sup>)</b>	<b>Consumo de antibióticos (kg)</b>	<b>Preço médio (R\$/kg)</b>
Usina 1	108.580	76	370,15
Usina 2	208.834	790	351,79
Usina 3	86.725	160	330,42
Total/Média	404.139	1.026	349,82

Fonte: Dados da pesquisa.

Os preços médios mensais do etanol hidratado combustível, posto usina (sem frete, sem ICMS e PIS/Cofins zerados), durante o ano safra 2019/20, com início em 01/04/2019 e término em 31/03/2020, Tabela 2, apurados pelo Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada, (CEPEA), que possibilita calcular o preço médio, com comercialização linear mês a mês, no valor de 1,8305 reais por litro.

**Tabela 2.** Etanol – Indicador mensal etanol hidratado combustível CEPEA/ESALQ – São Paulo

<b>Data</b>	<b>Preço à vista (R\$/litro)</b>
04/2019	1,8148
05/2019	1,6449
06/2019	1,6177
07/2019	1,6736
08/2019	1,7291
09/2019	1,7146
10/2019	1,803
11/2019	1,9089
12/2019	1,9985
01/2020	2,0677
02/2020	2,1182
03/2020	1,8751
Preço médio	1,8305

Fonte: CPEA/ESALQ – São Paulo. Tabela adaptada.

Análise de viabilidade econômica da substituição de antibióticos comerciais pelo extrato vegetal, foi possível utilizando os resultados do presente trabalho. A concentração inibitória mínima (CIM) obtida com o extrato aquoso da *Byrsonima intermedia*, foi de 1,25 mg.mL<sup>-1</sup>, Tabela 16, enquanto que o produto comercial Kamoran® é utilizado na dosagem de 6 ppm, então a relação de quantidade de produtos para o tratamento de 1 milhão de m<sup>3</sup> de vinho fermentado é de 6 kg para o Kamoran® e 1.250 kg para o extrato vegetal, na Tabela 1, o consumo de antibióticos para a produção de 404.139 m<sup>3</sup> de etanol foi de 1.026 kg, fazendo o cálculo, chega-se em um consumo de 253,87 kg de antibióticos comerciais para o tratamento do vinho necessário para a produção de 100.000 m<sup>3</sup> de etanol, essa quantidade de antibiótico comercial equivale a 52.882 kg de extrato vegetal aquoso de *Byrsonima intermedia*, pois a quantidade necessária de extrato vegetal para o tratamento do fermento é de 208,3 vezes a do antibiótico comercial, ou seja 1.250 kg do extrato

equivale a 6 kg antibiótico comercial, com os dados da Tabela 1, foi possível verificar que a cada m<sup>3</sup> de etanol produzido é gasto R\$0,89 com o uso de antibióticos comerciais.

O preço médio dos antibióticos obtidos na pesquisa, Tabela 1, foi de 349,82 R\$/kg, calculando o valor para 6 kg, obtém-se 2.098,92 reais e dessa forma é possível calcular o valor por quilo do extrato vegetal dividindo 2.098,92 reais por 1.250 kg que resulta em 1,68 R\$/kg, portanto esse é o valor do preço por quilo do extrato vegetal posto na usina, preço de equilíbrio.

O extrato vegetal da *Byrsonimia intermedia*, obteve uma eficiência fermentativa de 65,02% enquanto que para produto comercial foi de 62,43%, Figura 19, esse ganho de 2,59%, diferença entre as duas eficiências fermentativas, obtido pelo extrato vegetal, aplicando esse percentual em um volume de 100 milhões de litros de etanol produzido, teremos um ganho de produção, volume adicionado, de 2,59 milhões de litros, isso, utilizando a mesma capacidade de processamento e com o mesmo volume de mosto utilizado para a fermentação. O preço médio do litro do etanol hidratado combustível, recebido pelas usinas na safra de 2019/20, foi de 1,8305 reais por litro, Tabela 2, fazendo o cálculo do volume adicionado de 2,59 milhões de litros ao preço de 1,8305 R\$/L chegaremos a margem bruta, sem desconto de frete, armazenagem e impostos, de R\$ 4.740.995 por safra com o mesmo volume de vinho utilizados para a produção de 100 milhões de litros de etanol

Diante desta realidade o presente trabalho procurou uma alternativa que contribuísse para o controle da contaminação no processo fermentativo, utilizando extratos do vegetal *Byrsonimia intermedia*, planta de origem do cerrado brasileiro.

## 6 Conclusão

Com base nos dados obtidos foi possível verificar que o extrato aquoso do vegetal do cerrado, *B. intermedia*, mostrou ser efetivo em baixas dosagens para amostras bacterianas isoladas de processos fermentativos diferentes e durante a fermentação apresentou resultados semelhantes ao produto comercial Kamoran® para o controle de microrganismos contaminantes do processo.

Os resultados obtidos acentuam qualidades desejáveis do extrato aquoso para uso nas unidades produtoras, por ser mais viável economicamente sua obtenção e ser facilmente solúvel, podendo ser uma alternativa para o controle microbiano em processos fermentativos para a produção de bioetanol.

A análise econômica definiu um preço de equilíbrio por quilo do extrato vegetal em valores bem inferior ao preço do antibiótico comercial, mas a margem bruta gerada a cada 100 milhões de litros de etanol produzido, permite admitir que seu preço possa ser muito maior que o preço de equilíbrio, utilizando parte da margem obtida para custear um valor maior por quilo do extrato vegetal aquoso de *Byrsonima intermedia*.

## 7 Referências

ABU-DARWISH, M. S.; EFFERTH, T. Medicinal plants from near east for cancer therapy. **Frontiers in pharmacology**, v. 9, p. 56, 2018.

ALTEMIMI, A.; LAKHSSASSI, N.; BAHARLOUEI, A.; WATSON, D. G.; LIGHTFOOT, D. A. Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. **Plants**, v. 6, n. 4, p. 42, 2017.

ANAND, U.; NANDY, S.; MUNDHRA, A.; DAS, N.; PANDEY, D. K.; DEY, A. A review on antimicrobial botanicals, phytochemicals and natural resistance modifying agents from Apocynaceae family: Possible therapeutic approaches against multidrug resistance in pathogenic microorganisms. **Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy**, v. 51, p. 100695-100695, 2020.

ALVES, T. M. D. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. D. F. A.; SMÂNIA JÚNIOR, A.; ZANI, C. L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 3, p. 367-373, 2000.

AMORIM, H. V.; LOPES, M. L.; DE CASTRO OLIVEIRA, J. V.; BUCKERIDGE, M. S.; GOLDMAN, G. H. Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, n. 5, p. 1267, 2011.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Biocombustíveis. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/biocombustiveis>. Acesso em: 23 Jun. 2020a.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Biocombustíveis. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/dados-estatisticos>. Acesso em: 29 Jun. 2020b.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 5a ed. 2010. v. 2, p. 1-523.

AZHAR, S. H. M.; ABDULLA, R.; JAMBO, S. A.; MARBAWI, H.; GANSAU, J. A.; FAIK, A. A. M.; RODRIGUES, K. F. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 10, p. 52–61, 2017.

BAILÃO, E. F. L. C.; DEVILLA, I. A.; DA CONCEIÇÃO, E. C.; BORGES, L. L. Bioactive compounds found in Brazilian Cerrado fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 23760-23783, 2015.

BECKNER, M.; IVEY, M. L.; PHISTER, T. G. Microbial contamination of fuel ethanol fermentations. **Letters in Applied Microbiology**, v. 53, n. 4, p. 387–394, 2011.

BHATIA, L.; JOHRI, S.; AHMAD, R. An economic and ecological perspective of ethanol production from renewable agro waste: a review. **Amb Express**, v. 2, n. 1, p. 1-19, 2012.

BIOMA LEGAL. Biomas no Estado de São Paulo – Resolução SMA nº146, 2017. Disponível em: [https://biomalegal.com.br/essential\\_grid/biomas-no-estado-de-sp-sma-146/](https://biomalegal.com.br/essential_grid/biomas-no-estado-de-sp-sma-146/). Acesso em: 07 Jul. 2020.

BIOTA. Integrando a caracterização, conservação, restauração e o uso sustentável da biodiversidade. Disponível em: <http://www.biota.org.br/>. Acesso em: 07 Jul. 2020.

BONA, E. A. M. D.; PINTO, F. G. D. S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. D. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e

determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 3, p. 218-225, 2014.

BREXÓ, R. P.; SANT'ANA, A. S. Impact and significance of microbial contamination during fermentation for bioethanol production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 73, p. 423–434, 2017.

CAETANO, A. C. G.; MADALENO, L. L. Controle de contaminantes na fermentação alcoólica com a aplicação de biocidas naturais. **Ciência & Tecnologia FATEC-JB**, v. 2, n. 1, p. 27–37, 2011.

CARDIM, R. Dia da árvore – homenagem aos muricis-do-campo paulistanos. 2011. <https://arvoresdesaopaulo.wordpress.com/2011/09/19/dia-da-arvore-homenagem-aos-muricis-do-campo-paulistanos/>. Acesso em: 07 Jul. 2020.

CARDOSO, C. R. P.; BAUAB, T. M.; VARANDA, E. A. Controle de qualidade e avaliação da atividade farmacológica do extrato de *Byrsonima intermedia* e da Amentoflavona. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 10, n. 3, p. 35-42, 2015.

CECCATO-ANTONINI, S. R. Conventional and nonconventional strategies for controlling bacterial contamination in fuel ethanol fermentations. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 34, n. 6, p. 80, 2018.

CEPEA – Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/consultas-ao-banco-de-dados-do-site.aspx>.

Acesso em: 15 Set. 2020.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Observatório Agrícola: monitoramento agrícola. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, Nono levantamento, Safra 2019/20, v. 7, n. 9, p. 1-66, junho, 2020a. Disponível em:

[https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/32042\\_910765cf5dc2d088c377e32cdef6fc72](https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/32042_910765cf5dc2d088c377e32cdef6fc72).

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Observatório Agrícola: Monitoramento agrícola – Cana-de-açúcar. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Cana-de-açúcar**. Primeiro levantamento, Safra 2020/21, v. 7, n. 1, p. 1-62, maio, 2020b. Disponível em: [https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/31188\\_59a3ca776bb30fa3764094b3acad2b1c](https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/31188_59a3ca776bb30fa3764094b3acad2b1c).

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. **Clinical Lab Standards Institute**. 26th ed. CLSI supplement M100S (ISBN 1-56238-923-8 [Print]; ISBN 1-56238-924-6 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2016.

DELLA-BIANA, B. E.; BASSO, T. O.; STAMBUK, B. U.; BASSO, L. C.; GOMBERT, A. K. 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, S. J.; LIN, X. H.; LI, H. 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.

ECKERT, C. T.; FRIGO, E. P.; ALBRECHT, L. P.; ALBRECHT, A. J. P.; CHRIST, D.; SANTOS, W. G.; BERKEMBROCK, E.; EGEWARTH, V. A. Maize ethanol production in Brazil: Characteristics and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 3907-3912, 2018.

EPE. Empresa de Pesquisa Energética. **Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis, ano 2018**. Anuário. Rio de Janeiro: Ministério de Minas e Energia, 2019. 77 p.

EUROPEIA, Comissão. Comunicação da comissão ao parlamento europeu, ao conselho, ao comité económico e social europeu e ao comité das regiões. **Relatório intercalar sobre as energias renováveis**, v. 225, 2019.

FREITAS, M. D.; ROMANO, F. P. Tipos de contaminações bacterianas presentes no processo de fermentação alcoólica. **Bioenergia em Revista**, v. 3, n. 2, p. 29–37, 2013.

FURTADO, J. M.; DA SILVA AMORIM, Á.; DE MACEDO FERNANDES, M. V.; OLIVEIRA, M. A. S. 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, p. 233-237, 2015.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.

GRASSI, M. C. B.; PEREIRA, G. A. G. Energy-cane and RenovaBio: Brazilian vectors to boost the development of Biofuels. **Industrial Crops and Products**, v. 129, p. 201-205, 2019.

GUILHON-SIMPLICIO, F.; PEREIRA, M. M. Aspectos químicos e farmacológicos de *Byrsonima* (Malpighiaceae). **Química Nova**, v. 34, n. 6, p. 1032-1041, 2011.

GYAWALI, Rabin; IBRAHIM, Salam A. Natural products as antimicrobial agents. **Food Control**, v. 46, p. 412-429, 2014

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. População do Brasil. População estimada. Disponível em: [https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/index.html?utm\\_source=portal&utm\\_medium=popclock&utm\\_campaign=novo\\_popclock](https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/index.html?utm_source=portal&utm_medium=popclock&utm_campaign=novo_popclock). Acesso em: 07 Ago 2019.

KHAMENEH, B.; IRANSHAHY, M.; SOHEILI, V.; BAZZAZ, B. S. F. Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 8, n. 1, p. 118, 2019.

KLEIN, E. Y.; VAN BOECKEL, T. P.; MARTINEZ, E. M.; PANT, S.; GANDRA, S.; LEVIN, S. A.; GOOSSENS, H.; LAXMINARAYAN, R. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 15, p. E3463-E3470, 2018.

KUBILIENE, L.; JEKABSONE, A.; ZILIUS, M.; TRUMBECKAITE, S.; SIMANAVICIUTE, D.; GERBUTAVICIENE, R.; MAJIENE, D. Comparison of aqueous, polyethylene glycol-aqueous and ethanolic propolis extracts: antioxidant and mitochondria modulating properties. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 18, n. 1, p. 165, 2018.

LEITE, I. R.; FARIA, J. R.; MARQUEZ, L. D.; REIS, M. H.; DE RESENDE, M. M.; RIBEIRO, E. J.; CARDOSO, V. L. Evaluation of hop extract as a natural antibacterial agent in contaminated fuel ethanol fermentations. **Fuel Processing Technology**, v. 106, p. 611–618, 2013.

LIU, Q.; Meng, X.; Li, Y.; Zhao, C. N.; Tang, G. Y.; Li, H. B. Antibacterial and antifungal activities of spices. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 6, p. 1283, 2017.

LUCENA, B. T.; DOS SANTOS, B. M.; MOREIRA, J. L.; MOREIRA, A. P. B.; NUNES, A. C.; AZEVEDO, V.; MIYOSHI, A.; THOMPSON, F. L.; DE MORAIS, M. A *et al.* Diversity of lactic acid bacteria of the bioethanol process. **BMC Microbiology**, v. 10, n. 1, p. 298, 2010.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (M. M. A.). Biodiversidade Brasileira. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>. Acesso em: 07 Jul. 2020a.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (M. M. A.). O bioma cerrado. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>. Acesso em: 07 jul. 2020b.

MADALENO, L. L.; ARMOA, M. H.; SALARO, M. C. F. Control of contamination in dilution water used in molasses must preparation. **Ciência & Tecnologia**, v. 11, n. 1, p. 5-14, 2019.

MADALENO, L. L.; MINARI, G. D.; DE ANNUNZIO, F. R.; DE CARVALHO, M. R.; JÚNIOR, G. R. B.; SALES, D. C.; FRIGIERI, M. C. Use of antimicrobials for contamination control during ethanolic fermentation. **Científica**, v. 44, n. 2, p. 226–234, 2016.

MASSON, I. D. S.; COSTA, G. H. G.; ROVIERO, J. P.; FREITA, L. A. D.; MUTTON, M. A.; MUTTON, M. J. R. Produção de bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, v. 45, n. 9, p. 1695-1700, 2015.

MICHELIN, D. C.; SANNOMIYA, M.; FIGUEIREDO, M. E.; RINALDO, D.; SANTOS, L. C. D.; SOUZA-BRITO, A. R.; VILEGAS, W.; SALGADO, H. Atividade antimicrobiana de espécies de *Byrsonima* (Malpighiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 690-695, 2008.

MOLONEY, M. G. Natural products as a source for novel antibiotics. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 37, n. 8, p. 689-701, 2016.

MOREIRA, L. Q. **Avaliação química e biológica da espécie *Byrsonina intermedia* A. Juss.** 2010. 162p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas: Bioquímica Agrícola), Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, 2010.

MUTHAIYAN, A.; LIMAYEM, A.; RICKE, S. 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.

MUTTON, M. J. R.; OLIVEIRA FILHO, J. H. D.; COSTA, G. H. G.; ROVIERO, J. P.; FREITA, L. A. D. Green and brown propolis: efficient natural biocides for the control of bacterial contamination of alcoholic fermentation of distilled beverage. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 4, p. 767-772, 2014.

NAGHSHBANDI, M. P; TABATABAEI, M.; AGHBASHLO, M.; GUPTA, V. K.; SULAIMAN, A.; KARIMI, K.; MOGHIMI, H.; MALEKI, M. Progress toward improving ethanol production through decreased glycerol generation in *Saccharomyces cerevisiae* by metabolic and genetic engineering approaches. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 115, p. 109353, 2019.

NARENDRANATH, N. V. Bacterial contamination and control in ethanol production. In: JACQUES, K. A.; LYONS, T. P.; KELSALL, D.R. (Editors). **The Alcohol Textbook: A reference for the beverage, fuel and industrial alcohol industries.** 4th. ed. Nottingham, UK: Alltech Inc, 2003. Chapter 20, p. 287-298.

NASCIMENTO, A.M. **Avaliação da qualidade de extratos de *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville.** 2008. 159p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

NAVES, R. F.; FERNANDES, F. D. S.; PINTO, O. G.; NAVES, P. L. F. Contaminação microbiana nas etapas do processamento e sua influência no rendimento fermentativo em usinas alcooleiras. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, p. 1–16, 2010.

NIELSEN J.; LARSSON C.; VAN MARIS A.; PRONK J. Metabolic engineering of yeast for production of fuels and chemicals. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 24, n. 3, p. 398–404, 2013.

OLIVEIRA, J. A.; GARBIN, J. R.; CAMARA, C.; FRIGIERI, M. C.; MADALENO, L. L. Radiação Ultravioleta no controle dos microrganismos na água de diluição e no mosto de melação. **STAB**, v. 32, n.1, p. 49-53, 2013.

OSTROSKY, E. A.; Mizumoto, M. K.; Lima, M. E.; Kaneko, T. M.; Nishikawa, S. O.; Freitas, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

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

PRONK, J. T.; YDE STEENSMA, H.; VAN DIJKEN, J. P. Pyruvate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. **Yeast**, v. 12, n. 16, p. 1607-1633, 1996.

RAVANELI, G. C.; GARCIA, D. B.; MADALENO, L. L.; MUTTON, M. Â.; STUPIELLO, J. P.; MUTTON, M. J. R. Spittlebug impacts on sugarcane quality and ethanol production. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 46, n. 2, p. 120–129, 2011.

RFA. Industry statistics, Renewable Fuels Association, Washington, DC., USA. Disponível em: <https://ethanolrfa.org/statistics/annual-ethanol-production/>. Acesso em: 7 Jul. 2020.

RICH, J. O.; BISCHOFF, K. M.; LEATHERS, T. D.; ANDERSON, A. M.; LIU, S.; SKORY, C. D. Resolving bacterial contamination of fuel ethanol fermentations with beneficial bacteria – An alternative to antibiotic treatment. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 357–362, 2018.

RICH, J. O.; LEATHERS, T. D.; BISCHOFF, K. M.; ANDERSON, A. M.; NUNNALLY, M. S. Biofilmformation and ethanol inhibition by bacterial contaminants of biofuel fermentation. **Bioresource Technology**, v. 196, p. 347-354, 2015.

ROITMAN, Tamar. Programas internacionais de incentivo aos biocombustíveis e o RenovaBio. **Boletim de Conjuntura**, n. 3, p. 19-25, 2019.

SALAM, A. M.; QUAVE, C. L. Opportunities for plant natural products in infection control. **Current Opinion in Microbiology**, v. 45, p. 189-194, 2018.

SALES, G. W. P.; BATISTA, A. H. M.; ROCHA, L. Q.; NOGUEIRA, N. A. P. Efeito antimicrobiano e modulador do óleo essencial extraído da casca de frutos da *Hymenaea courbaril* L. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 35, n. 4, p. 709-715, 2014.

SANTOS, M. A.; SOUZA, A. C. C. Aspectos da conversão de glicerol em etanol: análise bibliográfica. In: **ENEPEX: Encontro de ensino, pesquisa e extensão, 8º ENEPE UFGD–5º EPEX UEMS**, 2014. Disponível em: <http://eventos.ufgd.edu.br/enepex/anais/arquivos/375.pdf>. Acesso em: 28 Jul 2020.

SANTOS, R. D. C.; BONAMIN, F.; PÉRICO, L. L.; RODRIGUES, V. P.; ZANATTA, A. C.; RODRIGUES, C. M.; TAMASHIRO, J. *Byrsonima intermedia* A. Juss partitions promote gastroprotection against peptic ulcers and improve healing through antioxidant and anti-inflammatory activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, p. 1112-1123, 2019.

SANTOS, R. D. C.; PÉRICO, L. L.; RODRIGUES, V. P.; SANNOMIYA, M.; DA ROCHA, L. R. M.; HIRUMA-LIMA, C. A. *Byrsonima intermedia* A. Juss. In: ALBUQUERQUE, U. P.; PATIL, U.; MÁTHÉ, Á. (Eds.). **Medicinal and Aromatic Plants of South America**. Dordrecht: Springer Nature, 2018. p. 145-152.

SARRIS, D.; PAPANIKOLAOU, S. Biotechnological production of ethanol: biochemistry, processes and technologies. **Engineering in Life Sciences**, v. 16, n. 4, p. 307-329, 2016.

SCHNEIDER, Ferdinand (Ed.). **Sugar analysis: Official and tentative methods recommended by the international commission for uniform methods of sugar analysis (ICUMSA)**. 2nd. ed. Peterborough, England: ICUMSA, 1979.

SEKOAI, P. T.; MHLONGO, S. I.; EZEOKOLI, O. T. Progress in the development of methods used for the abatement of microbial contaminants in ethanol fermentations: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, p. 1-27, 2019.

SILVA, D. M. **Efeito de extratos vegetais e antibióticos sobre *Staphylococcus aureus* de origem bovina**. 2012. 45p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2012.

SILVA, D. C. M. N.; BARBON, F. F.; BRONZATTO, R. B. Comparação da eficiência fermentativa na produção de etanol por linhagem nativa e comercial de *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Científica de Ciências Aplicadas – FAIP**, v. 4, n. 7, p. 12-30, 2017.

TIWARI, P.; KUMAR, B.; KUMAR, M.; KAUR, M.; DEBNATH, J.; SHARMA, P. Comparative anthelmintic activity of aqueous and ethanolic stem extract of *Tinospora cordifolia*. **International Journal of Drug Development and Research**, v. 3, n. 1, p. 70-83, 2011.

TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia**. 12<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2016.

UNICA – UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR. Unicadata. 2020. Disponível em: <https://unicadata.com.br>.

UPADHYAY, A.; UPADHYAYA, I.; KOLLANOOR-JOHN, A.; VENKITANARAYANAN, K. Combating pathogenic microorganisms using plant-derived antimicrobials: a minireview of the mechanistic basis. **BioMed Research International**, v. 2014, Article ID 761741, p. 1-18, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/761741>.

VIDAL, M.F. Produção e uso de biocombustíveis no Brasil. **Caderno Setorial Etene**, v. 2, n. 79, p. 1-13, 2019.

WALTER, A. L.; Yang, D.; Zeng, Z.; Bayrock, D.; Urriola, P. E.; Shurson, G. C. Assessment of antibiotic resistance from long-term bacterial exposure to antibiotics commonly used in fuel ethanol production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 4, p. 66, 2019.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Report on surveillance of antibiotic consumption: 2016-2018**. early implementation. Geneva: World Health Organization, 2018.

ZABED, H.; SAHU, J. N.; SUELY, A.; BOYCE, A. N.; FARUQ, G. Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 71, p. 475-501, 2017.

ZHANG, Q. W.; LIN, L. G.; YE, W. C. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. **Chinese Medicine**, v. 13, n. 1, p. 20, 2018.