

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
GRADUAÇÃO EM QUÍMICA TECNOLÓGICA E INDUSTRIAL**

DAYANE DE SOUZA SANTOS

A OBTENÇÃO DA LEVEDURA SECA ATRAVÉS DO MÉTODO *SPRAY-DRYER*

**MACEIÓ – AL
2023**

DAYANE DE SOUZA SANTOS

A OBTENÇÃO DA LEVEDURA SECA ATRAVÉS DO MÉTODO *SPRAY-DRYER*

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como pré-requisito para obtenção do título de bacharel em Química Tecnológica e Industrial.

Orientador: Prof. Dr. José Edmundo Accioly de Souza

MACEIÓ - AL
2023

**Catálogo na Fonte Universidade
Federal de Alagoas Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S237o Santos, Dayane de Souza.

A obtenção da levedura seca através do método *Spray-Dryer* / Dayane de Souza Santos. – Maceió, 2023.

56 f. : il.

Orientador: José Edmundo Accioly de Souza.

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Química Tecnológica e Industrial) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 50-56.

1. Leveduras. 2. *Spray-Dryer*. 3. Etanol. I. Título.

CDU: 664.642

FOLHA DE APROVAÇÃO

DAYANE DE SOUZA SANTOS

A OBTENÇÃO DA LEVEDURA SECA ATRAVÉS DO MÉTODO *SPRAY-DRYER*

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como pré-requisito para obtenção do título de bacharel em Química Tecnológica e Industrial.

Banca Examinadora:

Orientador: Prof. Dr. José Edmundo Accioly de Souza
(Universidade Federal de Alagoas)

Examinador Interno: Prof^a. Dr^a. Carmen Lúcia Paiva e Silva Zanta
(Universidade Federal de Alagoas)

Examinador Interno: Prof^a. Dr^a. Sônia Salgueiro Machado
(Universidade Federal de Alagoas)

Examinador Externo: Dr^a. Juliana Cristina Pereira Lima Paulino

AGRADECIMENTOS

A DEUS por ter me dado o dom da vida e por abençoar meu caminho. Pela sabedoria que me concedeu, por ter me dado saúde e força para enfrentar as dificuldades e por tornar possível a realização de todos os meus sonhos e objetivos.

Aos meus pais Edna e Jaelson, por serem pessoas tão maravilhosas e exemplares, a quem me espelho todos os dias por sua garra e determinação para vencer na vida. A eles agradeço também pela educação que me foi dada, por sempre acreditarem em mim e pelo total apoio perante todas as dificuldades que enfrentei.

Ao meu irmão Italo que sempre se faz presente, por seguir ao meu lado me dando total apoio, por todos os conselhos e por ter me guiado durante toda minha vida.

Ao meu noivo Joel, por ter me auxiliado em todos os momentos que precisei, superando as dificuldades ao meu lado, me incentivando e sendo paciente.

Aos meus amigos que fizeram essa jornada ser mais leve, em especial Tamyrys e Maria Neudsvânia. Obrigada pela parceria durante toda a graduação.

Ao meu amigo José Elyton, por toda a sua paciência e conhecimento que me foi concedido. Obrigada por toda motivação e por sua disposição em sempre me ajudar quando necessitei.

A esta universidade, onde sempre almejei fazer parte, seu corpo docente e em especial ao meu orientador Edmundo Accioly por toda troca durante as aulas e por me guiar e orientar durante esse processo.

O meu sincero e muito obrigada a todos vocês.

Dedico esse trabalho a minha avó Izabel (*in
memorian*) por todo o seu amor e paciência.
Lembrarei para sempre da calma do seu colo.

RESUMO

A busca pela produção de um combustível menos agressivo ao meio ambiente tem apontado o etanol como o produto mais favorável, sendo ele uma fonte de energia renovável. A alta produção desse biocombustível demanda uma alta eficiência dos processos fermentativos das indústrias sucroenergéticas, que por consequência tendem a aumentar a propagação de células de leveduras na fermentação. Contudo por muito tempo o resíduo de levedura morta e até mesmo o excedente de células vivas não eram reutilizadas por não conhecer alguma finalidade viável e com bom custo-benefício. Através de um longo período de estudos foi comprovado o alto teor de proteína presente nas células e com isso o interesse pela secagem da levedura para a comercialização como fonte de proteína tomou grandes proporções pois, a indústria reconheceu o potencial de alavancar sua receita reutilizando as leveduras criando assim um novo produto. Desse modo, neste trabalho buscou-se relatar através de um estudo bibliográfico o histórico da levedura bem como os produtos provenientes da sua utilização. Além disso, por meio pesquisa de campo, procurou-se conhecer a aplicação do método *Spray-Dryer* na produção de levedura seca e ainda realizar análises físico-químicas que são essenciais para garantir a excelente qualidade do produto.

Palavras-Chave: Levedura seca; *Spray-Dryer*; Etanol.

ABSTRACT

The search for the production of a fuel that is less aggressive to the environment has pointed to ethanol as the most favorable product, as it is a source of renewable energy. The high production of this biofuel demands a high efficiency of the fermentation processes of the sugar-energy industries, which consequently tend to increase the propagation of yeast cells in fermentation. However, for a long time, the residue of dead yeast and even the surplus of living cells were not reused because they did not know of any viable and cost-effective purpose. Through a long period of studies, the high protein content present in the cells was proven and, with that, the interest in drying yeast for commercialization as a source of protein took on great proportions, as the industry recognized the potential of leveraging its recipe by reusing yeasts. thus creating a new product. Thus, this work sought to report through a bibliographical study the history of yeast as well as the products derived from its use. In addition, through field research, we sought to learn about the application of the Spray-Dryer method in the production of dry yeast and also to carry out physical-chemical analyzes that are essential to guarantee the excellent quality of the product.

Key words: Dry yeast; Spray-Dryer; Ethanol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	– Células de leveduras vista em microscopia eletrônica de varredura (MEV)	14
Figura 02	– Estrutura da célula de levedura	16
Figura 03	– Resumo do processo de fermentação	18
Figura 04	– Esquema simplificado de fermentação contínua com tanques em série e reciclo do inóculo	20
Figura 05	– Esquema simplificado do processo Melle-Boinot alimentado	22
Figura 06	– Instalação de sistema de secagem e pulverização	25
Figura 07	– Câmara de secagem com fluxo cocorrente	26
Figura 08	– Câmara de secagem com fluxo contracorrente	27
Figura 09	– Projeto de dois tipos de ciclones com entradas de ar diferentes	28
Figura 10	– Sistema de separação entre vapor e partícula sólida	29
Figura 11	– Esquema da composição e estrutura da parede celular da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	33
Figura 12	– Extrato de levedura obtido pela autólise após a separação da parede celular	34
Figura 13	– Fluxograma da Fermentação Alcoólica	36
Figura 14	– (A) Amostra após a adição de ácido sulfúrico concentrado. (B) Amostra após a completa digestão	40
Figura 15	– Reações da etapa de digestão do Nitrogênio	41
Figura 16	– Formação de pequenos cristais no tubo após o resfriamento da amostra	41
Figura 17	– Reação de destilação	42
Figura 18	– (A) Preparação dos Erlenmeyer. (B) Sistema de destilação	42
Figura 19	– Amostra após a destilação	43
Figura 20	– Reações de formação da amônia e do borato de amônio	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Parâmetros de qualidade da levedura seca	39
Tabela 2 –	Resultado das amostras analisadas na unidade de estudo	45

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo Geral.....	11
2.2. Objetivo Específico.....	11
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
3.1. Breve histórico	12
3.2. A levedura.....	13
3.3. Fermentação Alcoólica	16
3.4. Processos Fermentativos	19
3.4.1. Processo Contínuo	19
3.4.2. Processo em Batelada	20
3.5. Processo em Batelada Alimentada.....	21
3.6. Produção de levedura seca	23
3.7. Processo <i>Spray-Dryer</i>	24
3.8. Levedura Inativa	29
3.9. Levedura Autolisada	31
3.10. Parede Celular	32
4. MATERIAIS E MÉTODOS	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
5.1. Obtenção do creme de levedura.....	36
5.2. Tratamento do creme de levedura.....	38
5.3. Secagem por <i>Spray-Dryer</i>	39
5.4. Análises laboratoriais.....	39
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
7. REFERÊNCIAS	50

1. INTRODUÇÃO

O etanol é um biocombustível proveniente da fermentação alcoólica realizada em grandes indústrias sucroenergéticas que estão localizadas em diversos lugares do mundo. No Brasil ele é responsável por uma grande parcela da geração de emprego da população que sobrevive através da renda proveniente da produção do etanol nas indústrias ou até mesmo do cultivo da sua matéria prima, que em geral é a cana-de-açúcar (SONEGO, 2016).

Segundo dados da Nova Cana a produção de etanol relacionada a safra 2021/2022 foi de 29,98 bilhões de litros, prevendo um aumento para a safra de 2022/2023 sendo estimada a produção de 31,66 bilhões de litros de etanol. As principais responsáveis pela conversão dos açúcares contidos na cana-de-açúcar em etanol são as leveduras, em especial a da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Através do mecanismo de respiração celular, o que para a célula trata-se de uma questão de sobrevivência em contrapartida produz um combustível considerado limpo e muito útil para a utilização humana (SONEGO, 2016).

Durante a fermentação alcoólica onde os açúcares são convertidos em etanol através da ação das leveduras, também ocorre o processo de crescimento celular. As células de leveduras necessitam de boas condições de temperatura, nutrição, aeração e volume de mosto constante para que possam se desenvolver e se multiplicar. Graças ao seu curto tempo de vida, a medida com que as células de leveduras se reproduzem existe também a tendência de morte das células e todo o material celular que já não serve mais para a fermentação é descartado (PACHETO, 2016).

O resíduo de leveduras mortas e até mesmo o excesso de leveduras vivas presente na fermentação alcoólica, que também prejudica o rendimento do processo, não tinham um destino certo pois não se conhecia ainda uma forma viável para a sua utilização. Porém através de um grande período de estudo, foi constatado um grande potencial proteico presentes nas células de leveduras, que vem sendo muito utilizado na suplementação de rações para animais (ROCHA, 2008).

A tecnologia do *Spray-Dryer*, a mesma que em alguns casos é utilizada na secagem de leite em pó, vem sendo implementada para a reutilização deste tipo de resíduo. Trata-se de uma tecnologia muito eficiente que originou uma nova fonte de renda para as indústrias, além de diminuir a geração de resíduos na produção do biocombustível (FILKOVÁ; HUANG; MUJUMDAR, 2006).

A grande utilização das leveduras em indústrias de alimentos, bebidas e biocombustíveis, tem alavancado o crescimento do mercado de comercialização das leveduras

seca. Segundo a Mordor Intelligence (2020) o mercado global de leveduras é dividido em segmentos através de seu tipo, leveduras especiais por tipo, forma e aplicação. A classificação pelo tipo engloba os segmentos de panificação, leveduras de cervejarias e produção de etanol, além das utilizadas nas fermentações de vinho. Com base nas leveduras especial por tipo, enquadram-se os extratos de leveduras e autolisados. Com base na forma, classificam-se em fermento seco ativo, fresco e instantâneo. Com base na aplicação, os segmentos são de alimentos incluindo as bebidas, indústrias de rações e também biocombustíveis (MORDOR INTELLIGENCE, 2020).

A estimativa de que o tamanho do mercado global de comercialização das leveduras e do extrato de leveduras cresça a uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 9,11% no período de 2020 a 2025, sendo a América do Norte a região líder na participação do mercado global (MORDOR INTELLIGENCE, 2020). Diante disso, o intuito do presente estudo é conhecer a produção de leveduras seca aplicando o método *Spray-Dryer* por intermédio da vivência na planta industrial, avaliando a qualidade do produto final através de análises físico-químicas realizadas no laboratório da própria indústria. Visa ainda conhecer a história das leveduras e os tipos de produtos que podem ser obtidos a partir da sua utilização por meio de um estudo bibliográfico.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Descrever as etapas da produção de leveduras seca através do método *Spray-Dryer*, bem como realizar análises físico-químicas para controle de qualidade do produto final.

2.2. Objetivo Específico

- Descrever por meio de estudo bibliográfico a história das leveduras;
- Conhecer o funcionamento do método *Spray-Dryer*;
- Conhecer os diferentes tipos de leveduras seca;
- Avaliar os níveis de proteína contido nas leveduras seca;
- Analisar os parâmetros de qualidade do produto final.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Breve histórico

O nomadismo foi o primeiro estilo de vida dos primeiros homens da história e foi abandonado a mais de 10 mil anos. Com a necessidade de novos hábitos, o homem aprendeu a plantar e cultivar seu próprio alimento passando a praticar a atividade agrícola e pecuária desenvolvendo o espírito de comunidade. A história das leveduras e o desenvolvimento da humanidade se cruzam a partir do momento que o ser humano percebe que poderia utilizar a leveduras para a produção de pães e vinhos para a sua alimentação. Alguns historiadores acreditam também que o desenvolvimento da civilização está diretamente ligado ao desejo que sentiram de beber cerveja (TEIXEIRA, 2015).

Para Money (2021, p. 15), a civilização está diretamente ligada ao consumo de cerveja e vinho tendo em vista que “era necessária uma aldeia inteira para fazer funcionar uma cervejaria ou para cuidar de um vinhedo”. A produção dessas bebidas naquele período está totalmente ligada a potabilidade da água. Tendo em vista que durante esse período a água para o consumo humano não era potável era através da fermentação que a água se tornava própria para o consumo, atuando como um tratamento de água. Isso fez com que o sentimento de comunidade e as relações sociais entre os povos se fortalecessem.

Sem o devido conhecimento em relação a existência das leveduras e a sua capacidade de fermentação, os homens das primeiras civilizações associavam o processo fermentativo a deusa Ninkasi. Após a exclusão desta teoria e através do avanço tecnológico daquela época, foi analisado por Antonie Van Leeuwenhoek uma gota de cerveja e através do microscópio constatou-se a presença das células de leveduras vista pela primeira vez no século XVII (MONEY, 2021)

Após a descoberta dos fungos novas teorias foram sendo desenvolvidas e com elas surgiram os questionamentos. Inicialmente acreditava-se que a leveduras era um produto proveniente da fermentação alcoólica e só após grandes estudos sobre a fermentação, principalmente dos vinhos, e após o decorrer de séculos foi descoberto que era a leveduras que produzia o álcool através de transformações químicas (LITI, 2015).

Mesmo considerando essa nova teoria, reconhecer a leveduras como uma célula, viva e capaz de fazer transformações químicas demandou um grande período. Ainda segundo Money (2021), os químicos orgânicos da época consideravam a leveduras um mineral precipitado proveniente da fermentação alcoólica, e ainda que a produção do etanol era exclusivamente

realizada através das reações químicas e não bioquímicas como atualmente é reconhecido. Money (2021, p.17) descreve que

[...] com evidências acumuladas nos anos 1860 a favor da levedura como catalisador, Louis Pasteur calou a maioria das vozes dissidentes com uma série de demonstrações experimentais brilhantes. Provou-se que a levedura era uma entidade viva e ela foi reconhecida como um microrganismo que proporciona consequências espetaculares para assuntos humanos.

A grande descoberta de tal microrganismos e sua ação natural na produção do etanol, permitiu que houvesse um controle do processo como um todo proporcionando grandes benefícios. Passaram então a aprimorar as técnicas produzindo pães, vinhos, coalhadas, além de diferentes tipos de cervejas, utilizando o que atualmente conhecemos como fermentação. Quando nos referimos as leveduras atualmente, vemos uma grande evolução ao compararmos com as primeiras descobertas. Houve um avanço tecnológico significativo que permitiu fazer uma melhor seleção de cepas mais resistentes ou com maior capacidade produtiva por exemplo (PRETORIUS, 2000).

Tal feito é importante, pois as leveduras deixaram de ser utilizadas apenas na produção de pães, vinhos e cervejas. Através da sua capacidade fermentativa é a responsável pela conversão do açúcar em etanol, tornando essa uma alternativa mais viável, afim de diminuir os problemas ambientais causados pela refinaria de petróleo na produção da gasolina. Além disso, é uma alternativa relativamente mais econômica, sustentável e renovável quando se trata da produção de combustíveis (WHITE, 2010).

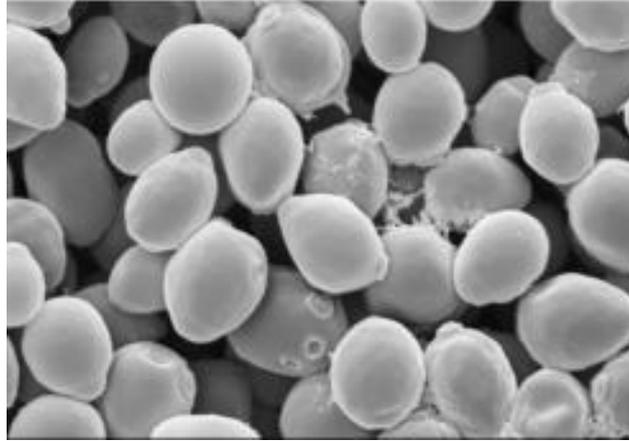
E não apenas na produção de combustíveis a leveduras é essencial, já que na atualidade ela está presente na produção de alimentos e formulação de medicamentos. Seu grande potencial proteico também vem sendo vastamente utilizado como uma alternativa na substituição da proteína proveniente da soja, demonstrando a grande evolução desse fundo e suas aplicações (TEIXEIRA, 2015).

3.2. As leveduras

Pertencente a classe dos fungos, as leveduras (Figura 1) são microrganismos que apresentam forma unicelular, ou seja, que são formados por uma única célula. A do gênero *Saccharomyces* tornou-se mais popular não apenas por sua grande aplicação na produção de pães, vinhos, mas também devido a sua importante contribuição nas indústrias

sucroenergéticas, especificamente no processo fermentativo da produção de etanol (SANTOS, 2015).

Figura 1: Células de leveduras vista em microscopia eletrônica de varredura (MEV)



Fonte: Vitor, 2014, p. 78.

As leveduras compõem o Filo Ascomycota, que as torna capazes de se reproduzir de forma assexuada através dos conídios e também por meio dos ascósporos por meio da reprodução sexuada. É comum, principalmente na fermentação alcoólica, que a multiplicação das leveduras seja realizada de forma assexuada e anaeróbica, ou seja, na ausência de oxigênio. Esse processo é denominado gemulação ou brotamento (OLIVEIRA, 2014). A espécie *Saccharomyces cerevisiae* possui características ascomicética gemulante. Através da microscopia foi possível determinar suas características morfológicas, onde suas células apresentam formas esféricas e ovoides com dimensões que variam entre 1 e 5 μm de comprimento e 5 a 30 μm de largura (VIANA, 2017).

Sua multiplicação se dá por meio da gemulação ou brotamento, que é a forma mais comum de reprodução das leveduras. De acordo com Tortora et al. (2017), uma célula de leveduras é capaz de produzir mais de 24 células-filhas por brotamento, onde em alguns casos, os brotos produzidos não se separam da célula-mãe gerando uma pequena cadeia celular denominada por pseudo-hifa.

No brotamento a célula parental forma uma protuberância (brotos) em sua superfície externa. À medida que o broto se alonga, o núcleo da célula parental divide-se, e um dos núcleos migra para o broto. O material da parede celular é, então, sintetizado entre o broto e a célula parental e, por fim, o broto acaba se separando (TORTORA et al., 2017, p. 322).

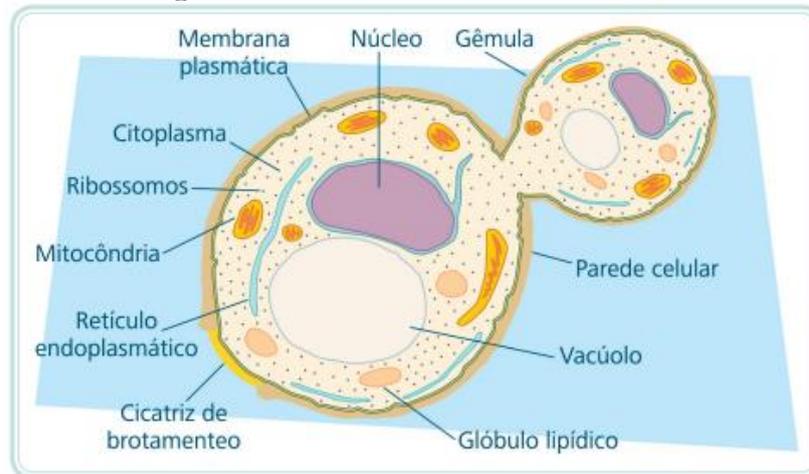
Esse processo acontece sucessivas vezes durante a vida das leveduras madura e a gemulação dos novos brotos ocorrem de forma a percorrer toda a superfície da célula, em diferentes pontos. A cada novo brotamento formado e separado, uma cicatriz é deixada na célula-mãe. Com isso é possível através de micrografias eletrônica identificar e diferenciar qual célula de leveduras já gerou broto (VIANA, 2017).

É importante ressaltar que esse tipo de reprodução por gemulação ou brotamento ocorre quando o ambiente é favorável para a multiplicação das células. Para que isso ocorra é necessário que o meio em que a leveduras está exposta seja relativamente rico quanto a nutrientes e açúcares, possibilitando a reprodução de forma assexuada. Caso as células estejam expostas a um meio de cultivo desfavorável e em condições de estresse, a reprodução passará a ser de forma sexuada através dos ascósporos (OLIVEIRA, 2014).

Quanto suas características morfológicas, a depender do tipo de leveduras, pode haver diferença. É possível que se encontre na natureza uma grande diversidade de leveduras que possui diferentes formas e características, tais como a espécie *Debaryomyces* com formato esférico; triangulares, como as *Trigonopsis*; e até apresentando formas que se assemelham a um limão, cujas características são do gênero *Hanseniaspora*. É importante que se tenha conhecimento quanto a essas características pois a depender do formato da célula, a forma de organização das colônias pode sofrer alterações. Isso irá impactar diretamente na capacidade fermentativa das células (VIANA, 2017).

É comum encontrar nos processos industriais leveduras com características morfológicas descritas para o gênero *Saccharomyces cerevisiae*. As células apresentam forma elípticas e ovais e não possuem flagelos. Além disso são capazes de formar colônias com aparência cremosa, onde as células apresentam bordas regulares e aspecto brilhante. Semelhante ao corpo humano, entre 70 a 80% de sua célula é composta por água, atuando como solvente de outras moléculas (NASCIMENTO et al, 2018).

As informações obtidas durante diversos estudos realizados ao longo de décadas tendo como base a *Saccharomyces cerevisiae*, foram capazes de demonstrar a estrutura (Figura 2) pela qual as leveduras são compostas. Ela apresenta parede celular, membrana plasmática, núcleo, mitocôndrias e vacúolo e cada um tem uma função essencial para o bom funcionamento da célula (SANTOS, 2018).

Figura 2: Estrutura da célula de leveduras

Fonte: CTISM (2012 apud VIEIRA; FERNANDES, 2012).

A parte exterior da célula é a denominada como parede celular, sendo a responsável por dar forma e proteger o seu interior. Normalmente é composta por proteínas, carboidratos e quitina, esta, na proporção de 1 a 2%. Geralmente são encontradas nas células cerca de 30 a 34% de glicano, 30% manano, 6 a 8% de proteínas e 8,5 a 13,5% de lipídeos. É uma camada muito rica em nutrientes que trazem benefícios tanto para a célula quanto para as indústrias que desejam processar esse tipo de material. A função da membrana citoplasmática nas células de leveduras é permitir que os nutrientes possam adentrá-la de maneira selecionada. Sua composição é de glicoproteínas, lipídeos e ergosterol. Já no citoplasma é onde se encontra as enzimas, glicogênio, trealose, ribossomos e polifosfatos (VIEIRA; FERNANDES, 2012).

O vacúolo é responsável pelo armazenamento de substâncias como enzimas e aminoácidos, apresentando forma circular e envolto por uma simples membrana. Já as mitocôndrias são essenciais na respiração celular da célula, produzindo energia para ela e podendo ser encontradas distribuídas pelo citoplasma. Quanto ao núcleo apresenta funções metabólicas e reprodutivas da célula, sendo facilmente possível identifica-lo através de microscópio eletrônico (VIEIRA; FERNANDES, 2012).

3.3. Fermentação Alcoólica

A fermentação foi inserida na civilização junto com as leveduras trazendo muitos benefícios para a vida em sociedade, pois o consumo de fermentados e principalmente dos vinhos, era indispensável para os primeiros povos civilizados. A técnica antes primitiva avançou e com isso novas tecnologias foram sendo desenvolvidas para facilitar e até mesmo

melhorar o produto final. Além disso, a fermentação é imprescindível para a produção do etanol que hoje movimenta boa parte da economia do Brasil e do mundo (LIMA, 2007).

Também conhecida como respiração anaeróbica, a fermentação é um processo de degradação que é realizada por microrganismos com a finalidade de gerar energia. Esse procedimento ocorre na ausência de oxigênio e a partir de compostos orgânicos sendo os açúcares, em especial a glicose, os mais empregados. Podendo ser aplicado em diversas áreas, a fermentação apresenta sua importância em cada seguimento em que é utilizada. Sua utilização na indústria sucroenergética é vital para a produção do etanol, no decorrer de alguns anos até hoje, vem reduzindo a dependência das fontes de energias não renováveis (PIMENTEL; APOSTOLO; FERNANDES, 2008; LIMA, 2007).

Na produção dos vinhos, cervejas, cachaças e afins, sua aplicação também se torna indispensável. Sem ela não seria possível consumi-los pois provavelmente não existiriam. Além disso, o processo fermentativo na produção de alimentos traz diversos benefícios, tais como a própria conservação dos alimentos pois existe a produção de compostos que são capazes de inibir a proliferação de microrganismos degradadores, aumentando a segurança alimentar do produto (MARCON, 2018).

Sua atuação no setor sucroenergético ocorre na etapa mais importante da produção de etanol. Quando a fermentação alcoólica não é desenvolvida de forma controlada atendendo rigorosamente todos os parâmetros pré-definidos, é certo que a produção do etanol será prejudicada (MARCON, 2018).

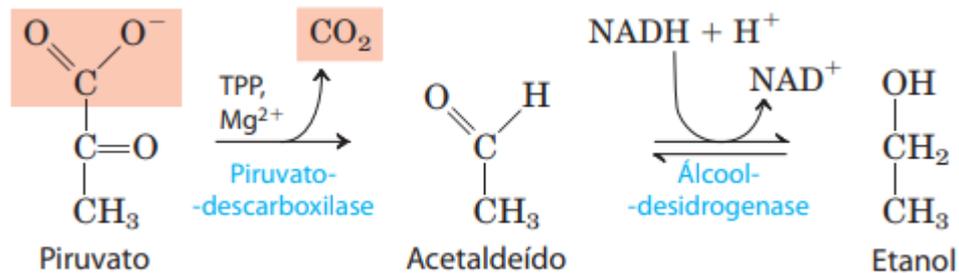
Ribeiro et al. (2018, p. 148) define fermentação alcoólica como “[...] o metabolismo de carboidratos com a produção de etanol, CO₂ e de energia para as funções vitais da célula das leveduras. Todos os carboidratos fermentescíveis, principalmente a glicose, a maltose e a maltotriose, são metabolizados pelas leveduras e produzem etanol”. Portanto, a fermentação é indispensável para a sobrevivência das leveduras, pois através dela as leveduras conseguem metabolizar açúcares produzindo a energia necessária para a sua sobrevivência.

Nas usinas instaladas no Brasil, a fonte de açúcar utilizada na fermentação alcoólica é o mosto (líquido açucarado fermentável), que é composto pelo caldo de cana e enriquecido através do melaço ou mel final, que é um subproduto proveniente da fabricação do açúcar, rico em glicose e frutose. Em alguns casos o mosto pode ser constituído apenas pelo melaço e água, onde a mesma é utilizada para a diluir os sólidos e corrigir o brix do mosto (LIMA, 2007).

As leveduras se alimentam do açúcar que é fornecido e liberam etanol, CO₂ e energia livre, em forma de ATP. Inicialmente ocorre a degradação da glicose através da glicólise produzindo piruvato que posteriormente será convertido a etanol e CO₂. Na primeira etapa da

reação após a degradação da glicólise, o piruvato é descarboxilado por meio de uma reação de oxidação irreversível conhecida por piruvato-descarboxilase produzindo acetaldeído. Posteriormente o acetaldeído é reduzido a etanol por meio álcool-desidrogenase através do poder redutor pelo NADH (Figura 3) (LEHNINGER, 2014).

Figura 3: Resumo do processo de fermentação



Fonte: Lehninger, 2014.

É importante ressaltar que o rendimento energético da fermentação é considerado baixo, tendo em vista que a maior parte da energia fica retida no etanol, restando como energia livre apenas duas moléculas de ATP. O consumo de energia para realizar a fermentação também é alto, já que na etapa da glicólise existe um gasto de dois ATPs. A fermentação alcoólica pode ser dividida em 3 fases, sendo elas a preliminar, tumultuosa e a fase final (TORTORA; FUNKE; CASE, 2006).

Schmidell et al. (2001), define a fase preliminar como a lag-fase ou fase lag, onde inicia-se a partir do momento em que o levedo entra em contato com o mosto. Tal fase é caracterizada pela grande multiplicação de células com um leve aumento de temperatura e baixa liberação de gás carbônico. Nesse momento os açúcares que são metabolizados pelas leveduras são utilizados apenas para a reprodução celular.

A fase tumultuosa é caracterizada pelo grande desprendimento de CO₂, implicando na intensa formação de bolhas e espumas. Essa etapa indica que existe um grande número de células degradando o mosto fornecido no processo de alimentação, sendo a fase de maior durabilidade e elevação rápida de temperatura (SCHMIDELL et al., 2001).

Na fase complementar ou fase final ocorre a diminuição da liberação de CO₂, conseqüentemente a agitação do processo fermentativo também diminui. A temperatura é reduzida e os açúcares são consumidos, chegando ao final da fermentação. Existe alguns fatores químicos, físicos e microbiológicos que afetam diretamente a fermentação, tais como, pH,

oxigenação, nutrientes e inibidores (químico); temperatura e pressão osmótica (físico); presença de bactérias contaminantes, espécie de leveduras, linhagem e concentração (microbiológico) (LIMA, 2001; PEREIRA, 2020).

Em razão das grandes transformações químicas que ocorrem durante esse processo, é necessário que os parâmetros sejam rigorosamente atendidos. O ideal é que se mantenha a temperaturas na faixa de 26 a 35°C, pH entre 3,5 a 4 e viabilidade celular acima de 90%. Caso contrário as leveduras sofrem um grande estresse acarretando em problemas como o aumento da mortalidade das células e a diminuição do rendimento (PEREIRA, 2020).

3.4. Processos Fermentativos

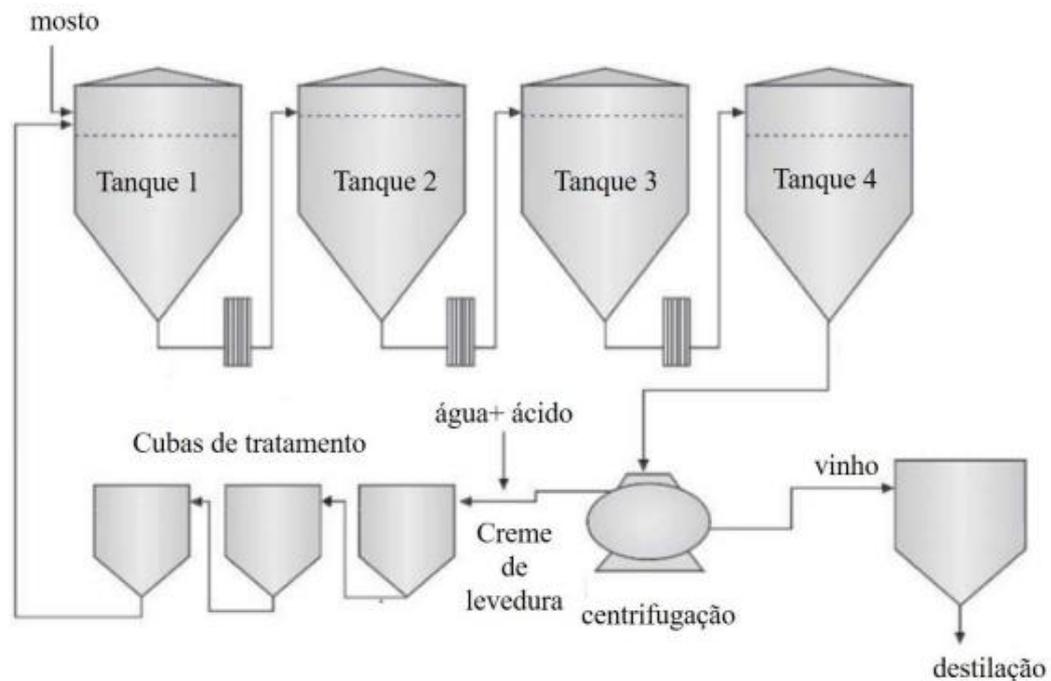
Podem ser classificados de acordo com o tipo do biorreator, a forma como o substrato (mosto) é adicionado ao fermento e ainda através do modo como o produto proveniente da fermentação é retirado. As formas mais comuns de se conduzir a fermentação alcoólica em uma indústria sucroenergética é através do processo contínuo, em batelada (descontínua) ou batelada alimentada (VELOSO, 2019).

Em ambos os processos pode ou não haver a recirculação das células. Quando ocorre essa reutilização, que é o caso mais comum nas indústrias, as células são separadas através das centrífugas e retornam para o processo, assim reduz o tempo que gastaria para preparar uma nova inoculação. Além disso, adotar esse processo de recirculação diminui a quantidade de células presentes no vinho delevurado, e como consequência, reduz a quantidade de carga orgânica que entrará em contato com as colunas de destilação, evitando incrustações (FERRARI, 2013).

3.4.1. Processo Contínuo

O processo de fermentação contínuo baseia-se na alimentação do inóculo (fermento) sem que haja a interrupção do processo. É necessário, portanto, que a vazão do caldo seja constante permitindo que as dornas de fermentação se mantenham sempre cheias durante todo o processo, podendo estas manterem-se interligadas entre si ou divididas em grupos. O método consiste na alimentação da primeira dorna ou de um grupo de dornas pela parte superior e em contrapartida o vinho é retirado por sua base e transferido para a dorna seguinte de forma constante como é demonstrado na Figura 4 (VELOSO, 2019).

Figura 4: Esquema simplificado de fermentação contínua com tanques em série e reciclo do inóculo.



Fonte: Adaptado de Lopes et al., 2016.

Esse sistema deve opera em regime permanente onde a concentração celular, a vazão do mosto que alimenta a dorna e o produto retirado devem se manter constantes durante todo o período em que a fermentação estiver acontecendo. Por essa razão apresenta algumas vantagens com relação ao processo descontínuo, tais como a diminuição do tempo morto, aumentando a produtividade do processo; obtenção do vinho levedado uniforme; manutenção das células em mesmo estado fisiológico e menor necessidade de mão de obra (VELOSO, 2019).

Em contrapartida o processo também apresenta desvantagens, pois necessita de um maior investimento inicial na planta; apresenta possibilidade de mutações genéticas espontâneas nas células das leveduras reduzindo sua produtividade; dificuldade na assepsia e consequentemente um aumento na contaminação bacteriana, além da dificuldade em operar em estado estacionário quando existe a formação de espumas, crescimento de microrganismos nas paredes do reator ou nas entradas e saídas de líquidos (SCHMIDELL et al., 2001).

3.4.2. Processo em Batelada

Utilizado desde a antiguidade, o método de fermentação descontínuo ou em batelada é considerado como um método clássico. Consiste na adição do inóculo, devidamente tratado e nutrido e do mosto a dorna de fermentação (biorreator) onde o processo fermentativo será realizado durante um determinado tempo, até que as leveduras consumam todo o açúcar contido no mosto ou que o brix da dorna se mantenha constante (SCHMIDELL et al., 2001; MENDES, 2014).

Vale ressaltar que durante o processo fermentativo é importante que seja adicionado a dorna apenas antiespumante para controlar a espuma produzida, ácido ou base para ajuste de pH e oxigênio caso o processo seja aeróbico (SCHMIDELL et al., 2001; SANTOS 2016). Ao final da fermentação ocorre a separação do fermento e do vinho levedurado, onde o fermento segue para o tratamento nos PF's e o vinho agora levedurado é destinado a destilação. Nesse tempo pós fermentação é importante que a dorna seja lavada e esterilizada para que em seguida o fermento e mosto sejam adicionados novamente a dorna para que o processo fermentativo ocorra novamente, evitando dessa forma, a propagação de contaminação bacteriana (SCHMIDELL et al., 2001).

Tratando-se de contaminação por meio de bactérias como é o caso das *Acetobacter* que são capazes de produzir ácido acético, a fermentação em batelada apresenta vantagens quando comparada a contínua, visto que ao final de cada processo fermentativo é possível e deve ser realizada a assepsia da dorna (SCHMIDELL et al., 2001).

3.5. Processo em Batelada Alimentada

O processo em batelada alimentada também é conhecido como Melle-Boinot, é uma variante da batelada, sendo ele o predominante nos processos fermentativos das indústrias sucroenergéticas brasileiras. É considerado um método muito eficiente e versátil, visto que não é utilizado apenas na fermentação alcoólica em destilarias, mas também em diversos processos onde a fermentação faz parte do desenvolvimento e obtenção de determinados produtos (SANTOS, 2019; ANTONINI, 2012).

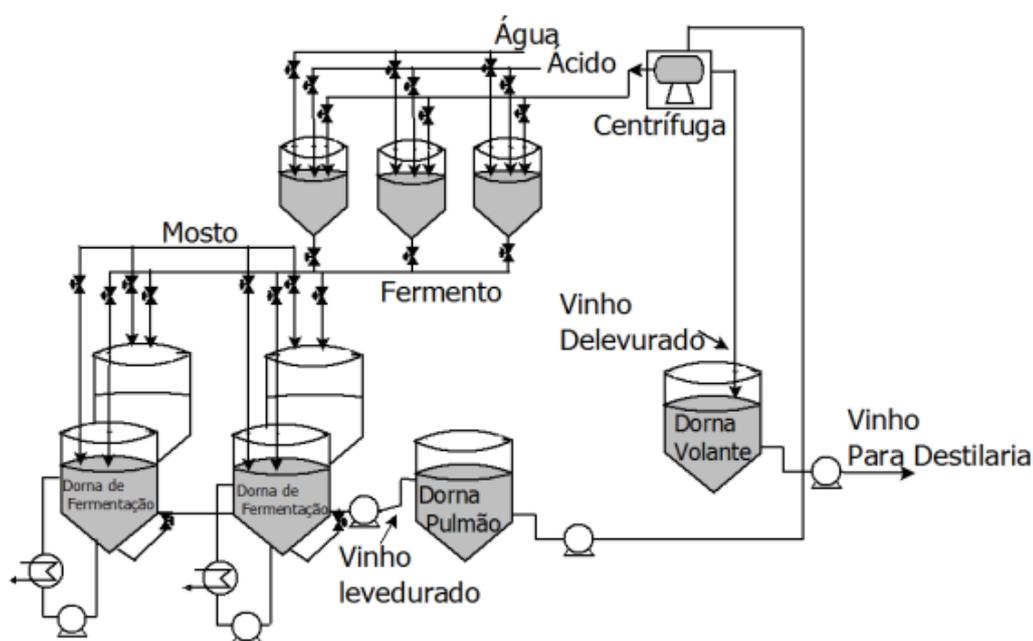
Para Schmidell et al. (2001, p. 206) “o processo descontínuo alimentado é definido como uma técnica em processos microbianos, onde um ou mais nutrientes são adicionados ao fermentador durante o cultivo e em que os produtos permaneçam até o final da fermentação”. Isso implica que assim como no processo em batelada, na batelada alimentada o fermento e o

mosto devem ser adicionados as dornas e permanecer nelas até que a fermentação seja concluída tendo sido metabolizado pelas células todo o açúcar contido no mosto.

A alimentação da dorna deve ser realizada de forma controlada, podendo a vazão do mosto variar ou se manter constante ao longo do período necessário para que a dorna alcance o seu volume ideal. Quanto ao fermento, sua adição a dorna de fermentação pode ser de forma contínua ou com interrupções e retornos (ALMEIDA, 2019).

Durante o processo fermentativo é importante que o brix das dornas esteja sendo monitorados no mínimo a cada hora, a fim de entender se o consumo dos açúcares pelas leveduras está sendo eficiente. Quando a fermentação é concluída e o brix zera ou se mantém constante, no processo Melle-Boinot (Figura 5), o vinho levedurado é destinado ao tanque pulmão, cuja função é alimentar as centrífugas que irá separar o vinho, que agora passa a ser delevurado, da suspensão concentrada de células (SANTOS, 2016).

Figura 5: Esquema simplificado do processo Melle-Boinot alimentado



Fonte: Adaptado Vasconcelos, 2010.

Com a separação do vinho levedurado e a obtenção das duas partes, o vinho delevurado segue para a dorna volante onde será armazenado e posteriormente encaminhado para as colunas de destilação, para a então obtenção do etanol. Já a suspensão concentrada de células (creme de leveduras) é enviada ao tratamento com ácido, que é uma inovação aplicada a esse tipo de processo em batelada alimentada. Este tratamento é importante pois já que existe o

reciclo das células, elas devem estar tratadas, nutridas e livres de contaminação bacteriana (SANTOS, 2016; SILVEIRA, 2016).

3.6. Produção de leveduras secas

Entende-se que a principal aplicação das leveduras, em especial as do gênero *Saccharomyces cerevisiae*, está nos processos fermentativos das grandes indústrias sucroenergéticas e nas produções de alimentos. Todavia esse cenário tem se modificado e a leveduras vem sendo aplicada em outras áreas como é o caso da sua utilização como suplemento dietético, quando existe a deficiência das vitaminas do complexo B; enriquecimento de rações animais e alimentos humano através da suplementação, tendo em vista o seu alto potencial proteico (SÁ, 2002).

Mesmo com a tendência de queda no consumo de etanol no Brasil, a produção do combustível ainda é significativa, tendo em vista que é esperado a produção de mais de 30 bilhões de litros de etanol na safra 22/23 entre cana-de-açúcar e milho (CONAB, 2022; NOVA CANA, 2022). Devido a produção significativa do etanol, conseqüentemente a multiplicação das leveduras irá aumentar. Visando conter o excedente e reduzir as perdas com as leveduras que era descartada por se depositar ao fundo da dorna, algumas indústrias foram em busca de novas tecnologias para fazer desse co-produto da fermentação, um produto para ser comercializado (SANTOS, 2009).

Vários estudos vêm sendo desenvolvidos ao longo de muitos anos para que se pudesse chegar na melhor forma de se obter o extrato de leveduras secas. Foram realizadas pesquisas desde a secagem das leveduras através de prensas constituídas por rolos até chegar ao método mais moderno, com a utilização da técnica em *Spray-Dryer*. Através desse método, o produto final passou a ter um valor nutricional e comercial muito maior do que o que era obtido através de prensa (SANTOS, 2009).

As leveduras secas podem ser consideradas como uma das fontes de proteínas mais seguras, isso agregado ao seu bom valor nutricional. O interesse industrial na sua implementação na produção de ração animal, surgiu graças ao reaparecimento em 1995, da Encefalopatia Espongiforme Transmissível, popularmente conhecido como o mal da vaca louca. Tal ressurgimento e graças a lei europeia que proíbe o uso de proteína animal fez com que a procura por fontes de proteínas de origem vegetal aumentasse, firmando as leveduras secas no mercado (SANTOS, 2009).

Atualmente é possível encontrar o extrato de leveduras secas em diferentes formas. A depender da tecnologia utilizada para essa finalidade, pode-se obter as leveduras ativas íntegra, inativa íntegra, parede celular seca, autolisada e hidrolisada (VIEIRA, 2016).

3.7. Processo *Spray-Dryer*

Atualmente o processo mais utilizado para a obtenção das leveduras secas é a atomização por *Spray-Dryer*. É uma técnica mundialmente conhecida e aplicada, sendo utilizada pela primeira vez em 1872 nos Estados Unidos. O princípio é o mesmo utilizado na produção de leite em pó e é o equipamento ideal para a secagem de materiais orgânicos com alta sensibilidade ao calor (OLIVEIRA, 2018).

A secagem do material ocorre por meio da pulverização das partículas, cuja técnica consiste no processamento de partículas suspensas através da atomização de líquidos, formando pequenas gotículas que serão secas de forma individual utilizando uma fonte de calor, onde geralmente é utilizado o vapor (FILKOVÁ; HUANG; MUJUMDAR, 2006).

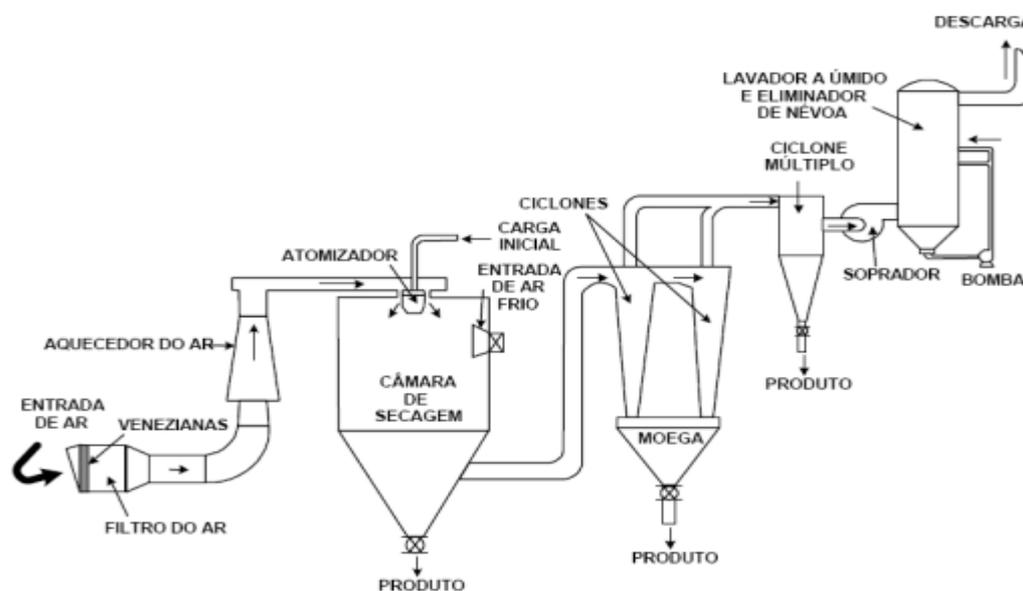
Uma grande parcela dos alimentos fluidos é processada através dessa tecnologia para a então obtenção de seus produtos secos. A maior aplicação no início da descoberta da técnica foi na indústria de laticínios, em especial na secagem do leite para então produzir o leite em pó. Desde 1800 a secagem por pulverização vem sendo utilizada para tais fins, porém atualmente devido a sua grande eficiência, sua utilização se expandiu para diversas áreas, tais como na secagem de produtos agroquímicos, biotecnológicos, químicos finos e pesados, corantes, minerais e produtos farmacêuticos (FILKOVÁ; HUANG; MUJUMDAR, 2006).

A obtenção do pó de qualquer produto através da atomização traz muitas vantagens, tendo em vista que é uma operação de baixa agressividade. O contato entre a partícula e a fonte de calor é realizada dentro de um período curto, com isso sua aplicação na secagem de produtos farmacêuticos e alimentícios é indispensável, tendo em vista a alta sensibilidade desses materiais. E não apenas a produtos farmacêuticos e alimentícios a técnica de *spray-dryer* é utilizada, o emprego desse tipo de processo é destinado a produtos lácteos, plasma sanguíneo, produtos orgânicos e inorgânicos, látex, detergentes e afins (FILKOVÁ; HUANG; MUJUMDAR, 2006).

Além disso a atomização apresenta condições de operação que são facilmente controladas, rápida e contínua, onde a evaporação da água presente nas partículas ocorre em fração de segundos (OLIVEIRA, 2018). O processo em *spray-dryer* (Figura 6) é dividido nas etapas de atomização, evaporação da umidade e a separação do produto seco do ar de saída,

sendo a atomização a mais importante delas, devendo haver um rigoroso controle para que o produto final esteja dentro dos parâmetros desejados. Cada etapa deve ser realizada de acordo com o projeto e a operação do secador, em conjunto com as características químicas e físicas do produto que está sendo alimentado (FILKOVÁ; HUANG; MUJUMDAR, 2006).

Figura 6: Instalação de sistema de secagem e pulverização



Fonte: Foust et al., 1982.

A etapa de atomização é tida como a operação mais importante do processo por pulverização pois o tipo de atomizador utilizado é que determinará a energia necessária que será gasta para formar a névoa do material a ser seco, além do tamanho e distribuição granulométrica das gotas das partículas, sua trajetória e velocidade. Esses parâmetros influenciam diretamente no tamanho final da partícula e consequentemente na forma e características com que o produto final será obtido (FILKOVÁ; HUANG; MUJUMDAR, 2006).

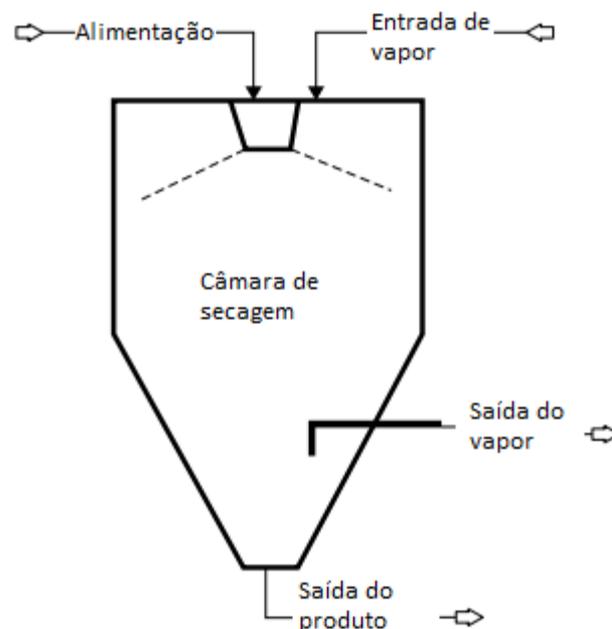
Para Anandharamkrishnan e Ishwarya (2015, p. 2) “A atomização é o coração da secagem por pulverização e é o primeiro processo de transformação que a alimentação sofre durante a secagem por pulverização”. Esse processo é capaz de transformar um metro cúbico de líquido em aproximadamente 2×10^{12} gotas uniformes apresentando tamanhos de 100 micrometros, apresentando uma área superficial total de mais de 60.000 m^2 . É essa alta relação superfície-volume que permite a secagem rápida e a redução de perdas dos compostos sensíveis ao calor.

Os tipos gerais de atomizadores disponíveis são os rotativos, de bico de pressão ou hidráulicos e os de bico pneumático de dois fluidos, sendo o último o menos utilizado e somente em casos especiais. A escolha do atomizador baseia-se na disponibilidade, flexibilidade, consumo de energia ou distribuição do tamanho da partícula do produto final quando o mesmo já estiver seco (FILKOVÁ; HUANG; MUJUMDAR, 2006; ANANDHARAMKRISHNAN e ISHWARYA, 2015).

Após o processo de atomização as pequenas partículas formadas devem entrar em contato com o jato de ar quente, geralmente vapor, para que possam então ser secas. Essa etapa nomeada de evaporação da umidade ocorre nas câmaras de secagem. O contato íntimo com o vapor faz com que toda a umidade presente nas gotículas evapore de maneira rápida e uniforme. Neste caso, para que a evaporação ocorra de forma satisfatória, é necessário que a distribuição do vapor através da câmara de secagem seja realizada de maneira uniforme por todas as partes (ANANDHARAMKRISHNAN e ISHWARYA, 2015).

A câmara normalmente apresenta um formato cilíndrico em seu topo com fundo cônico na sua base. O fluxo de ar quente utilizado na câmara de secagem pode ser através do contato cocorrente, contracorrente ou misto. No cocorrente (Figura 7) tanto as partículas quanto o fluxo de ar adentram a câmara de secagem em um mesmo sentido, sendo esse o mais aplicado nos atomizadores de roda e bico. Neste caso, a temperatura final do produto deverá ser inferior à do ar de entrada. (ANANDHARAMKRISHNAN e ISHWARYA, 2015).

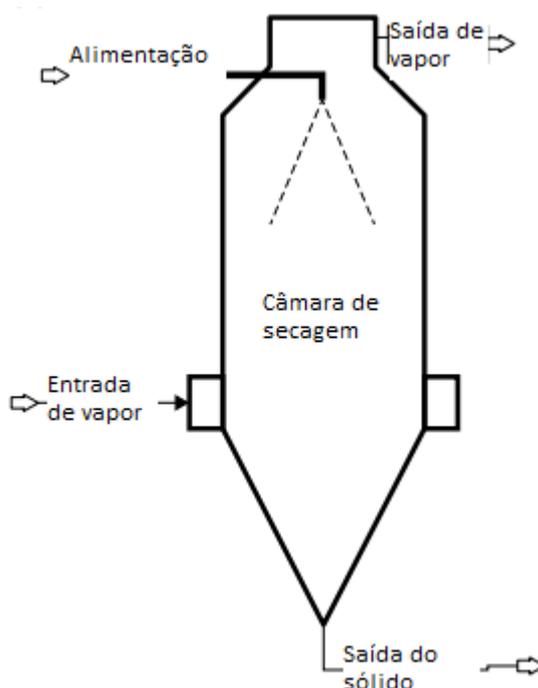
Figura 7: Câmara de secagem com fluxo cocorrente



Fonte: Adaptado de Anandharamkrishnan e Ishwarya., 2015.

Quando o fluxo é contracorrente (Figura 8) as partículas adentram a câmara de secagem em sentido oposto ao fluxo de ar quente. É um método muito utilizado quando o material a ser seco é bastante sensível ao calor, onde o produto final apresenta a temperatura maior do que o ar de saída. Já o de fluxo misto apresenta um sistema mais econômico e tem sido muito utilizado para a secagem de materiais resistentes a altas temperaturas, onde o projeto do secador utiliza o fluxo simultâneo e o contracorrente (ANANDHARAMKRISHNAN e ISHWARYA, 2015).

Figura 8: Câmara de secagem com fluxo contracorrente



Fonte: Adaptado de Anandharamkr e ishnan et al., 2015.

A temperatura durante a execução do processo de secagem por pulverização deve ser rigorosamente controlada pois é um parâmetro essencial para o bom desenvolvimento do processo e para a qualidade do produto final. A temperatura de entrada do ar de secagem está diretamente ligada com a capacidade de evaporação e com a eficiência térmica. Quando a temperatura se encontra elevada, a remoção da umidade será mais rápida, todavia, quando a fábrica funciona com temperaturas mais baixas é certo que haverá a preservação do produto pois a degradação dele será menor (OLIVEIRA, 2018).

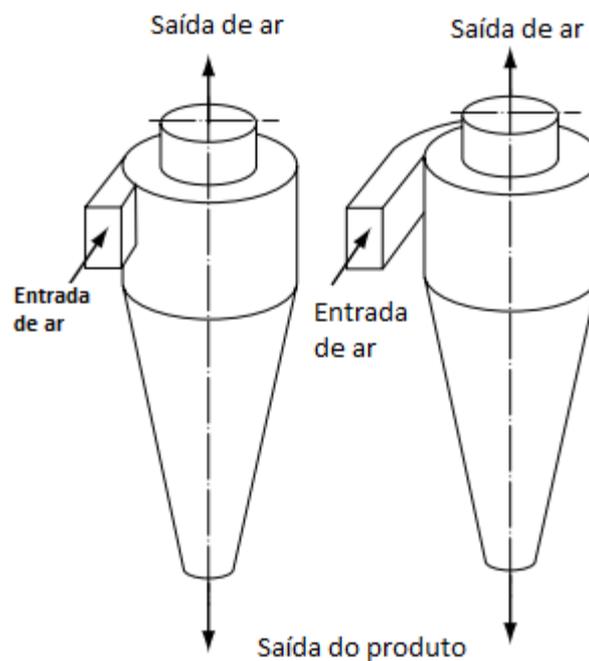
Levando em consideração o tempo de residência da partícula na câmara de secagem, o mesmo pode variar de acordo com o que se deseja obter. Em casos de remoção da umidade superficial, o tempo que a partícula ficará em contato com o ar quente será em média de 3

segundos podendo chegar a 30 segundos caso a umidade interna seja removida. (OLIVEIRA, 2018).

Após a etapa da retirada da umidade é realizada a separação entre o produto que foi seco do ar de saída. Uma vez que o pó é seco, ele irá ser depositado no fundo da câmara de secagem para então ser descarregado e é por essa razão que as câmaras de secagem são projetadas com fundo cônico. Para auxiliar nessa remoção são utilizados ciclones que normalmente estão integrados ao secador (ANANDHARAMKRISHNAN e ISHWARYA, 2015).

O ciclone (Figura 9) é constituído por duas partes, onde uma delas apresenta um formato cilíndrico e é comumente conhecido como barril. Já a outra parte possui um formato cônico, que está localizada na parte inferior do ciclone, conhecida como cone (ANANDHARAMKRISHNAN e ISHWARYA, 2015).

Figura 9: Projeto de dois tipos de ciclones com entradas de ar diferentes.

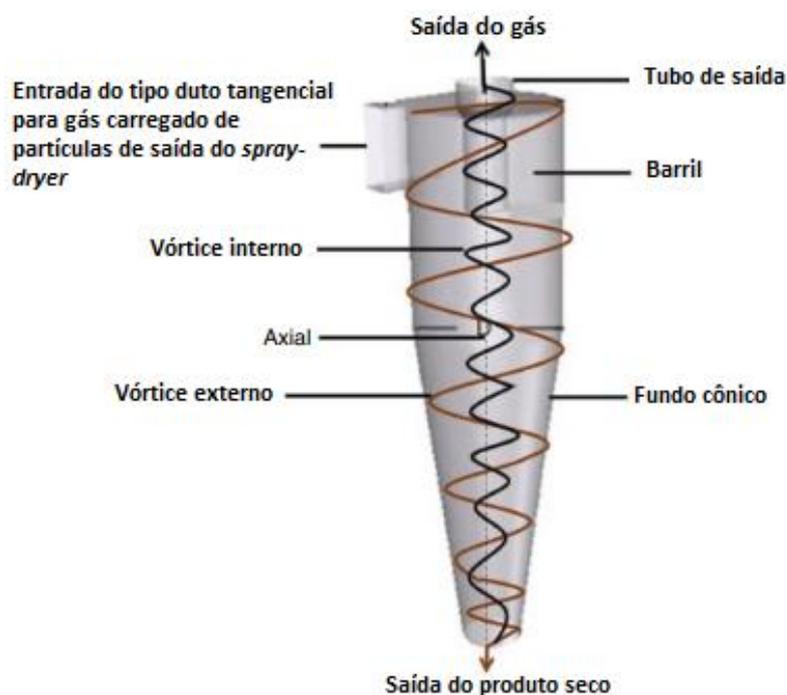


Fonte: Adaptado de Filková et al., 2006.

Anandharamkrishnan e Ishwarya (2015, p.15) explicam que o vapor contendo as partículas sólidas saem do secador e entram pela parte superior do barril descendo para dentro do cone formando um vórtice externo (Figura 10). O aumento da velocidade do ar no vórtice externo promove uma força centrífuga que separa as partículas do vapor e ao atingir o fundo do ciclone um novo vórtice, dessa vez interno, é criado invertendo sua direção e saindo em forma

de vapor limpo pelo topo do ciclone. Já as partículas são retiradas pela câmara de coleta anexada no fundo do ciclone.

Figura 10: Sistema de separação entre vapor e partícula sólida.



Fonte: Adaptado de Anandharamkr e Ishnan, 2015.

Tão importante quanto as etapas e operações que devem ser controladas durante todo o processo de secagem das partículas, é a forma como o material chega para ser processado. A concentração do material é um parâmetro que impacta diretamente com a eficiência do processo *spray-dryer*, ou seja, quanto mais concentrado for menor vai ser a quantidade de vapor que gastará para realizar a evaporação do líquido contido na partícula, aumentando dessa forma a eficiência do processo. Uma maior concentração permite também que haja um aumento de sólidos e densidade do produto final (OLIVEIRA, 2018).

3.8. Leveduras Inativa

A biomassa de leveduras pode ser obtida através do processo fermentativo que ocorre nas indústrias sucroenergéticas, cervejeiras e no segmento da panificação. Destaca-se o maior índice de obtenção desse fungo nas destilarias de etanol, mais especificamente na etapa da fermentação alcoólica, onde os microrganismos tendem a se multiplicar e produzir o que é desejado, o etanol (RUFINO, 2011).

As leveduras *Saccharomyces cerevisiae* apresenta uma rápida capacidade de crescimento gerando constantemente um acúmulo de resíduo. A obtenção do excedente de leveduras pode ocorrer através da sangria do leite de leveduras, do fundo de dorna (pé de cuba) e também através da vinhaça. Estima-se que em média 90% da biomassa formada na fermentação retorna ao processo para ser reutilizada e o excedente é destinado a outros fins, sendo a inativação e secagem das leveduras através do método em *Spray-Dryer* uma das opções para a sua reutilização (BRAGA, 2014).

Considerada uma das fontes mais seguras de proteína para a suplementação animal além do seu bom valor nutricional, as leveduras secas inativa é um dos produtos provenientes da secagem das leveduras. Apresenta uma textura fina e o odor depende de como o fermento foi alimentado durante a fermentação alcoólica. Se a biomassa de leveduras é alimentada com o caldo da cana-de-açúcar, no caso das destilarias das usinas sucroenergéticas, o odor das leveduras secas inativa será característico da cana-de-açúcar (RUFINO, 2011).

Sua forma inativa foi pioneira quando se trata da utilização das leveduras secas na alimentação de animais, devido ao seu processo simples e inicialmente sem necessidade de utilizar tecnologias mais avançadas. Consistia na secagem das leveduras após a produção do etanol, todavia, com as novas técnicas que foram sendo desenvolvidas, vários ajustes foram realizados para que esse produto obtivesse uma alta eficiência e valor nutricional (NUTRINEWS, 2020).

As leveduras secas em sua forma inativa são caracterizadas por ser altamente palatável e por sua ação profilática (RIBEIRO, 2012). Apresentam um teor de proteína bruta que pode variar entre 30 a 60% e o nitrogênio total consiste em cerca de 80% de aminoácidos, 12% de ácidos nucléicos e 8% de amônia, onde 7% do nitrogênio total presente nas leveduras secas inativa pode ser encontrado na forma de aminoácidos livres e em pequenas quantidades de flutaciona, lecitina, ácido adelínico, vitaminas, enzimas e coenzimas (EZEQUIEL et al., 2000).

As leveduras secas apresentam ainda teores de carboidratos, cuja composição se dá em torno de 15 a 60% do peso seco do produto. Podem ser encontrados em média de 33% de trealose, 27% de glucanas, 21% de mananas e ainda 12% de glicogênio. É por essa razão, graças ao seu alto valor nutritivo, que as leveduras secas inativa tem sido uma nova via contribuindo na suplementação de rações animais, substituindo, portanto, outras fontes como é o caso do farelo de soja e afins (EZEQUIEL et al., 2000).

O processo utilizado na obtenção das leveduras secas inativa é subdividido em algumas etapas e é o processo básico para a produção dos outros tipos de leveduras secas. Para se obter o produto seco e inativo, pode ser utilizada a inativação das leveduras por meio de termolisação

ou a matéria prima pode ser seca diretamente. A termolisação é um tratamento térmico no qual as leveduras são submetidas para que ocorra a sua inativação onde posteriormente ela é direcionada a etapa de secagem (SANTIN, 1996).

Inicialmente é necessário que as células de leveduras sejam submetidas a etapa de desalcoolização, que consiste na lavagem das células para a retirada do álcool residual. A biomassa de leveduras viva que é separado para a secagem e obtenção das leveduras secas inativa possui as mesmas características das que são reutilizadas no processo da fermentação alcoólica. Após a centrifugação e separação do vinho de leveduras e creme de leveduras, nota-se um resíduo alcóolico de aproximadamente 11% que deve ser retirado através de lavagens e posteriormente destilação para a recuperação deste álcool (MARTINS, 2009).

Após a desalcoolização o creme de leveduras é centrifugado e bombeado para a câmara de secagem. Caso o método utilizado para a secagem seja o *spray-dryer*, as leveduras são destinadas ao cabeçote presente no atomizador que irá transformar o creme em pequenas partículas devido a sua alta capacidade de rotação. O fluxo de ar quente será responsável pela retirada da umidade das gotículas de creme para então se obter o pó de leveduras inativa, que posteriormente pode ser armazenado em sacos ou em big bags (MARTINS, 2009).

3.9. Leveduras Autolisada

As leveduras autolisada é um outro produto obtido através da secagem em *Spray-Dryer*. O processo de autólise das leveduras pode ocorrer naturalmente, tendo em vista que as células possuem um determinado ciclo de vida e é no decorrer do envelhecimento e morte da célula após o seu ciclo ser completado que a autólise acontece (OLIVEIRA, 2020).

Segundo Zhao e Fleet (2003, p. 175), a autólise de forma natural é caracterizada pela perda de permeabilidade da membrana celular, alteração da porosidade da parede celular, hidrólise de macromoléculas celulares por enzimas endógenas e subsequente vazamento dos produtos de degradação para o ambiente extracelular.

A autólise natural pode ainda ser causada através da ação de microrganismos presentes no ambiente fermentativo, que contaminam o meio em que as leveduras estão presentes. Tal ação microbiana promove a desestruturação da parede celular da célula levando ao seu rompimento e consequentemente expondo o seu conteúdo intracelular (KAELLE, 2019).

A utilização do processo de autólise para a obtenção das leveduras secas também pode ser induzida em escala industrial, com parâmetros controlados e utilizando mecanismos físicos, químicos ou enzimáticos, comumente conhecido por lise celular. A lise celular por meio físico

pode ocorrer através da aplicação de calor, radiação ultravioleta e ruptura mecânica, sendo importante se controlar a temperatura para não inativar as enzimas da célula. Já os métodos químicos consistem na utilização de indutores que interrompem a estrutura da membrana por dissolução de lipídeos e proteínas e/ou modificam o pH ativando as proteases, podendo ser utilizados detergentes, compostos orgânicos, hidróxido de sódio, ácido clorídrico e sais inorgânicos como agentes químicos (KAELLE, 2019).

O processo de lise celular mais comum através de métodos físicos consiste no aquecimento da biomassa de leveduras a uma temperatura que pode variar de 48 a 50° C, com duração ideal de 20 horas. É importante ter o controle do pH para que o mesmo esteja sempre 4,5 e 4,9 devendo ser corrigido com ácido nítrico 54% caso seja necessário. Após o processo de lise celular ser concluído, a biomassa de leveduras ainda é aquecida a uma temperatura de 60° C para que as enzimas presentes na célula sejam inativadas, para que só assim ela seja processada (MARCON, 2018).

O processo para obtenção do material seco é semelhante ao das leveduras inativa. Após a desalcoholização da célula, a biomassa de leveduras é submetida a fermentação endógena que consiste em promover o estresse nutricional das células para que elas consumam suas próprias reservas de energia (carboidratos) até o esgotamento de todos os açúcares. Esse fenômeno é capaz de promover o aumento da quantidade de proteína celular das leveduras, elevando o seu valor nutricional e melhorando a qualidade do produto final (BRAGA, 2014).

3.10. Parede Celular

A parede celular tem um papel fundamental na estrutura das leveduras, permitindo manter as atividades vitais da célula, protegendo-as de choques osmóticos, tensões mecânicas além de estabelecer e conservar a morfologia celular e a integridade da célula. Embora tenha um papel fundamental para a preservação da célula, a parede celular também aparece como uma outra opção na comercialização das leveduras seca (KAELLE, 2019).

Composta principalmente por β -glucanos e mananoligossacarídeos (Figura 11), a parede celular apresenta uma camada porosa, tendo seus poros distribuídos ao longo da célula de maneira aleatória, com dimensões pequenas exercendo a função de um filtro capaz de permitir a passagem de substâncias com apenas 4.500 daltons. Moléculas de alto peso molecular não conseguem ultrapassar essa barreira, fazendo com que as leveduras não sejam capazes de absorver alguns nutrientes (MARTINS, 2009).

Figura 11: Estrutura da parede celular das leveduras *Saccharomyces cerevisiae*.



Fonte: ICC Brasil, 2017.

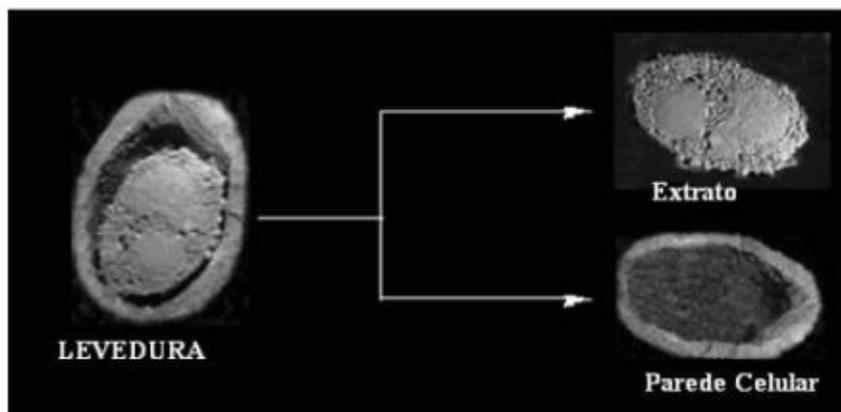
Dentre a composição da célula de leveduras, a parede celular é responsável por 15 a 30% do seu peso quando se encontra em seu estado seco, dos quais entre 50 a 60% aparecem em forma de β -glucanos e 35 a 40% são mananoligossacarídeos (MOS) unidos através de ligações covalentes. A parede celular é composta ainda por uma parcela de aproximadamente 13% de proteínas, 8,5 % de lipídios e 1% de quitina. A quitina juntamente com o β -D-glucano são responsáveis por tornar a parede celular rígida além de definirem a sua forma (KAELLE, 2019).

Os β -glucanos são conhecidos como modificadores de respostas biológicas e são constituídos de cadeias $\beta(1,3)$ -, responsáveis pela parte estrutural da célula formando o seu esqueleto interno capaz de promover a sua força mecânica. É composta por uma estrutura altamente ramificada, diversas extremidades não redutíveis que facilitam a ligação com outros componentes. Já as ligações $\beta(1,6)$ - compõe a parte exterior da estrutura de sustentação e geralmente estão ligadas através das proteínas da parede celular (KAELLE, 2019).

Os mananoligossacarídeos, conhecido por MOS, compõe a classe dos carboidratos capazes de reconhecer e promover a interação célula-célula, interações com o meio-ambiente e ainda determinam a especificidade imunológica das células de leveduras. São compostos por manoses e atuam também como um meio de crescimento microbiano de bactérias comensais específicas. É benéfico pois permite a eliminação de patógenos do intestino e melhoram a integridade intestinal (SILVA, 2019).

O processo para a obtenção da parede celular consiste no mesmo para a obtenção das leveduras autolisada, acrescentando a etapa de centrifugação para a separação do extrato de leveduras da parede celular (Figura 12), sendo ela a parte insolúvel da fração que é obtida. Após o processo de autólise é necessário haver a centrifugação da biomassa autolisada para a separação das partes. Também faz uso de um sal, podendo ser utilizado o cloreto de sódio, e diversas centrifugações para que a parede celular seja enviada a câmara de secagem de forma mais pura (SILVA, 2019).

Figura 12: Extrato de leveduras obtido pela autólise após a separação da parede celular



Fonte: Adaptado Alltech, 2004.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

No desenvolvimento do presente trabalho foi utilizado o embasamento teórico que se deu por meio de um estudo bibliográfico através de consultas de artigos científicos, livros e teses. O material foi consultado em bases de dados como repositórios de universidades, Periódicos Capes, Scielo e Google Acadêmico no período entre outubro de 2022 a janeiro de 2023.

Os dados técnicos de operação, funcionamento de fábrica e análises laboratoriais foram obtidos através de um levantamento de campo por meio do contato direto com a equipe técnica de uma unidade de produção que utiliza o processo de secagem de leveduras através do método *Spray-Dryer* para a obtenção e comercialização das leveduras secas de cana-de-açúcar.

O trabalho consistiu em apresentar detalhadamente as etapas do processo de obtenção das leveduras secas através do método *Spray-Dryer*, informando a função de cada equipamento da unidade de produção da Cooperativa Pindorama. A planta industrial é composta por tanques de estressamento que possuem a finalidade de retirar o álcool que ainda é presente no creme de leveduras; turbinas para a concentração do creme; secador *Spray-Dryer*, também conhecido pelos operadores como atomizador, que possui a finalidade de aspergir o creme de leveduras e através da injeção de vapor fazer com que as partículas sejam secas; ciclones para recuperar as partículas que podem ser arrastados para o exaustor.

No laboratório industrial da unidade estudada foram analisadas 30 amostras provenientes de uma composta feita diariamente com 24 amostras coletadas a cada hora de um dia, visando determinar se o produto final se enquadra dentro dos parâmetros de qualidades assegurados pela empresa. As principais análises realizadas a cada hora no laboratório da indústria são de concentração e matéria seca do creme de leveduras, por meio de centrífuga e termobalança, com o intuito de determinar o percentual de massa presente no creme após a retirada de toda a sua umidade. Um creme de leveduras bem concentrado implica na maior eficiência da fábrica tendo em vista que necessitará de menos vapor para extrair a água presente.

Ainda no laboratório industrial, é realizada as análises de densidade e umidade do pó de leveduras secas. São os parâmetros mais importantes a serem analisados, junto com a quantificação de proteína bruta, pois nesta etapa o produto já está pronto para ser comercializado. As análises são realizadas através de termobalança para determinação de umidade bem como proveta e balança para obtenção da densidade. Já a proteína bruta é quantificada por meio da metodologia de Kjeldahl, que determina a matéria nitrogenada de uma amostra. É necessário que as análises sejam realizadas de maneira séria e rigorosa para que o

produto final esteja enquadrado nos parâmetros exigidos para a comercialização de um produto com boa qualidade.

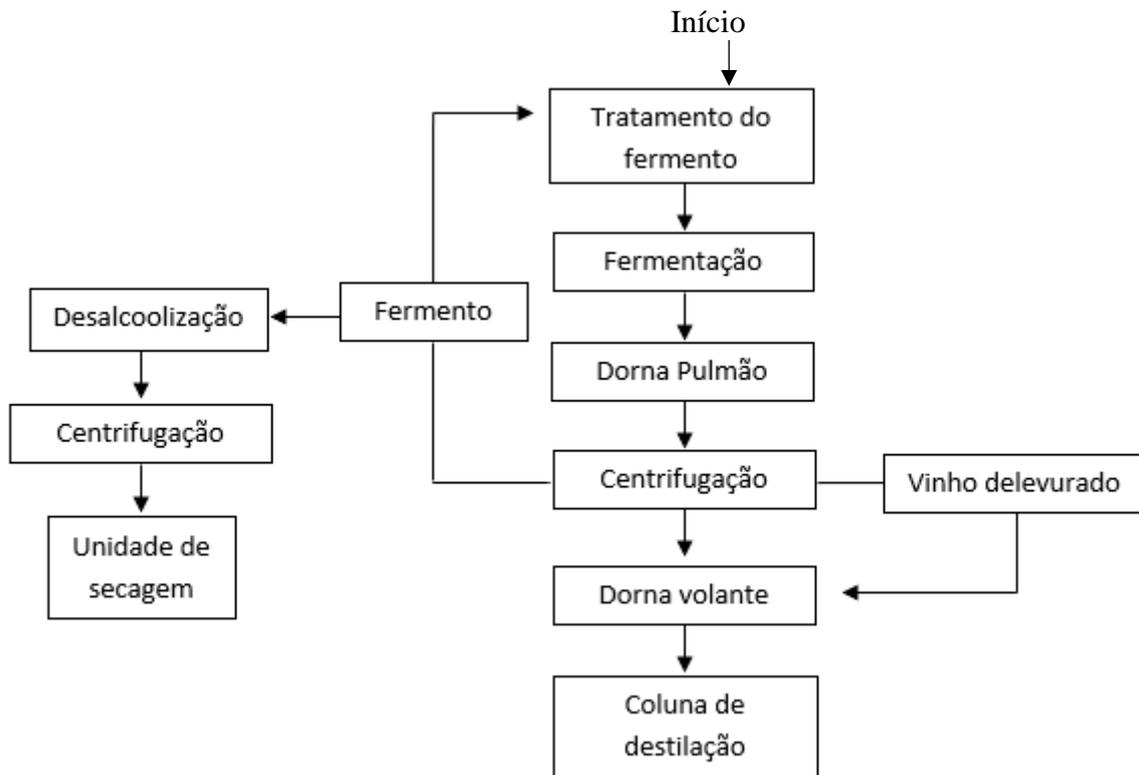
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Obtenção do creme de leveduras

O creme de leveduras utilizado para a produção das leveduras secas, seja ela inativa, autolisada ou a parede celular, é obtido por meio da separação do excedente de leveduras produzido na fermentação alcoólica através de sangrias. Ainda é possível recuperar o fermento do fundo de dorna, comumente conhecido como pé de cuba e destiná-lo a unidade de secagem de leveduras para se obter o produto desejado.

A fermentação alcoólica da unidade em estudo é realizada utilizando o processo *Melle-Boinot*, onde as células de leveduras são reaproveitadas após a separação entre o vinho delevurado e o creme de leveduras. As etapas do processo de fermentação estão ilustradas na forma de fluxograma apresentado na Figura 13:

Figura 13: Fluxograma da Fermentação Alcoólica



Fonte: Autora, 2023.

Para iniciar o processo de fermentação, o inóculo precisa passar por um tratamento. Uma boa fermentação necessita de um bom tratamento e para isso alguns nutrientes são dosados nos pré-fermentadores, que são as cubas utilizadas para realizar esta etapa tão importante do processo. Para que o produto final apresente um bom teor de proteína bruta é indispensável a rigorosa nutrição do creme de leveduras ainda nos pré-fermentadores da fermentação alcoólica.

O inóculo é, portanto, adicionado aos PF's juntamente com água potável e livre de qualquer contaminação microbiana. Posteriormente é nutrido utilizando sulfato de amônio e ureia, que são ricas fontes de NPK (Nitrogênio, Fósforo e Potássio). Posteriormente o fermento é alimentado com o mosto, que consiste na mistura de caldo e mel, para induzir a multiplicação das células.

Após o tratamento o fermento é destinado aos conjuntos de dornas para então continuar sua alimentação, que agora não tem o intuito apenas de fazer com que as células se multipliquem, mas também que o processo fermentativo ocorra. Esta etapa é dividida em três estágios, onde o primeiro consiste na fase preliminar, que é a fase de adaptação das leveduras ao °Brix do mosto que está alimentando as células. Na fase intermediária é onde ocorre a maior dissipação de energia, gerando uma grande quantidade de espumas e desprendimento de gases. É nesta etapa também que ocorre o maior consumo dos açúcares presentes no mosto pelas leveduras. Já na fase final, é o período onde todo o açúcar foi consumido e o °Brix da dorna se mantém constante ou em alguns casos, zero.

O vinho levedado é, portanto, destinado a dorna pulmão que tem como função destinar esse vinho para as centrífugas afim de promover a separação do creme de leveduras do vinho delevurado. Nas centrífugas ocorre a separação do creme de leveduras, onde parte dele é destinado novamente aos PF's e o vinho delevurado é direcionado as dornas volantes para ser destilado.

Uma pequena parcela do creme de leveduras é retirada e destinada junto com os pés de dornas para um PF's de uso exclusivo para armazenamento deste creme. Este recurso é conhecido como sangria e é utilizado quando o fermento apresenta um excedente de células. Este excedente prejudica o rendimento da fermentação alcoólica e antes era desperdiçado ao ser destinado para os aparelhos de destilação, causando entupimentos e prejuízos.

Vale salientar que o produto só é sangrado quando existe este excedente, caso contrário, todo o fermento que é separado do vinho retorna ao processo para que a fermentação não seja prejudicada. Para isso também é importante que a unidade possua centrífugas de alta eficiência, que consiga realizar esta separação sem muitas perdas.

5.2. Tratamento do creme de leveduras

O creme de leveduras obtido através das sangrias e dos pé-de-cubas deve passar por um tratamento para que depois possa ser seco. As fases que constituem essa preparação são as de estressamento, desalcoólização e concentração. O fermento que é separado para ser destinado a fábrica de leveduras é armazenado em tanques conhecidos como tanques de estressamento. As leveduras retiradas do processo com concentração de aproximadamente 60% são diluídas com água até que fique com a concentração em torno de 25%. É importante que a água utilizada neste processo esteja aquecida e com a temperatura a 45°C, pois essa temperatura propicia a multiplicação das células além de evitar um choque térmico, tendo em vista que o creme passará por um aquecimento.

Após essa etapa, o creme de leveduras é destinado a um outro tanque provido de agitação, onde deverá permanecer por pelo menos 12 horas de retenção. Este é um procedimento que é utilizado visando um maior aproveitamento do álcool que ainda está contido nas células das leveduras.

Em seguida as leveduras que passaram pelo tanque de estressamento é novamente diluída e lavada para que haja a desalcoólização das células, isto porque ainda existe um residual de álcool presente nela que deve ser eliminado para não comprometer a qualidade do produto final. Após a lavagem o creme de leveduras é novamente centrifugado para que seja seco e o residual de álcool é incorporado ao vinho delevurado contido nas dornas volantes para posteriormente ser destilado.

É importante que após o processo de estressamento do creme de leveduras, a centrifugação seja realizada de forma eficiente. A concentração do creme de leveduras destinado para a secagem deve estar entre 60 e 70%, sendo enviado ao tanque de recepção pulmão. Este parâmetro está totalmente ligado com a eficiência de secagem da fábrica. Caso o creme não atinja a concentração indicada, o rendimento da fábrica pode diminuir pois precisará de mais vapor para secar as leveduras, além de um maior tempo.

Caso a intenção seja produzir as leveduras autolisada ou a parede celular é necessário que antes da etapa de secagem, o creme seja destinado ao processo de lise celular. A lise celular ocorre através da adição de cloreto de sódio, numa quantidade equivalente a matéria seca total, podendo chegar até 30%. O creme deve ser aquecido e estar sob agitação constante pelo período de no mínimo 12 horas. Caso seja necessário, deve-se ainda corrigir o pH utilizando ácido sulfúrico ou hidróxido de sódio. Após a autólise ser concluída, o autolisado é centrifugado para que haja a separação entre a parte solúvel e a insolúvel (parede celular) e destinado a secagem.

5.3. Secagem por *Spray-Dryer*

Ao finalizar o preparo das leveduras, independentemente do tipo do produto, o creme é analisado para avaliar se a matéria-prima está dentro dos padrões de qualidade exigido. Em seguida é encaminhado ao tanque de alimentação do secador tipo *Spray-Dryer*, comumente conhecido como tanque pulmão cujo mesmo tem capacidade de 10 m³. Em seguida é bombeado passando por um trocador de calor sendo aquecido entre 65 a 70°C para depois ser enviado ao topo do secador, com a finalidade de ser pulverizado através do cabeçote rotativo que gira em alta rotação formando uma névoa. No topo do secador é injetado ar quente em forma de vapor que entra em contato com as partículas de leveduras retirando a umidade contida nelas em fluxo co-corrente.

No fundo do secador está acoplado um exaustor que tem a função de succionar as finas partículas de leveduras que foram secas e destiná-las a dois ciclones que separa as leveduras em forma de pó do ar úmido. Um exaustor secundário é utilizado para encaminhar o produto ao setor de ensaque, além de auxiliar na redução da temperatura do produto final passando por um terceiro ciclone que novamente separará as leveduras seca do ar. Após todas as etapas do processo serem concluídas, o produto final é embalado em sacos de 25 kg ou em Big Bags e posteriormente armazenados em paletes, afastados das paredes e dos outros lotes, seguindo todas as normas exigidas por legislação.

5.4. Análises laboratoriais

Para manter a qualidade do produto que está sendo fabricado é necessário que o laboratório responsável pelo controle de qualidade esteja sempre monitorando todas as etapas da fábrica. As análises realizadas vão desde o monitoramento da matéria-prima que chega a unidade de produção até o produto em sua fase final. São monitorados principalmente os parâmetros de umidade, densidade, matéria seca, concentração e proteína.

Alguns outros parâmetros também são exigidos para a comercialização deste tipo de produto. As leveduras secas devem apresentar teores mínimos de proteína, umidade, extrato etéreo (teor de gordura), fibra bruta e material mineral. Na Tabela 1 consta os valores exigidos para a comercialização das leveduras secas de cana-de-açúcar da unidade estudada.

Tabela 1: Parâmetros de qualidade das leveduras secas

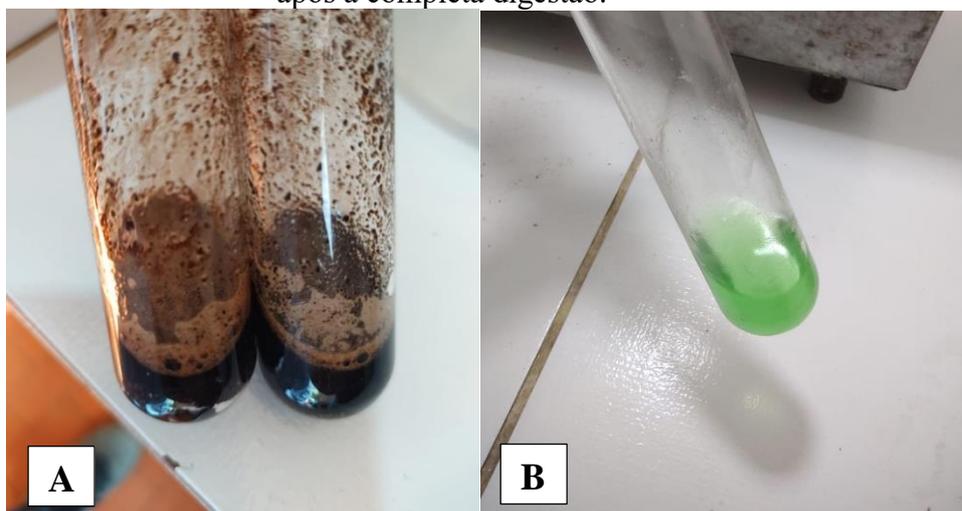
Características	Leveduras Secas de cana-de-açúcar
Proteína (min)	280 g/Kg
Umidade (máx)	80 g/Kg
Extrato Etéreo (min)	4 g/Kg
Fibra Bruta (máx)	20 g/Kg
Material Mineral (máx)	70 g/Kg

Fonte: Cooperativa Pindorama, 2023.

A proteína bruta é obtida através do método de Kjeldahl, que consiste na determinação do nitrogênio orgânico que está presente na amostra. O método foi criado por um dinamarquês chamado Johan Kjeldahl, e vem sendo aprimorado ao decorrer dos anos. Atualmente é a forma mais utilizada na determinação da proteína bruta presente em amostras de leveduras secas e é dividido em três etapas, sendo elas a digestão sulfúrica, destilação e por fim a titulação (GALVANI, GAERTNER, 2006).

A digestão é responsável pela decomposição do nitrogênio contido na amostra orgânica. Nesta etapa é adicionado ácido sulfúrico concentrado a amostra (Figura 14 A) e levada ao digestor para ser aquecida para que tanto o carbono como o hidrogênio contidos na amostra sejam oxidados (Figura 14 B). A utilização do ácido sozinho não traz resultados satisfatórios pois a reação ocorre de forma lenta e, portanto, para aumentar a velocidade da reação de oxidação é utilizado um catalisador proveniente da mistura catalítica a base de sais inorgânicos (GALVANI, GAERTNER, 2006).

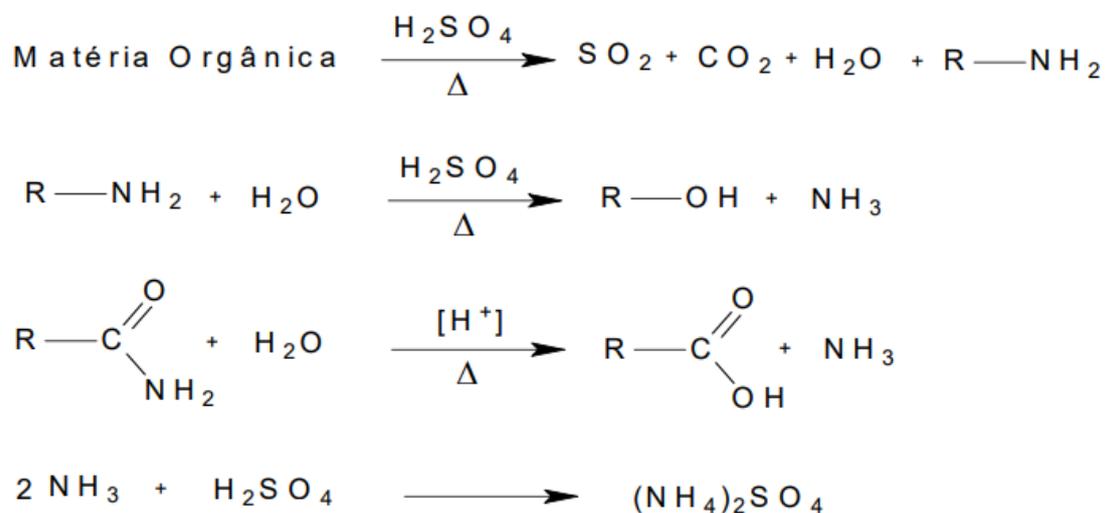
Figura 14: (A) Amostra após a adição de ácido sulfúrico concentrado. (B) Amostra após a completa digestão.



Fonte: Autora, 2023.

Algumas reações ocorrem durante a digestão da amostra como é apresentado na Figura 15. O carbono presente é transformado em dióxido de carbono (CO_2), hidrogênio em água (H_2O) e o nitrogênio que pode estar na forma de amina, nitrila e amida são transformados em amônia (NH_3).

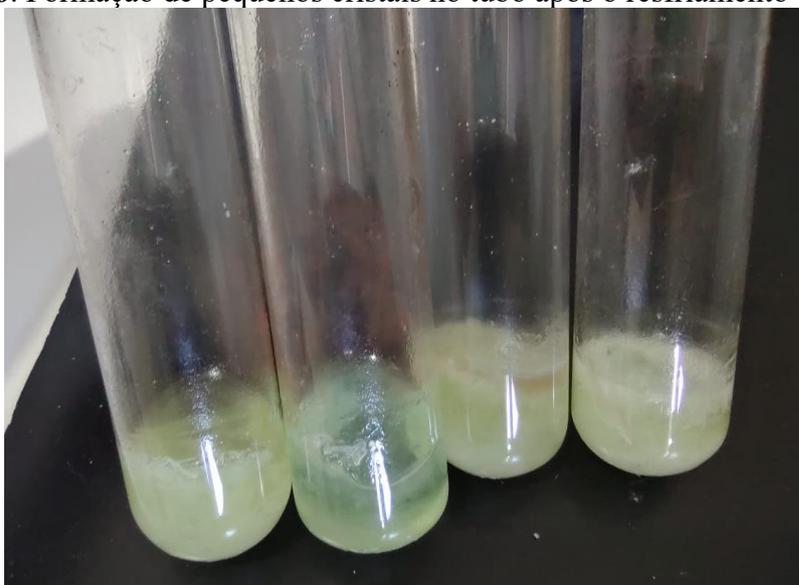
Figura 15: Reações da etapa de digestão do Nitrogênio



Fonte: Galvani e Gaertner, 2006.

A amônia transformada reagirá com o ácido sulfúrico (H_2SO_4) que levará a formação do sulfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), que ao ser resfriado forma pequenos cristais como é demonstrado na Figura 16 (GALVANI, GAERTNER, 2006).

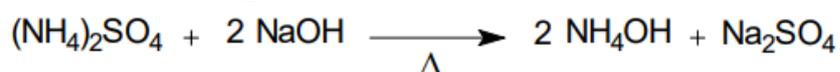
Figura 16: Formação de pequenos cristais no tubo após o resfriamento da amostra



Fonte: Autora, 2023.

A etapa de destilação é responsável pela liberação da amônia presente na amostra, podendo ser realizada através do arraste de vapor, que é mais comum, ou até mesmo por aquecimento. Ao final da digestão o material a ser analisado é tratado com hidróxido de sódio em excesso e de concentração 40% para que a amônia seja liberada, como é apresentado na Figura 17 (GALVANI, GAERTNER, 2006):

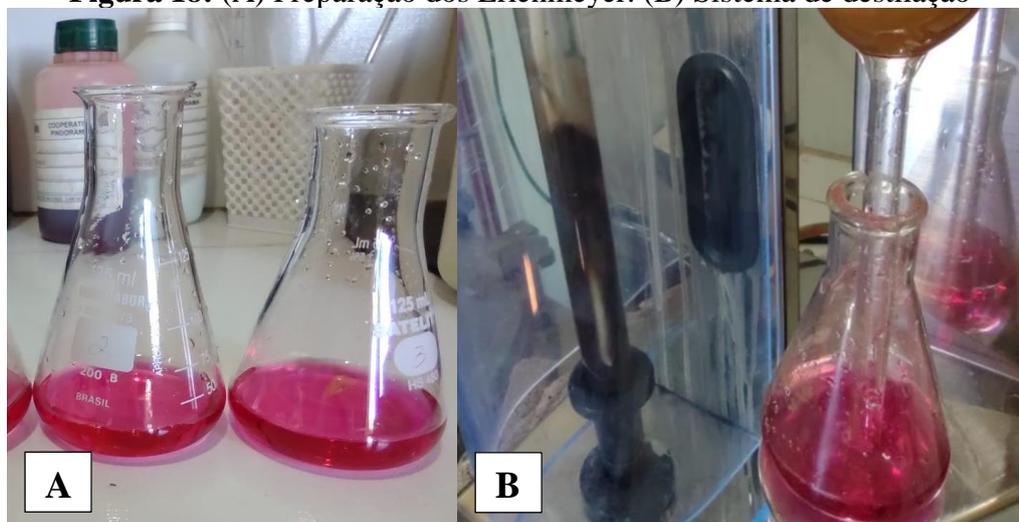
Figura 17: Reação de destilação



Fonte: Galvani e Gaertner, 2006.

Ao adicionar o hidróxido de sódio a amostra, ocorrerá a liberação da amônia em forma de vapores voláteis que posteriormente entra em contato com o condensador sendo resfriada apresentando sua forma líquida. Um erlenmeyer de 125,00 mL contendo 25 mL de ácido bórico (H_3BO_3) e aproximadamente 5 gotas de indicador misto (Figura 18 A) é acoplado ao sistema de destilação para que a amônia desprendida da amostra seja aprisionada na solução do ácido (Figura 18 B). A solução de ácido bórico que após a adição do indicador misto apresenta a cor rosa, ao entrar em contato com a amônia tem sua coloração alterada para verde como demonstra a Figura 18.

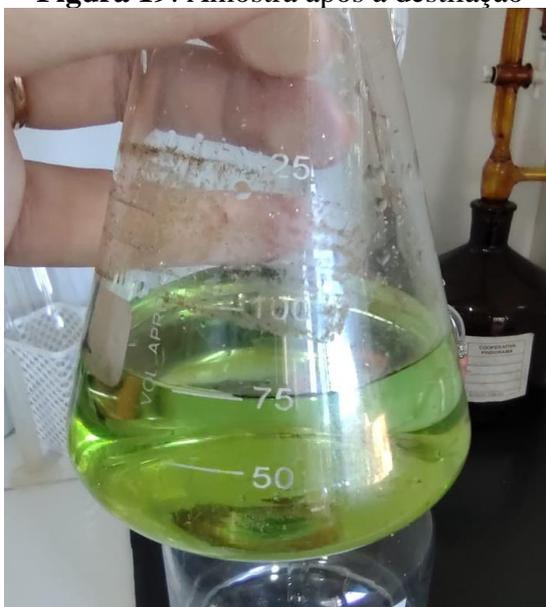
Figura 18: (A) Preparação dos Erlenmeyer. (B) Sistema de destilação



Fonte: Autora, 2023.

Dependendo da metodologia a ser seguida é necessário recolher entre 15 a 150 mL do condensado para garantir que o maior teor de nitrogênio seja recuperado. No presente trabalho, optou-se por recolher aproximadamente 50 mL do condensado, ou seja, duas vezes mais do que o valor inicial do Erlenmeyer totalizando um volume total de 75 mL (Figura 19).

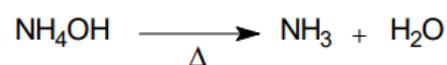
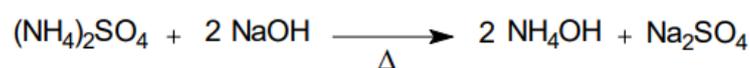
Figura 19: Amostra após a destilação



Fonte: Autora, 2023.

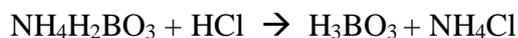
O ácido bórico atua como um agente aprisionador do nitrogênio contido na amostra. Ao ser realizada a destilação da amostra, o nitrogênio será evaporado e condensado, sendo coletado no erlenmeyer contendo a solução de ácido bórico e indicador misto. O contato entre o ácido bórico e a amônia leva a formação do borato de amônio como é apresentado na Figura 20, fazendo com que a solução de ácido bórico altere a sua coloração de rosa para verde.

Figura 20: Reações de formação da amônia e do borato de amônio



Fonte: Galvani e Gaertner, 2006.

A terceira etapa do método de Kjeldahl consiste na titulação do borato de amônio. Para tal, a solução obtida é titulada com uma solução padrão de ácido clorídrico com concentração conhecida até que ocorra a viragem do indicador voltando a cor rosa. No caso do presente trabalho a concentração utilizada para este procedimento foi de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. O íon hidrônio proveniente do HCl irá se ligar ao Boro e o cloreto tende a se ligar ao amônio como demonstra a reação abaixo:



O volume gasto de ácido clorídrico após o ponto final da titulação irá determinar a quantidade de amônio presente na solução e consequentemente a quantidade de nitrogênio presente na amostra analisada. Para tal determinação é utilizada a equação a seguir:

$$\text{NT} = \frac{(\text{Va} - \text{Vb}) \times \text{F} \times 0,1 \times 0,014 \times 100}{\text{P1}}$$

Onde,

NT = Teor de nitrogênio total na amostra, em percentagem;

Va = Volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra (mL);

Vb – Volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação do branco (mL);

F = Fator de correção para o ácido clorídrico $0,01 \text{ mol/L}$;

P1 = Massa da amostra (g).

Para se determinar a proteína bruta que se tem interesse, é necessário multiplicar o valor do nitrogênio total encontrado pelo fator de conversão. Normalmente o fator utilizado na conversão do nitrogênio em proteína bruta em amostras de alimentos animais é 6,25. A proteína bruta é calculada através da seguinte relação:

$$\text{PB} = \text{NT} \times \text{F}_\text{N}$$

Onde,

NT = Teor de nitrogênio total calculado

F_N = Fator de conversão (6,25).

Durante o período de estudo foram analisadas 30 amostras de leveduras secas. As amostras foram obtidas por meio da unidade de produção de leveduras secas da Cooperativa Pindorama, sendo coletadas a cada hora e armazenadas em recipientes fechados. Foram 24 amostragens por dia para realizar uma composta diária e 30 compostas referente a 30 dias.

Desse material foi determinada o teor de nitrogênio total presente em cada amostra produzida na unidade industrial estudada e convertido a proteína bruta por meio do método de Kjeldahl além do seu teor de umidade. Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 2:

Tabela 2: Resultado das amostras analisadas na unidade de estudo

AMOSTRA	UMIDADE (g/Kg)	PROTEÍNA BRUTA (g/Kg)
1	51,5	289
2	55	284
3	53,9	287
4	55,6	287
5	56,7	289
6	47,9	290
7	61,5	297
8	49,3	299
9	51,5	302
10	64,3	298
11	66,9	315
12	58,9	297
13	53,4	299
14	55,7	290
15	54,3	294
16	48,8	289
17	59,3	291
18	55,6	286
19	57,4	293
20	53,8	287
21	46,8	288
22	57,3	290
23	58,8	291
24	50,6	285
25	60,7	293
26	59,8	287
27	42,4	284
28	61,0	290
29	58,1	284
30	55,4	289

Fonte: Autora, 2023.

Avaliando os resultados de umidade que foram obtidos após as análises das amostras por meio de termobalanças, foi possível constatar uma pequena variação nos valores. Para a determinação da umidade foi pesado 0,650 g da amostra em uma termobalança e esperou-se que toda a umidade presente no material seco fosse evaporada. O teor de umidade presente na amostra é encontrado através da relação entre $P_{\text{inicial}} - P_{\text{final}}$.

Durante o processo de secagem da biomassa de leveduras, pode ocorrer uma instabilidade no fornecimento de vapor para a fábrica. Tendo em vista que a mesma é totalmente dependente desse tipo de energia para o seu funcionamento, tal instabilidade tem potencial de afetar diretamente na umidade do produto. Caso o fornecimento esteja prejudicado ou até mesmo com alguma inconsistência, o operador deve estar atento pois a umidade também tenderá a variar.

As análises de umidade são realizadas a cada hora a fim de que se tenha um controle rigoroso deste parâmetro. Altos valores de umidade comprometem a qualidade do produto final além de desvalorizá-lo quanto ao seu valor de comercialização. Para a unidade estudada, os valores de umidade permitido para a comercialização das leveduras secas são de até 80 g/Kg, acima disso o produto tende a apresentar problemas tais como empedramento e a diminuição da validade.

Quanto a proteína das amostras de leveduras secas fornecidas na tabela 2 foram obtidas através do método de Kjeldahl. O método é dividido em três etapas, sendo ela a digestão, destilação e titulação. Na etapa de digestão foi pesado 0,500 g de amostra e 2,5 g de uma mistura catalítica a base de sal de sulfato de cobre e transferido para um tubo altamente resistente ao calor. Posteriormente foi adicionado ao tubo 10 mL de ácido sulfúrico concentrado e levado para o digestor com o intuito de digerir a amostra inicialmente e uma temperatura de 50° C, elevando a temperatura de 50° C em 50° C até a completa digestão.

Após a digestão e mudança de coloração do tubo para verde neon, retirou-se o tubo do digestor para que a amostra fosse resfriada. Após o tubo ser resfriado foi adicionado a ele 10 mL de água destilada e em seguida levado ao destilador de nitrogênio, sendo o tubo acoplado a uma entrada do destilador e um Erlenmeyer contendo 25 mL de ácido bórico e 5 gotas de indicador misto a saída do condensador. Adicionou-se ao tubo 20 mL de hidróxido de sódio 40% ao tubo e esperou ocorrer a destilação do nitrogênio, sendo ele recuperado pelo ácido bórico presente no Erlenmeyer. Foi recolhido 50 mL de amostra, totalizando um volume de 75 mL.

Por fim a amostra foi titulada com ácido clorídrico de concentração $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ até que houvesse a mudança de cor de verde neon para rosa. O volume do ácido que foi gasto determina a quantidade de nitrogênio presente na amostra, ou seja, quanto maior o volume de ácido gasto na titulação maior é o nível de nitrogênio presente na amostra.

Os valores de proteína bruta obtidos e demonstrados na tabela encontram-se dentro do limite mínimo exigido pela unidade de estudo. Para as leveduras secas de cana-de-açúcar da unidade estudada o limite mínimo de proteína presente no produto deve ser de 280 g/Kg . Caso a proteína esteja abaixo do que é permitido para comercialização, o produto deve ser reprocessado.

O processo para a produção e comercialização deste tipo de produto deve ser controlado rigorosamente desde fermentação alcoólica até a etapa de ensacamento. Por se tratar de uma matéria prima proveniente de resíduos e sangrias do processo fermentativo, o modo como as leveduras são tratadas nos pré-fermentadores impactará diretamente na qualidade do creme de leveduras que será seco posteriormente.

Ao fermento deve ser adicionado uréia e sulfato de amônio, além de ser tratado com ácido sulfúrico para evitar a proliferação de bactérias. O mesmo deve ainda receber dosagens de nutrientes, intensificando a nutrição das células. Deste modo é possível que as leveduras se multipliquem com maior intensidade, produzindo brotos mais nutridos que posteriormente se tornarão células com grande potencial de proteína para fornecer uma boa qualidade de leveduras secas seja ela inativa, autolisada ou a própria parede celular.

As análises realizadas durante o período de estudo foram satisfatórias, tendo em vista que todas estiveram dentro dos limites nos quais a unidade de estudo assegura aos consumidores. Nota-se uma pequena variação de umidade em algumas amostras, onde em alguns casos houve um aumento da umidade que pode ocorrer, apesar de não ser o ideal, pois o fornecimento de vapor deve ser constante. Embora os valores de umidade tenham oscilado, todas as amostras apresentadas se enquadraram dentro dos parâmetros exigidos. Isso assegura ao consumidor que o produto que está sendo produzido apresenta boas condições de qualidade.

Quanto ao funcionamento da fábrica de leveduras a mesma é totalmente dependente do bom funcionamento das caldeiras e do processo da fermentação alcoólica. Por essa razão a fábrica pode ser penalizada com algumas paradas devido ao mau funcionamento tanto da fermentação quanto das caldeiras. Pode ocorrer da fábrica parar graças a falta do fornecimento de creme caso na fermentação não seja possível realizar a sangria. Isso pode ocorrer quando a multiplicação das células de leveduras é prejudicada graças a algum problema externo, como é o caso do baixo fornecimento de caldo que limita o consumo e conversão dos açúcares pelas

leveduras, prejudicando a sua multiplicação. É possível também que por problemas nas caldeiras o fornecimento de vapor também seja prejudicado, levando a fábrica de leveduras a ser parada pois sem o vapor não é possível secar as partículas de leveduras.

Para evitar esses tipos de problemas, que pode em alguns momentos ocorrer de maneira um pouco mais frequente, é necessário que a moagem esteja bem ajustada e que o bagaço contenha o menor teor de umidade possível para facilitar sua queima. Tomando essas medidas o fornecimento de vapor para a fábrica de leveduras não tenderá a ser prejudicado, e com a boa moagem e o bom fornecimento de caldo para a destilaria em conjunto com o bom tratamento e nutrição das leveduras, evitará que o fornecimento do creme de leveduras seja suspenso, diminuindo as paradas pela falta do mesmo.

É importante que se mantenha também a limpeza das tubulações além da lubrificação de todos os equipamentos como as turbinas, ciclones e principalmente o secador *Spray-Dryer*. A falta de assepsia nas tubulações causam o acúmulo de leveduras secas provocando as buchas. Já a ausência de lubrificação promove o desgaste dos equipamentos, sendo necessário a parada para corrigir a falha mecânica. Por essa razão é imprescindível que tanto a limpeza quanto a lubrificação sejam realizadas conforme programados e sempre que necessário para o bom funcionamento da fábrica.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As leveduras deixaram de ser conhecidas apenas como um fungo capaz de converter açúcares em etanol para destacar-se como uma alternativa promissora no que se refere ao fornecimento de proteína, isso graças aos avanços tecnológicos e pesquisas que foram desenvolvidas durante anos. A produção de leveduras secas tem tratado como matéria prima uma fonte de resíduo que antes não era reutilizada, pois não sabia como ser feito. O que antes não tinha utilidade por não saber como utilizá-la, com decorrer do tempo surge como uma nova fonte de renda para a indústria.

Como demonstrado através do estudo, foi permitido conhecer o método *Spray-Dryer* e analisar os motivos pelos quais ele tem sido o mais utilizado para a produção de leveduras secas. Por se tratar de um método que apresenta muitas vantagens, como a baixa agressividade, o curto período de troca térmica entre partícula e fonte de calor, além da sua facilidade na operação sendo um processo simples e eficaz, tem o evidenciado como a melhor opção para a obtenção deste produto.

A utilização do método de Kjeldahl também foi um grande aliado na determinação de proteína bruta através da quantificação do nitrogênio total contido nas amostras analisadas. Um método que já era vastamente utilizado para essa finalidade em amostras de solo, pode ser implementado com eficiência para amostras de leveduras secas, convertendo o nitrogênio total encontrado em proteína bruta e assim direcionando o processo visando atender as exigências deste parâmetro

Também foi possível demonstrar a importância da realização das análises físico químicas no controle de qualidade do produto. A produção de leveduras secas seja ela inativa, autolisada ou parede celular necessita do cumprimento dos parâmetros de qualidade para que o produto possa chegar até o consumidor em sua melhor forma. Através do monitoramento realizado em laboratório por meio das análises de umidade, densidade, matéria seca e concentração, o operador da fábrica pode controlar o processo garantindo o seu bom funcionamento e a qualidade do produto.

7. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Letícia Pereira. **Avaliação da transferência de calor em fermentações alcoólicas convencional e extrativa**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, São Carlos, SP, 2019.

ALLTECH. **NuproTM**. Boletim Técnico, n. 36, 2004.

ANTONINI, S. R. C. **Microbiologia da fermentação alcoólica**: A importância do monitoramento microbiológico em destilarias. Coleção UAB–UFSCar: Tecnologia das fermentações. São Carlos, EdUFSCAR, 2012.

Anandharamakrishnan, C.; ISHWARYA, Padma. Spray drying techniques for food ingredient encapsulation. **Wiley Blackwell**, 2015.

BRAGA, Marilena de Melo. **Potencial de uso agrícola de levedura seca inativa de cana-de-açúcar e de resíduos orgânicos**. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2014. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/123766/000826542.pdf;jsessionid=AF6C9D450130CB4705052618130F3130?sequence=1>. Acessado em 19 fev. 2023.

CONAB - **Safras**. 2022. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das->>. Acessado em 3 marc. 2023.

COOPERATIVA PINDORAMA. **Levedura de Cana-de-Açúcar**. 2023. Disponível em: <https://www.cooperativapindorama.com.br/produtos/levedura-de-cana-de-acucar/>. Acessado 4 marc. 2023

COSMO, Bruno Marcos Nunes; GALERIANI, Tatiane Mayara. Composição bromatológica de beterraba, capim elefante e farinha de peixe. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, 24(3), 53-69, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.25061/2527-2675/ReBraM/2021.v24i3.888>. Acessado em 13 marc. 2023.

EZEQUIEL, Jane Maria Bertocco, SAMPAIO, Alexandre Amstalden Moraes, SEIXAS, José Renato Caleiro, OLIVEIRA, Marcos Marques de. Balanço de nitrogênio e digestão total da proteína e energia de rações contendo farelo de algodão, levedura de cana-de-açúcar ou uréia, em ovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.29, n.6, Supl.2, p.2332-2337, 2000.

FERRARI, Fernanda Cristina dos Santos. **Fatores operacionais e cinética do processo fermentativo para otimização da produção de etanol em escala industrial**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2013. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/94882/000749687.pdf?sequence=1>. Acessado em 13 jan. 2023.

FILKOVA, Iva; HUANG, Li Xin; MUJUMDAR, Arun S.. **Industrial Spray Drying Systems**, 2006.

FOUST, A. S.; WENZEL, L. A.; CLUMP, C. W.; MAUS, L.; ANDERSEN, L. B. **Princípios das Operações Unitárias**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Dois, 1982.

GALVANI, Fábio; GAERTNER, Eliney. Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta. **Circular Técnica**, Corumbá, MS, maio, 2006. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/812198/1/CT63.pdf>. Acessado em 12 fev. 2023.

BORGES, Liliana; BONATO, Melina. Parede Celular de Levedura: Alta Performance Garantida Natural e eficaz, mais que uma alternativa aos aditivos melhoradores de desempenho. ICC BRASIL, 2017. Disponível em: <http://www.iccbrazil.com/parede-celular-de-levedura-alta-performance-garantida-natural-e-eficaz-mais-que-uma-alternativa-aos-aditivos-melhoradores-de-desempenho/>. Acessado em 17 mai. 2023

KAELLE, Gislane Cristina Bill. **Digestibilidade do extrato de levedura autolisada de cervejaria em cães**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Pós-graduação em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, Curitiba, 2019. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/60838/R%20-%20D%20-%20GISLAINE%20CRISTINA%20BILL%20KAELLE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acessado em 10 marc. 2023.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 7ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2019

LIMA, Lidia Marinho Silva. **Extrato de levedura (Saccharomyces cerevisiae) em dietas para gatos adultos**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2007.

LIMA, Urgel de Almeida. **Biotecnologia industrial**: processos fermentativos e enzimáticos. São Paulo: Blucher, 2001.

LITI, Gianni. The natural history of model organisms: The fascinating and secret wild life of the budding yeast *S. cerevisiae*. **eLife**, v. 4, 2015. Disponível em: <https://elifesciences.org/articles/05835>. Acessado em 12 mar. 2023.

LOPES, M. L.; CRISTINA, S.; *et al.* Ethanol production in Brazil : a bridge between science and industry. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 64–76, 2016.

MARCON, André. **Avaliação do mosto fermentativo de leveduras provenientes de cervejarias e otimização do processo de autólise industrial**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, Programa de Pós-graduação em Química, São Carlos, São Paulo, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/10924/AVALIA%20C3%87%20C3%83O%20DO%20MOSTO%20FERMENTATIVO%20DE%20LEVEDURAS%20PROVENIENTES%20DE%20CERVEJARIAS%20E%20OTIMIZA%20C3%87%20C3%83O%20DO%20PROCESSO%20DE%20AUT%20LISE%20INDUSTRIAL.pdf?sequence=3&isAllowed=y>. acessado em 20 fev. 2023.

MARTINS, Mariana dos Santos. **Leveduras de cerveja e cana-de açúcar (saccharomyces cerevisiae), autolisada e íntegra, na dieta de cães**. Dissertação (Mestrado) – Universidade

Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal – São Paulo, 2009. Disponível em: <http://javali.fcav.unesp.br/sgcd/Home/download/pgtrabs/zoo/m/78959.pdf>. Acessado em 13 mar. 2023.

MENDES, Sidney Gonçalves. **O processo de fermentação endógena**. Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA, Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA - Assis, 2014.

MONEY, Nicholas P. **A ascensão da levedura**: como um simples fungo moldou nossa civilização. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2021.

MORDOR INTELLIGENCE. **Mercado levedura e extrato de levedura – crescimento, tendências, impacto do covid-19 e previsões (2023 – 2028)**. 2020. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/yeast-and-yeast-extract-market#:~:text=Prev%C3%AA%2Dse%20que%20o%20mercado,leveduras%20e%20extratos%20de%20levedura>. Acessado em 12 fev. 2023.

NASCIMENTO, Rodrigo Pires do; COELHO, Alice Zarur; RIBEIRO, Bernardo Dias; PEREIRA, Karen Signori. **Microbiologia industrial**: bioprocessos. volume 1, 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018.

NUTRINEWS. **Desmistificando as leveduras – Parte I**. 2020. Disponível em: <https://nutrinenews.com/pt-br/desmistificando-as-leveduras-parte-i/>. Acessado em 27 marc. 2023.

OLIVEIRA, Daiana dos Santos de. **Substituição da virginiamicina por produtos à base de levedura (*saccharomyces cerevisiae*) em dietas de bovinos**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Goiânia, 2020. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/10786/3/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Daiana%20dos%20Santos%20de%20Oliveira%20-%202020.pdf>. Acessado em 22 jan. 23.

OLIVEIRA, Jeferson Carvalhaes de. **Tópicos em Micologia Médica**. Rio de Janeiro; 2014.

OLIVEIRA, Roger Assis. **Secagem por atomização da biomassa de levedura proveniente da indústria cervejeira**: análise da qualidade do produto. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal de São Paulo – Diadema, 2018. Disponível em: <https://repositorio.unifesp.br/bitstream/handle/11600/65259/RogerMilene%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. acessado em 22 marc. 2023.

OSUMI, M. The ultra structure of yeast: Cell wall formation and structure. **Micron**, v. 29, n.2 - 3, p. 207 - 233, 1998.

PACHECO, Thályta Fraga. **Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Uberlândia, MG, 2010. Disponível em:

<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/15136/1/thalita.pdf>. Acessado em 22 marc. 2023.

PEREIRA, Danilo Aparecido; VIEIRA, Rita de Cássia Macri; GIMENEZ, Alex Zerbinatti. Fatores que afetam a fermentação alcoólica. **Ciência & Tecnologia**. v. 12, n. 1, p. 44-55, 2020. DOI: 10.52138/citec.v12i1.113. Disponível em: <https://citec.fatecjab.edu.br/index.php/citec/article/view/113>. Acesso em: 3 fev. 2023.

PIMENTEL, Fernando; APOSTOLO, Hélio; FERNANDES, Rogério. **Pré-vestibular**. Curitiba: IESDE Brasil S.A., 2008.

PRETORIUS, Isak S. Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. **Yeast**, v. 16, p. 675–729, 2000.

RIBEIRO, Bernardo Dias; PEREIRA, Karen Signori; NASCIMENTO, Rodrigo Pires do; COELHO, Alice Zarur. **Microbiologia industrial: alimentos**. Vol. 2, 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018.

RIBEIRO, José Marinho. **Substituição do farelo de soja por levedura de cana-de-açúcar no desempenho e características de carcaça de cordeiro**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Alagoas, Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo, 2012. Disponível em: <https://ceca.ufal.br/pt-br/pos-graduacao/zootecnia/documentos/dissertacoes/jose-denison-marinho-ribeiro>. Acessado em 25 jan. 2023.

ROCHA, Ana P. T.; ALSINA, Odelsia L. S.; SILVA, Vimário S.; SILVA, Flávio L. H. Cinética de produção de levedura seca em leito de jorro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, n. 1, p. 81–86, fev. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbeaa/a/KQmDzDg5KntYtkgJYcBC98p/?format=pdf&lang=pt>. Acessado em 22 fev. 2023.

RUFINO, Leidy Darmony de Almeida. **Substituição do farelo de soja por levedura seca inativa em dietas de ovinos**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-graduação em Zootecnia. Viçosa, MG, 2011. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/5701/1/texto%20completo.pdf>. Acessado em 24 marc. 2023.

SÁ, Suelandia Nicácio de. **Estudo da cinética da secagem de leveduras *S. cerevisiae* para uso como fonte proteica na ração animal**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, Campina Grande, 2002.

SANTIN, Ana Paula. **Estudo da secagem e da inativação de leveduras: *Saccharomyces cerevisiae***. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 1996. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/157998/104209.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acessado em 26 marc. 2023.

SANTOS, Carolina Dallagassa dos. **Uso de extrato de levedura (*S.cerevisiae*) como prebiótico na nutrição de cães**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Curitiba, 2018.

SANTOS, Elisandro Ricardo Drechsler dos. **Material Complementar ao livro Sistemática Vegetal I: Fungos**. 2015. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/18924433-Material-complementar-ao-livro-sistemica-vegetal-i-fungos.html>>. Acessado 15 jan.. 2023.

SANTOS, Mágda Correia dos. **Condução de fermentação etanólica contínua com o uso de antibiótico**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Alagoas, Programa de Pós-graduação em Engenharia da Biomassa, Rio Largo, 2016.

SANTOS, Nayara Barbosa dos. **Projeto Ciclone: Estudo do número de renovações do volume de dorna para viabilização do fermentador com circulação de vinho**. Monografia (Curso de Graduação em Engenharia Química) Campus I - UFPB / Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/15616/1/NBS13052019.pdf>. Acessado em 22 mar. 2023.

SANTOS, G. D. Perspectivas brasileira e mundial da produção de leveduras. In: **I Congresso Internacional sobre Uso da Levedura na Alimentação Animal**, 2009, Campinas. Anais I Congresso Internacional sobre Uso da Levedura na Alimentação Animal, Campinas: CBNA, 2009.

SCHMIDELL, Willibaldo; LIMA, Urgel de Almeida; AQUARONE, Eugênio; BORZANI, Walter. **Biotecnologia industrial**. Engenharia Bioquímica, v. 2, SÃO PAULO: Blücher, 2001. Disponível em: https://pt.slideshare.net/livro10/biotecnologia-industrial-vol-2-valter-borzani-1-ed-pt?from_action=save. Acessado em 10 fev. 2023.

SILVA, Thiago Fernandes Alves. **Levedura, parede celular de levedura e levedura selenizada na saúde e desempenho produtivo de pacu e tilápia-do-Nilo**. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, Jaboticabal, 2019. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/181429/silva_tfa_dr_jabo.pdf?sequence=5. Acessado em 17 marc. 2023.

SONEGO, Jorge Luiz Silveira. **Estudo da produção de etanol de sacarose por fermentação extrativa utilizando arraste com dióxido de carbono**. Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, São Carlos: UFSCar, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/10273/TeseJLSS.pdf?sequence=3>. Acessado em 12 fev. 2023.

TEIXEIRA, Juliana de Freitas. **A levedura *saccharomyces cerevisiae*: caracterização do gênero, domesticação e importância na composição de vinhos**. Monografia (Trabalho de conclusão de curso), Universidade Federal de Minas Gerais, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, 2015. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/ICBB-BDAPAW/1/monografia_especializa_o_microbiologia_juliana_de_freitas_teixeira.pdf. Acessado em 24 jan. 2023.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 12. ed. – Porto Alegre: Artmed, 2017. Disponível em:

<https://drive.google.com/file/d/1XDaSn0pEHGUesj47E5l5pgGlzxELJLpQ/view>. Acessado em 16 marc. 2023.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 8a ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

VASCONCELOS, J. N. Fermentação Etanólica. In: Santos, E.; Borém, A.; Caldas, C. **Cana de Açúcar: Bioenergia, Açúcar e Álcool?** Tecnologia e perspectivas. Suprema Gráfica e Editorial LTDA. Viçosa, p. 400-437, 2010.

VASCONCELOS, Lucas. Consumo de combustíveis se recupera em 2021, mas etanol tem queda de 12,8%. **NovaCana**. Disponível em: <https://www.novacana.com/noticias/consumo-combustiveis-recupera-2021-etanol-queda-12-8-040222>. Acessado em 16 marc. 2023.

VELOSO, Ivan Ilichi Kerbauy. **Modelagem e otimização da fermentação alcoólica em batelada alimentada a baixa temperatura**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, São Carlos, 2019. Disponível em: https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/11258/Disserta%C3%A7%C3%A3o_IVA_N%20VELOSO_Vers%C3%A3o%20BCO.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acessado em: 27 jan. 2023.

VIANA, Nádia Cristina. **Caracterização morfológica e molecular de fermentação alcoólica**. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2017. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11138/tde-04082017-151130/publico/Nadia_Cristina_Viana_versao_revisada.pdf. Acessado em 15 fev. 2023.

VIEIRA, Darlene Ana de Paula; FERNANDES, Nayara Cláudia de Assunção Queiroz. **Microbiologia Geral**. Inhumas: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012. Disponível em: https://www.ufsm.br/app/uploads/sites/413/2018/12/05_microbiologia_geral.pdf. Acessado em 05 fev. 2023.

VIEIRA, Vanessa Amaro. **Levedura (Saccharomyces cerevisiae) na alimentação de vacas da raça Jersey**. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2016. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/138073/vieira_va_dr_jabo_int.pdf;jsessionid=4B07C7EF1B06976B34D026197C8019DB?sequence=4. Acessado em 17 marc. 2023.

VITOR, Thais Michele Sesso. **Fermentações em mostos com altos teores de açúcar**. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Programa de Pós-graduação em Ciências, Piracicaba, 2014. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/64/64134/tde-06112014-110937/pt-br.php>. Acessado em 12 marc. 2023.

WHITE, Chris; ZAINASHEFF, Jamil. **Ferment**. O guia prático de fermentação de cerveja. 2010. Disponível em: <https://uploads.tapatalk-cdn.com/files-2243/0420Yeast20-20Traduzido.pdf.pdf>. Acessado em 02 de fev. 2023.

Zhao J.; Fleet GH. Degradation of DNA during the autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*. **J Ind Microbiol Biotechnol.** 2003 Mar;30(3):175-82. doi: 10.1007/s10295-003-0028-2. Epub 2003 Feb 22. PMID: 12715255.