

A colheita das plantas de sorgo sacarino foi realizada manualmente e após o corte foram removidas as folhas e as panículas dos colmos a fim de proceder à extração do caldo em sistema de moenda simples de cana-de-açúcar (Figura 3.7). O caldo utilizado foi extraído do plantas de sorgo sacarino inteira (não houve separação entre parte inferior do colmo, meio e parte superior). Após a extração o caldo foi peneirado, filtrado, acondicionado em frascos de plástico e congelado em freezer na temperatura de $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.6 Acompanhamento dos açúcares após acamamento do sorgo

Com 91 dias após o plantio, a parcela da cultivar BRS 506 (do segundo plantio) destinada ao experimento da curva de maturação acamou, como pode ser visualizado na Figura 3.10, devido a fortes chuvas e ventos que ocorreram no período. Mesmo após o seu acamamento acompanhou-se os açúcares para verificar quanto tempo após o seu acamamento ainda era viável a sua colheita com relação aos teores de açúcares presentes nos colmos.



Figura 3.9 - Plantas de sorgo sacarino sem folhas para extração do caldo



Figura 3.10 - Cultivar BRS 506 após acamamento

3.7 Acompanhamento dos açúcares após congelamento

Com o objetivo de verificar a viabilidade do congelamento do caldo do sorgo sacarino, amostras contendo 20 mL do caldo das cultivares BRS 508 e BRS 509 devidamente filtradas foram congeladas a -4°C em recipientes de vidro, e a cada 15 dias este caldo era descongelado e análises de açúcares eram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Para efeito de comparação com o sorgo sacarino, também foram congeladas amostras de caldo de cana e, no mesmo intervalo de tempo, ambas foram analisadas. Vale ressaltar que este procedimento de congelamento de caldo é um método importante na área da pesquisa para conservar as matérias-primas para trabalho, pois não há disponibilidade desta matéria-prima diariamente para pesquisas, e nem sempre é possível realizar todas as análises no mesmo momento, sendo necessário um método de conservação. Já para a indústria este procedimento torna-se inviável devido aos altos custos.

3.8 Caracterização de açúcares em diferentes partes do colmo do sorgo sacarino

Foram removidas as panículas e folhas das plantas de sorgo sacarino de cada cultivar em estudo e em seguida foram divididas em 3 partes: base, meio e ápice (Figura 3.11). O

caldo foi extraído, peneirado, filtrado e foram determinadas os teores de açúcares (glicose, frutose e sacarose) de cada uma destas partes do colmo utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

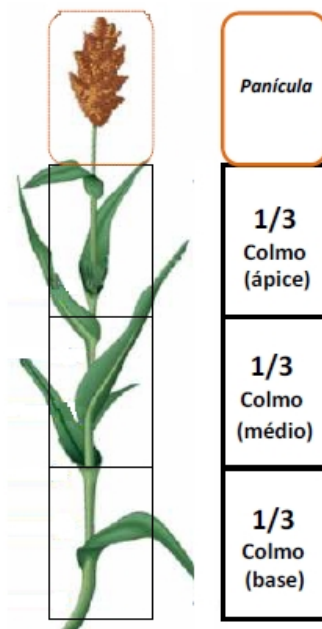


Figura 3.11 - Divisão da planta de sorgo sacarino em base, meio e ápice para caracterização dos açúcares

3.9 Ensaios de fermentação

3.9.1 Biorreator

O caldo proveniente da extração de cada cultivar de sorgo sacarino foi filtrado para remoção das impurezas e adicionado ao biorreator. Na fermentação foi utilizado um fermentador Biostat B, conforme pode ser visualizado na Figura 3.12, modelo B. *Braun Biotech International* de laboratório, constituído por um vaso cilíndrico de 2,0 L, fechado com uma tampa de aço inoxidável com orifícios para alimentação de inóculo, saída de amostra, entrada e saída de gases, dotado de controle automático de pH e agitação, com um sistema de refrigeração por camisa, com monitoramento e controle constante de temperatura utilizando água como fluido refrigerante. O volume total do fermentador era de 2 L e o volume de trabalho foi de 1,5 L.

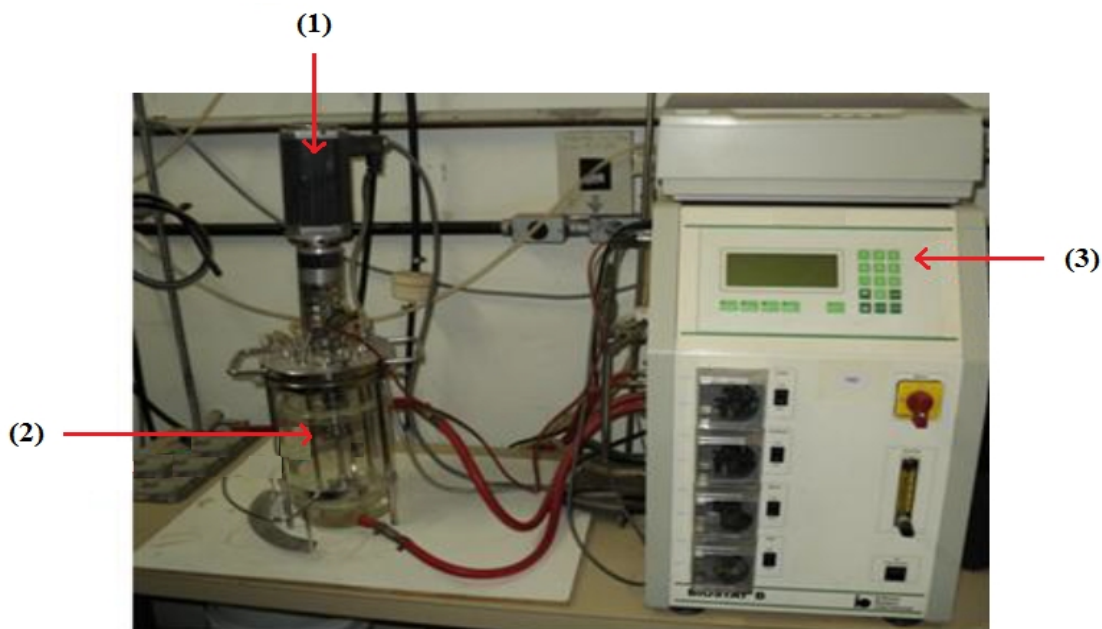


Figura 3.12 - Fermentador batelada modelo B. *Braun Biotech International* utilizado em ensaios de fermentação e hidrólise de melaço de soja (Foto da autora)

3.9.2 Fermentação do caldo *in natura* com e sem adição de nutrientes

Primeiramente, foram realizados ensaios para a avaliação da fermentabilidade com caldo de sorgo com e sem suplementação de nutrientes, em que as concentrações de açúcares do caldo foram tais quais as extraídas dos colmos para todas as cultivares. Estas concentrações de nutrientes foram similares às concentrações utilizados por Leite (2011), que normalmente é uma suplementação utilizada em fermentações de caldo de cana-de-açúcar sintético. As concentrações adotadas para todos esses nutrientes adicionados estão expostas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Concentração de nutrientes adotadas no preparo do meio de cultura para fermentação (Leite, 2011).

Nutrientes	Concentração (g/L)
KH_2PO_4	3,0
$(\text{NH}_4)\text{Cl}$	1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,8
Extrato de levedura	6,2

Os caldos do sorgo sacarino utilizados nestas fermentações foram os caldos da cultivar BRS 506 e BRS 511 cultivados no primeiro plantio e escolhidos aleatoriamente para estas fermentações. A temperatura adotada nas fermentações foi de 35°C, agitação de 100 rpm (temperatura e agitação similares às utilizadas por Leite (2011) e o pH inicial do caldo nas fermentações foi de 4,8 (pH do próprio caldo). A fermentação foi monitorada por um período de 6 h (pois devido à alta concentração de açúcares redutores a fermentação do caldo do sorgo sacarino ocorreu mais rapidamente do que as fermentações com caldo de cana-de-açúcar) e todos os ensaios foram conduzidos em triplicata. Após as fermentações, os mostos fermentados foram centrifugados a 8000 rpm por 10 min, e os sobrenadantes coletados e submetidos a análises no cromatógrafo. A contagem de células viáveis foi feita empregando câmara de Neubauer descrito no item 3.11.

A concentração celular de leveduras utilizada em todas as fermentações deste trabalho foi de 30g/L. Para o preparo do inóculo, foi utilizada a cepa da levedura *Saccharomyces cerevisiae* Y904, cedida pela MAURI (Mauri Brasil Ind. Com. Ltda). As leveduras foram hidratadas no próprio caldo de sorgo sacarino por 10 minutos e logo após este tempo iniciava-se a fermentação.

3.9.3 Fermentação do caldo *in natura* com e sem agitação

Para verificar a influência da agitação nas fermentações foram realizadas fermentações do caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506s em agitação e também com agitação de 400 rpm, e 100 rpm e os resultados foram comparados. A temperatura adotada nas fermentações foi de 35°C e o pH inicial do caldo nas fermentações foi de 4,8 (pH do próprio caldo). As fermentações foram monitoradas por um período de 8 horas (tempo ideal de uma fermentação industrial) com medidas de concentração de sacarose, glicose, frutose, glicerol e etanol, determinadas em HPLC Shimadzu, conforme descrito no item 3.4.

3.9.4 Fermentação do caldo concentrado

Também foram realizadas fermentações com o caldo de sorgo sacarino concentrado. Utilizou-se o caldo de sorgo da cultivar BRS 509 por ser o caldo disponível em maior quantidade, o qual foi concentrado em evaporador rotativo a vácuo da marca Fisaton, modelo 802, operando a temperatura de 70 °C, 50 rpm e pressão de 580 mmHg. Foram realizadas fermentações com o caldo nas seguintes concentrações: 160 g/L; 180 g/L; 200 g/L; 220 g/L;

240 g/L; 260 g/L; 280 g/L e 300 g/L, sendo a temperatura adotada nas fermentações de 35 °C, a rotação de agitação de 100 rpm, e o pH inicial do caldo nas fermentações foi de 4,8 (pH do próprio caldo). Todas as fermentações foram realizadas em duplicata.

Todas as fermentações com caldos concentrados foram monitoradas por um período de 16 horas (devido a alta concentração de açúcares) com medidas de concentração de sacarose, glicose, frutose, glicerol e etanol, determinadas em HPLC Shimadzu, conforme descrito no item 3.4. Para efeito de comparação com o sorgo sacarino, também foram efetuadas fermentações com o caldo de cana-de-açúcar concentrado nas mesmas concentrações de açúcares que o caldo de sorgo sacarino.

3.9.5 Fermentação do caldo concentrado para determinação de ácidos

Foram realizadas fermentações do caldo concentrado de sorgo sacarino BRS 509 e do caldo de cana-de-açúcar na concentração de 260 g/L para avaliar a formação dos ácidos aconítico, succínico, acético e propiônico durante as fermentações. Estas fermentações também foram realizadas com adição do antibiótico comercial Kamoran (Química Real Brasil) na concentração de 5 ppm para avaliar a sua eficiência no controle de formação dos ácidos durante a fermentação alcoólica. O Kamoran é um antibiótico fabricado e distribuído pela Química Real, capaz de controlar as principais bactérias Gram (+) contaminantes dos processos fermentativos. Segundo o fabricante, este antibiótico é eficaz contra *Lactobacillus*, *Bacillus* e *Streptococcus*.

As fermentações foram monitoradas por um período de 10 horas (para acompanhar os rendimentos de fermentações em vários tempos devido a alta concentração de açúcares) com medidas de concentração de sacarose, glicose, frutose, glicerol e etanol, ácidos aconítico, succínico, acético e propiônico, furfural e hidroximetilfurfural. As determinações de açúcares foram realizadas em HPLC Shimadzu, conforme descrito no item 3.4.

As concentrações dos ácidos foram quantificadas por HPLC (Shimadzu modelo LC-20A proeminência, coluna Supelcogel C-610H), equipado com detector PDA (luz ultravioleta) em um comprimento de onda de 210 nm. As amostras foram diluídas 150 vezes com água ultrapura, filtrada por meio de uma membrana (tamanho de poro 22 µm, Millipore) e as análises foram realizadas utilizando como fase móvel ácido fosfórico a 0,1%, e água ultra pura como solução veículo, com vazão da bomba de 0,5 mL/min, forno a 32 °C. O volume de amostra injetado no cromatógrafo foi 20 µL.

3.10 Cálculo do rendimento das fermentações

Os parâmetros cinéticos calculados nas fermentações foram o rendimento em grama de etanol por grama de açúcares redutores totais (AT) ($Y_{P/AT}$) ao final de 8 horas de fermentação, determinados pela Equação 3.1 e a produtividade em grama de etanol por grama de açúcares redutores totais pelas 8 horas de fermentação dada pela Equação 3.2.

$$Y_{P/AT} = \frac{EC_F}{(TS_I - TS_F) \cdot 0,511} \cdot 100 \quad (3.1)$$

$$P_E = \frac{EC_F}{T} \quad (3.2)$$

Sendo:

$Y_{P/AT}$ = Rendimento de etanol formado em relação ao consumo de açúcar total (%);

EC_F = Concentração de etanol ao final da fermentação (g/L);

TS_F = Concentração de açúcar final (g/L);

TS_I = Concentração de açúcar inicial (g/L).

P_E = Produtividade de etanol

t = Tempo de fermentação (h).

3.11 Contagem de células viáveis

Para acompanhar o crescimento celular ao longo da fermentação utilizou-se uma câmara de Neubauer espelhada e um microscópio óptico (Nikon). Considerou-se para contagem 16 quadrados que possuem 25 quadrículas com uma área de $0,0025 \text{ mm}^2$ e profundidade de 0,1 mm para cada quadrícula. Assim o volume total era de $0,1 \text{ mm}^3 = 0,1 \text{ }\mu\text{L}$ (Figura 3.13).

Para a contagem de leveduras, diluiu-se a amostra, promoveu-se a homogeneização com uma vigorosa agitação e fez-se a coloração com duas gotas de solução de azul de metileno 0,1%. As células com alta atividade fisiológica não se colorem, enquanto as células inativas (mortas) apresentar-se-ão coloridas de azul.

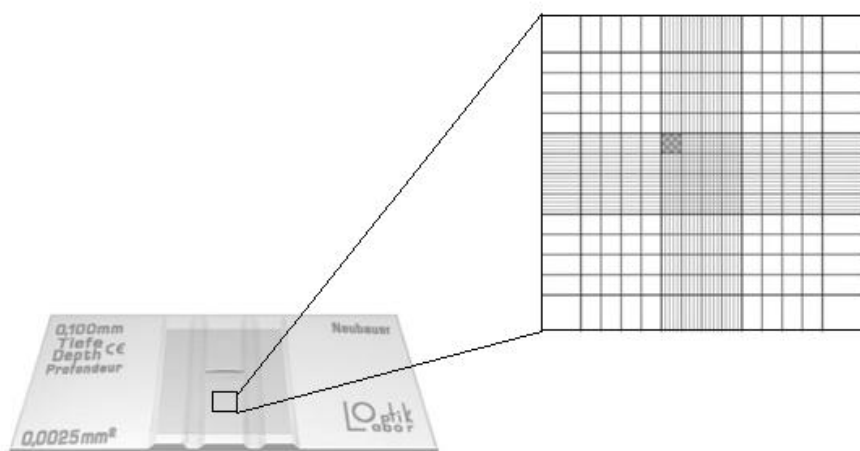


Figura 3.13 - Esquema da câmara de Neubauer (BARGA, 2007)

A solução foi inserida entre a câmara de Neubauer e a lamínula, por capilaridade, com o auxílio de uma micropipeta estéril. Realizou-se a contagem aumentando 100 vezes o tamanho da câmara. O número de células por mL de solução foi calculado de acordo com a Equação 3.3.

$$N^{\circ} cel/mL = \left(\frac{(N_{Total} \cdot (1/V) \cdot D)}{N_{reticulos}} \right) \pi r^2 \quad (3.3)$$

Sendo:

N_{Total} : Número total de células sem coloração (vivas)

V : Volume do retículo

D : Diluição

$N_{Reticulos}$: Número de retículos

3.12 Determinação da atividade enzimática das enzimas α -amilase e amiloglicosidase no caldo do sorgo Sacarino

Utilizou-se neste trabalho as enzimas α -amilase (Termamyl 120 - Novozymes) e amiloglicosidase (AMG - Novozymes) da A atividade de ambas as enzimas foram determinadas pelo método das taxas iniciais de reação, para hidrólises do amido presente no caldo do sorgo sacarino realizadas em reatores tipo batelada.

As atividades enzimáticas do amido pela α -amilase e AMG foram realizadas no pH do caldo de sorgo (4,8), nas temperaturas de 35 °C e 75 °C e nas concentrações enzimáticas descritas na Tabela 3.2, definidas para cada experimento, com objetivo de encontrar a melhor concentração de enzima e temperatura para a hidrólise de amido no caldo do sorgo sacarino. Inicialmente colocou-se no reator 100 mL do caldo de sorgo sacarino no tampão adequado, após atingir a temperatura desejada para o experimento, adicionou-se ao reator a concentração de enzima desejada. O volume total retirado do recipiente para análise não ultrapassou 8% do volume total.

Tabela 3.2 - Condições dos experimentos para determinação da atividade enzimática para as enzimas α -amilase e amiloglicosidase (AMG)

Enzima	Concentração (g/L)
α - amilase	10,0
	5,0
	1,0
	0,8
	0,6
	0,4
	0,2
amiloglicosidase	10,0
	5,0
	1,0
	0,8
	0,6
	0,4
	0,2

As amostras foram tomadas, normalmente em número de seis para cada experimento, a intervalos de cinco em cinco minutos. Cada amostra (2 mL) foi introduzida em um tubo de ensaio, nos quais imediatamente eram realizados a determinação da glicose hidrolisada pelo método de DNS conforme descrito no item 3.13. Como os caldos de sorgo sacarino contem glicose e outros açúcares, antes da adição da enzima estes açúcares presentes no caldo eram quantificados. Após a adição da enzima e após hidrólise, os açúcares eram novamente quantificados e por diferença eram obtidos os açúcares hidrolisados.

Após ser definida a melhor concentração enzimática para as duas enzimas, também foram determinadas as atividades destas enzimas nos valores de pH de 4,0/ 4,5/ 5,5/ 6,5 e 7,5.

A atividade a partir do método das atividades iniciais, para cada reação da hidrólise da sacarose, era obtida por meio das inclinações das retas de concentração de açúcar redutor em função do tempo de reação. Todos os experimentos foram realizados em triplicata para uma maior confiabilidade nos resultados obtidos. A atividade foi calculada com a curva de calibração, conforme Anexo A1. A unidade de atividade (U) foi definida como grama de glicose produzida por litro de sorgo sacarino por minuto por grama de enzima ($\text{g}_{\text{açúcar redutor}}/\text{L} \cdot \text{min} \cdot \text{g}_{\text{enzima}}$).

3.13 Quantificação de açúcares redutores após hidrólise enzimática

A determinação de açúcares redutores foi realizada pelo método do ácido 3,5 – dinitrosalicílico (MILLER, 1959). O método de DNS baseia-se na redução do ácido 3,5-dinitrosalicílico a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico e, ao mesmo tempo, na oxidação do grupo aldeído ou cetônico a grupos carboxílicos, com o desenvolvimento da cor laranja-marrom intenso.

O método de DNS utiliza os reagentes ácidos 3,5-dinitrosalicílico, sal de Rochelle e hidróxido de sódio, cada uma com uma função específica.

A determinação da concentração de açúcares redutores foi feita adicionando 0,5 mL do caldo de sorgo sacarino com 1 mL do reagente DNS em Tubos de Folin-Wu e levada para um banho em água fervente por 5 minutos. Após este tempo, resfriava-se os tubos em banho com água em temperatura ambiente e completava-se o volume a 12,5 mL com água destilada, os quais eram homogeneizados e a seguir realizada a leitura da absorbância.

A calibração do zero no aparelho foi feita utilizando um teste em branco, em que 0,5 mL de água destilada substituíu a amostra, seguindo o mesmo procedimento.

O método foi previamente padronizado por uma curva de calibração de glicose (0,1 a 1,0 mg/mL com intervalos de 0,1 g/L) que pode ser visualizada no Anexo A1. As leituras foram realizadas a 540 nm em espectrofotômetro Thermo Spectronic modelo Genesys 10 UV, utilizando cubetas de vidro.

3.14 Avaliação do efeito da adição de enzimas no caldo de sorgo

Sabe-se que o caldo de sorgo sacarino contém uma pequena concentração de amido (aproximadamente 0,5%) porque esta planta produz grãos. Portanto, ensaios com a adição de α -amilases e amiloglicosidase (AMG) foram realizados, com o objetivo de avaliar o aumento na concentração de glicose proveniente do amido presente no caldo de sorgo sacarino.

Hidrólises foram realizadas testando o efeito de cada enzima alfa amilase e amiloglicosidase isoladamente, e em diferentes associações das enzimas, temperatura e pH de acordo com suas melhores condições de atividade para avaliar o efeito destas condições de hidrólise no amido presente no caldo de sorgo sacarino BRS 509 (Tabela 3.3).

Também foram realizadas hidrólises testando o efeito de cada enzima, α -amilase e amiloglicosidase isoladamente, em diferentes associações das enzimas nas condições naturais do caldo do sorgo sacarino de pH (pH do caldo do sorgo sacarino é de $4,8 \pm 1,1$), na temperatura de fermentação (35°C) e também na temperatura em que opera um difusor em uma usina (75°C), para avaliar o ganho industrial em termos de etanol, adicionando apenas estas enzimas sem nenhuma outra alteração de pH e de temperatura.

Tabela 3.3 - Diferentes condições de hidrólise enzimática no caldo do sorgo sacarino com a enzima α -amilase e amiloglicosidase na concentração de 1 g/L

Enzima	pH	Conc. (g/L)	Temp. (°C)	Tempo de coleta (horas)
Testes nas melhores condições de melhores atividades				
α - amilase	6,5	1	75	0,5 ; 1 ; 2
AMG	4,5	1	75	0,5; 1; 2
α - amilase eAMG	6,5	1	75	1; 2; 3
	4,5	1	75	
Testes nas melhores condições naturais do caldo durante fermentação ou extração				
α - amilase,	4,8	1	35	0,5; 1; 2
α - amilase	4,8	1	75	0,5; 1; 2
AMG	4,8	1	35	0,5; 1; 2
α - amilase eAMG	4,8	1	35	1; 2; 3
α - amilase eAMG	4,8	1	75	1; 2; 3

Os açúcares e amido presentes no caldo foram quantificados inicialmente antes da hidrólise enzimática. A quantificação de açúcares (sacarose, glicose e frutose) foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a concentração do amido no caldo do sorgo sacarino foi determinada de acordo com o procedimento descrito por MILLER (1959).

Com o objetivo de acompanhar a hidrólise enzimática no caldo do sorgo, após cada coleta, quantificava-se novamente a concentrações de amido e de açúcares presentes no caldo.

3.15 Avaliação da fermentação do caldo de sorgo sacarino hidrolisado

Após determinação das melhores condições de hidrólise e associações de enzimas, o caldo de sorgo sacarino BRS 509 foi hidrolisado e em seguida fermentado. As fermentações foram realizadas com um volume de caldo de sorgo sacarino de 700 mL, 35 °C, sem agitação e foram monitoradas por um período de 8 horas com medidas de concentração de sacarose, glicose, frutose, glicerol e etanol por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Para efeito de comparação de rendimento da fermentação alcoólica também foi realizada uma fermentação do caldo BRS 509 sem hidrólise enzimática.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os principais resultados obtidos no desenvolvimento deste trabalho. Inicialmente, apresenta-se os resultados e discussão do plantio, colheita, construção da curva de maturação e determinação dos parâmetros de produtividade das quatro cultivares cultivadas neste trabalho. Na sequência do trabalho serão apresentados os resultados de caracterização química do caldo de sorgo sacarino e o comportamento de seus nutrientes ao longo do período de maturação. E para finalizar são apresentados os resultados das fermentações do caldo in natura, do caldo concentrado e também os resultados referentes a hidrólise enzimática no caldo do sorgo e as fermentações deste caldo após hidrólise enzimática.

4.1 Plantio e crescimento das cultivares de sorgo sacarino

As cultivares de sorgo sacarino BRS 506, BRS 508, BRS 509 e BRS 511 cultivadas para obtenção do caldo utilizado neste trabalho foram acompanhadas semanalmente e suas fases de crescimento estão apresentadas nas Figuras de 4.1 a Figura 4.7.



Figura 4.1 - Sorgo sacarino com 6 dias após o plantio

Na Figura 4.1 pode ser visualizada a emergência do sorgo, ou seja, quando a planta rompe completamente a superfície do solo e que ocorre geralmente de 3 a 10 dias após a semeadura. O tempo necessário depende da temperatura do solo, das condições da umidade, da profundidade da semeadura e do vigor da semente. Neste experimento pode-se notar que 6 dias após a semeadura houve a total emergência da planta. Com 12 dias após a semeadura, a planta apresentou 3 folhas e neste estágio de crescimento o meristema apical (pseudocolmo) está abaixo da superfície do solo o que faz com que este estágio de crescimento seja baixo (FORNASIERI FILHO e FORNASIERI, 2009)



Figura 4.2 - Sorgo sacarino com 12 dias após o plantio

Na Figura 4.3 pode-se visualizar a planta de sorgo sacarino com 5 folhas expandidas com 20 dias após a semeadura. Neste estágio de crescimento a planta apresenta sistema radicular em rápido desenvolvimento e a partir deste estágio inicia-se o período de grande desenvolvimento da planta. Nesta fase realizou-se a primeira cobertura com c.

Na Figura 4.4 pode ser visualizado as cultivares de sorgo com 35 dias após o plantio evidenciando o rápido desenvolvimento após cobertura com ureia. Na Figura 4.5 pode ser observada a planta de sorgo sacarino com 55 dias após o plantio, em que a planta inicia-se a fase indutiva ao florescimento e nesta fase do crescimento o ápice meristemático de crescimento passa de vegetativo (produção de folhas) para reprodutivo (produção da inflorescência). A elongação do colmo aumenta rapidamente com a diferenciação do ponto de crescimento.



Figura 4.3 - Sorgo sacarino com 19 dias após o plantio



Figura 4.4 - Sorgo sacarino com 35 dias após o plantio

Na Figura 4.6 observar-se que, com 77 dias após o plantio a cultura de sorgo sacarino apresentou folhas totalmente expandidas, condição esta que proporciona a máxima interceptação de luz. Nesta fase, ocorre o início da fase reprodutiva, em que o sorgo sacarino para de crescer e inicia-se o acúmulo de açúcares no colmo e o enchimento dos grãos que se estende até a colheita final do sorgo. Foi nesta fase, que iniciou-se a coleta de colmos para

construção da curva de maturação e acompanhamento dos nutrientes do caldo do sorgo sacarino.



Figura 4.5 - Sorgo sacarino com 55 dias após o plantio - Iniciação da diferenciação floral



Figura 4.6 - Sorgo sacarino com 77 dias após o plantio - Início da fase reprodutiva e acúmulo de açúcares



Figura 4.7 - Cultivares de sorgo sacarino BRS 508 e BRS 511 com 82 dias após o plantio (fase de enchimento dos grãos)

Na Figura 4.8 tem-se o sorgo sacarino no final de sua fase de maturação, em que os açúcares atingiram o máximo de sua concentração nos colmos e seus grãos foram totalmente enchidos.



Figura 4.8 - Sorgo sacarino com 120 dias após o plantio

4.2 Determinação da produtividade

Os resultados médios das análises de açúcar total(glicose, frutose e sacarose), teor de fibra e rendimento de fermentação de cada cultivar (resultados médios das análises realizadas nos 4 blocos de repetição de cada cultivar) estão apresentados na Tabela 4.1, e nesta tabela pode-se observar que a cultivar BRS 508 apresentou maiores concentrações de açúcar total. Os resultados apresentados nesta tabela foram utilizados no balanço de massa para determinação da produtividade de colmos e etanol/ha para cada cultivar apresentados na Tabela 4.4, 4.5 e 4.6.

Tabela 4.1 - Composição de açúcares e fibra das cultivares de sorgo sacarino e rendimento de fermentação

	Cultivares de Sorgo Sacarino			
	BRS 506	BRS 508	BRS 509	BRS 511
Fibra (%)	15,2	22,1	16,5	18,2
Açúcar total (g/L)	130,1	142,9	123,2	131,1
Rendimento da fermentação $Y_{P/AT}$ (%)	88,4	90,5	87,1	87,3

As Tabelas 4.2 e 4.3 apresentam os resultados médios da análise de variância conjunta obtidos para as safras 2011/2012 (safra agrícola 2012) e 2012/2013 (safra agrícola 2013) para as cultivares BRS 506, BRS 508, BRS 509 e BRS 511 em relação as variáveis: produção de colmo por hectare (TCH); altura da planta; °Brix, produção de açúcar total(AT - sacarose, glicose e frutose); produção de etanol e teor de fibra.

Tabela 4.2 - Resumo da análise de variância conjunta para altura de plantas, produtividade de colmos, °Brix, e produção de açúcar total avaliadas na safra agrícola 2012 e 2013

FV	GL	QM					
		TCH (ton/ha)	Altura (m)	°Brix (%)	AT (g/L)	AT (kg/ton)	AT (kg/ha)
Blocos (safras)	6	6,37	0,009	0,65	52,32	11,63	42794,77
Safra	1	2682,53**	4,26 **	60,20 **	7307,61 **	4766,00 **	7608775,66**
Cultivares	3	73,38**	0,25 **	9,76 **	334,53 **	311,22 **	26167,73**
Safra*cultivares	3	7,01 ^{NS}	0,10 **	2,57 *	241,30 *	560,71 **	571299,75 **
erro	17	2,92	0,005	0,58	43,2	6,41	27083,94
Média		39,13	2,77	19,85	147,86	121,96	4634,71
CV		4,29	2,54	3,86	4,48	2,11	3,49

** e *indicam diferença pelo teste F a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. NS = não significativo ($p \geq 0,05$). FV (fonte de variação); GL (graus de liberdade); QM (quadrado médio); p (significância); CV (coeficiente de variação).

Verificam-se nas Tabelas 4.2 e 4.3 diferenças significativas ($p \leq 0,01$) entre as safras agrícolas avaliadas para todas as variáveis analisadas. Isto mostra, que os efeitos ambientais influenciaram de maneira diferente nas safras 2012 e 2013. A mesma diferença foi observada entre as cultivares avaliadas para todas as variáveis analisadas, evidenciando diferenças genéticas entre os cultivares. Verificou-se interação “safra vs. cultivar” significativa ($p \leq 0,05$) para quase todos os caracteres avaliados, exceto para produção de colmos (Tabela 4.2 e 4.3). Portanto, os cultivares BRS 506 e BRS 508, RS 509 e BRS 511 e as safras 2012 e 2013 apresentaram diferenças em relação a estas variáveis analisadas. Os resultados obtidos para a variável produção de colmos, por não apresentarem interação “safra vs. cultivar” significativa, estão apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.3 - Resumos das análises de variância conjunta para produção de etanol por tonelada de colmo (PE), litros de etanol por hectare (LE) e teor de fibra por tonelada de colmo (TF) avaliadas na safra agrícola 2012 e 2013

FV	GL	QM		
		PE (L/ton)	LE (L/ha)	TF(ton/ha)
Blocos (safras)	6	10,41 **	21378,30 **	0,18**
Safra	1	557,70 **	2530530,05 **	62,32**
Cultivares	3	94,60 **	151302,47 **	14,35**
Safra*cultivares	3	83,28 **	141744,40 **	1,56**
erro	21	2,61	4091,79	0,1
Média		55,33	2297,18	8,29
CV		2,93	2,94	4,40

** e *indicam diferença pelo teste F a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. NS = não significativo ($p \geq 0,05$). FV (fonte de variação); GL (graus de liberdade); QM (quadrado médio); p (significância); CV (coeficiente de variação).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4.4, pode-se observar que a produção de colmos (sem folha e sem panícula) varia de 25,19 a 51,27 kg/ha e estas variações entre as cultivares devem-se provavelmente a fatores genéticos e ambientais. Dentre os cultivares, o BRS 508, BRS 509 e BRS 511 apresentaram as maiores produtividades de colmo, as quais não apresentaram diferenças significativas entre si. O BRS 506 apresentou a menor produtividade. Na mesma Tabela pode-se observar que, independentemente do cultivar, a produção de colmos foi significativamente superior na safra 2013 (48,6 kg/ha) em relação a 2012 (30,3 kg/ha).

Tabela 4.4 - Resultados médios para produtividade de colmos por hectare (TCH) a partir da avaliação de 4 cultivares de sorgo sacarino, avaliadas na safra agrícola 2012 e 2013

Cultivares	Safra 2012	Safra 2013
BRS 506	25,19 a	45,27 a
BRS 508	33,62 b	49,53 b
BRS 509	31,97 b	51,27 b
BRS 511	30,31 b	48,21 b

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade

A maior produtividade de colmos (sem folha e sem panícula) na safra 2013 pode estar relacionada com a época de semeadura, que para este cultivar ocorreu em novembro. Este período pode proporcionar às plantas maior atividade fotossintética que pode resultar em maior acúmulo de massa seca. Almodares et al. (1994) relata que a semeadura tardia reduz o ciclo da cultura, a produtividade de colmos e o teor de carboidratos. Segundo os autores, a produtividade obtida na cultura do sorgo sacarino é fortemente influenciada pela duração dos dias e pela radiação solar global.

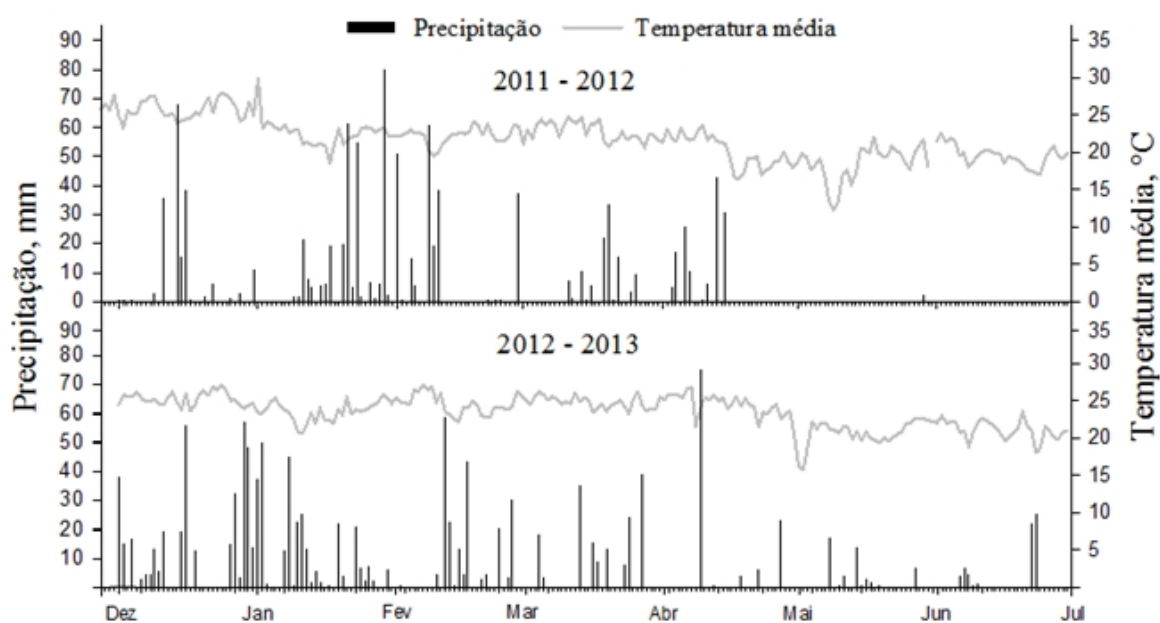


Figura 4.9 - Dados diários de precipitação e temperatura média do ar durante os períodos experimentais na região de Ituiutaba –MG

As melhores produtividade em açúcares por área de cultivo estão estreitamente relacionados com dias mais longos de radiação solar máxima. As radiações globais máximas na região Sudeste do Brasil ocorrem nos meses de outubro a março, e, a partir de abril começam a decrescer, atingindo o valor mais baixo no mês de junho. Outro fator que pode explicar esta diferença nos rendimentos pode estar relacionada à ocorrência e distribuição das chuvas durante período do experimento.

Na safra 2012, durante, o período experimental, o volume de chuvas foi de 1.046,8 mm, quantidade menor do que na safra 2013 em que choveu 1.187,4 mm (Figura 4.9). Desta forma, a semeadura tardia na primeira safra, propiciou menor produção de colmos acompanhada de redução nos teores de açúcares, pois essas plantas sofreram interferência negativa dos fatores temperatura e disponibilidade hídrica, logo, o estabelecimento da cultura se deu de forma mais lenta e menos eficiente do que as cultivadas na safra 2013. Observações semelhantes foram relatadas por Teetor et al., (2011), que evidenciaram que a semeadura tardia resultou em redução no rendimento de biomassa e açúcar total em seus experimentos, isto pode variar de acordo com a cultivar testada.

Esteves et al. (1981), avaliaram o efeito de seis épocas de semeadura, entre outubro e janeiro, em dez cultivares de sorgo no município de Lorena (SP) e concluíram que a semeadura na segunda quinzena de outubro resultou em maior altura de plantas, peso médio de colmos e concentrações superiores de sólido solúveis totais.

Avaliando o desempenho de 25 cultivares de sorgo sacarino em Sinop (MT), Tardin et al. (2012) concluíram relativa superioridade das cultivares sacarinas CMSXS 630, CMSXS 634 e CMSXS 647 em relação aos híbridos quando se refere ao teor de sólidos solúveis (Brix) e produção de caldo, mas ressaltaram que novos testes em diferentes locais e anos, devem ser realizados para recomendação segura de cultivares de sorgo sacarino no Mato Grosso.

Bandeira et al. (2012) estudaram o desempenho dos cultivares BRS 506 e FEPAGRO19 em três épocas de semeadura (outubro, novembro e dezembro) em Santa Maria (RS), e concluíram que a semeadura de novembro foi a mais adequada por não sofrer com quedas acentuadas de temperaturas diurnas e noturnas e, períodos de excesso hídrico ocorridos no mês de outubro ou por altas temperaturas do ar (média de 42°C) no mês de dezembro.

O desdobramento da interação das variáveis que apresentaram interação entre “safra vs. cultivar” (altura de planta, °Brix, AT, produção de etanol e teor de fibra) estão apresentadas nas Tabelas 4.5 e 4.6.

Tabela 4.5 - Desdobramento da interação “safra vs. cultivares” para as variáveis altura de plantas, °Brix, e produção de açúcares totais (AT) em g/L e em kg/tonelada a partir da avaliação de 4 cultivares de sorgo sacarino, avaliadas na safra agrícola 2012 e 2013

Cultivares	Altura (m)		°Brix (%)		AT (g/L)		AT (kg/ton)	
	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013
BRS 506	2,09 a	3,06 a	19,22 a	17,27 a	153,57 a	130,18 a	137,69 b	110,66 b
BRS 508	2,68 c	3,24 b	22,50 c	19,31 b	161,01 a	141,47 b	111,48 a	111,52 b
BRS 509	2,26 b	3,13 a	20,97 b	19,18 b	157,36 a	123,23 a	137,65 b	102,89 a
BRS 511	2,65 c	3,15 a	22,05 c	18,00 a	174,99 b	131,14 a	143,14 c	107,27 b

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Os valores médios para produção de colmos obtidos neste trabalho na safra 2013 estão de acordo aos encontrados por Souza et al. (2013) e Albuquerque et al. (2010), que encontraram valores entre 45 e 55 tonelada de colmo por hectare. Vale destacar, que os maiores valores médios obtidos na safra 2013 para todos os cultivares avaliados, foram inferiores aos obtidos por May et al. (2012), que observaram 80 ton/há demonstra o potencial desta cultura na produção de biomassa em curto espaço de tempo.

Quanto à altura das plantas, a interação “safra vs. cultivares” foi significativa e pode-se observar, na Tabela 4.5, que os cultivares BRS 508 e BRS 11 apresentaram, na safra 2012, as maiores alturas, seguidos da cultivar BRS 509 e BRS 506. Assim como na safra 2012, a cultivar BRS 508 apresentou altura superior aos demais, inclusive a cultivar BRS 511, que não diferiu significativamente dos demais cultivares na safra 2013. É possível verificar, ainda, que independentemente do cultivar, a altura de plantas foi superior na safra 2013.

Ao analisar a Tabela 4.5 com relação aos valores de °Brix, pode-se observar que os mesmos são próximos, para todas as cultivares aos valores de °Brix encontrados na cana-de-açúcar por Azevedo et al. (2003) que foram entre 18 a 20 °Brix. Em ambas as safras, maiores valores de °Brix foram encontrados para a cultivar BRS 508.

No que se refere à produção de açúcar total por tonelada de colmos de sorgo sacarino, pode-se verificar que, exceto para a cultivar BRS 508, o qual apresentou resultados semelhantes entre as safras, a produção de açúcares por planta foi superior na safra 2012. Na safra 2013 a cultivar BRS 508 apresentou maior acúmulo de açúcares no colmo.

No entanto, quando a produção de açúcar total foi expressa por unidade de área (ha), verifica-se na Tabela 4.6, que os valores desta variável foram superiores na safra 2013. A cultivar BRS 508 proporcionou produtividade de açúcares inferior aos demais cultivares na

safra 2012, porém, foi a cultivar mais produtiva na safra 2013. Isto pode ser explicado pela diferença de produção de colmos entre as safras (Tabela 4.4) que foi bem maior para a safra 2013, o que interfere diretamente na produção de açúcar e etanol. Murray et al. (2008), verificou forte associação entre produção de colmos e a produtividade de etanol por hectare, pois o caldo rico em açúcares fermentáveis é extraído em sua totalidade desta biomassa. Assim, quanto maior o rendimento de biomassa verde maior será a produtividade de caldo e açúcares por hectare e por consequência, maior volume de etanol produzido.

Analisando os resultados referentes à produção de açúcares, pode-se observar que os resultados foram superiores na safra 2012. Isto pode ser explicado pelo efeito de concentração de açúcares no colmo provocado pela menor disponibilidade hídrica que ocorreu na safra 2012, como pode ser verificado na (Figura 4.9).

Tabela 4.6 - Desdobramento da interação “safra vs. cultivares” de açúcar total (AT), produção de etanol (PE) por tonelada de colmo e por hectare e teor de fibra (TF) a partir da avaliação de 4 cultivares de sorgo sacarino, avaliadas na safra agrícola 2012 e 2013

Cultivares	AT (kg/ha)		PE (L.etanol/ton)		PE (L.etanol /ha)		TF (ton/ha)	
	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013
BRS 506	4401,72 b	5010,84 a	74,58 b	49,89 b	1872,49 a	2855,30 a	5,27 a	6,79 a
BRS 508	3748,74 a	5513,59 b	65,21 a	49,71 b	2192,94 b	3225,34 c	7,40 b	10,89 d
BRS 509	4401,72 b	5095,36 a	77,50 b	56,69 c	2478,18 c	2868,71 a	5,27 a	8,17 b
BRS 511	4339,14 b	5172,50 a	80,12 c	47,68 a	2485,45 c	2913,85 b	5,51 a	8,77 c

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Maiores quantidades de etanol por tonelada de sorgo sacarino foram obtidas para a safra de 2012 devido à maior concentração de açúcares nos colmos nesta safra. Porém, ao analisar a quantidade de etanol por hectare de sorgo sacarino, maiores valores foram observados para a safra 2013 devido à maior produtividade de colmos obtida nesta safra.

Martins (2014) em seu trabalho encontrou valores de produção de etanol por hectare para a cultivar BRS 508 de 2.263 L/ha e para a cultivar BRS 509 a produção de etanol encontrada pelo autor foi de 1.968 L/ha. Para a cultivar BRS 511 o valor de produção de etanol encontrado foi de 1.751 L/ha, valores estes inferiores aos valores encontrados neste trabalho. Os valores médios de produção de etanol encontrados neste trabalho foram inferiores aos encontrados para a cana-de-açúcar, que apresentam média nacional de

aproximadamente 7.000 L/ha. Vale destacar novamente, que o ciclo do sorgo sacarino é de apenas 4 meses e as colheitas em cana-de-açúcar variam de 12 a 18 meses. Diante dos dados observados, é possível verificar o grande potencial do sorgo sacarino para produção de etanol no Brasil, mas de forma complementar a cana-de-açúcar.

A interação “safra vs. cultivar” também foi analisado em termos de produção de fibras. Na Tabela 4.6, verifica-se que, independentemente da safra, a cultivar BRS 508 apresentou maior produção de fibras. Na safra 2012 houve diferença significativa entre a cultivar BRS 508 e as demais cultivares para esta variável, todavia, na safra 2013, observou-se diferença significativa entre todos os cultivares, sendo que, a cultivar BRS 511 apresentou produção de fibras menor que a cultivar BRS 508, mas superior a cultivar BRS 509 e BRS 506. E entre estes dois últimos, a cultivar BRS 506 foi o que apresentou menor produção de fibras. Do mesmo modo que as variáveis anteriores, a produção de fibras foi significativamente superior na safra 2013, independentemente do cultivar.

Um maior teor de fibra na biomassa é de interesse das usinas que cogerem energia por meio da queima do bagaço. Verifica-se que entre as cultivares, maiores valores médios de fibra foram encontrados para a cultivar BRS 508.

Na Tabela 4.7 tem-se a população de plantas por hectare para as 4 cultivares estudadas, o qual pode-se verificar que a população de plantas foram próximos. Marchezan e Silva (1984), avaliando em seu trabalho o rendimento de colmos da cultivar BR 505, com população de plantas de 120.000 plantas por hectare e espaçamentos entrelinhas de 0,7 m, observaram 46,8 t/ha em Santa Maria, RS, com semeio em novembro de 1982. Teixeira et al. (1999), estudando a mesma cultivar por três safras consecutivas a partir do ano de 1984, em Jundiaí, SP, encontraram 20,8, 38,9 e 52,7 t/ha, respectivamente, para cada ano, sendo menores com semeio tardio (janeiro). Souza et al. (2013) avaliando produção de massa verde de 25 cultivares de sorgo sacarino em cinco localidades no Brasil, observaram produtividades variando de 32 a 57 t/ha, 28 a 54 t/ha e 25 a 52 t/ha, para o BRS 511, BRS 508 e BRS 509, respectivamente.

Tabela 4.7 - População média de plantas por hectare obtida para cada cultivar

Cultivar	Plantas/ha
BRS 506	107.142,86
BRS 508	112.666,67
BRS 509	114.761,92
BRS 511	112.857,14

Albuquerque et al. (2010), estudando o efeito da diferenças de espaçamento entre as linhas cultivadas de sorgo sacarino, na produção de massa verde das cultivares BRS 506 e BR 507 de sorgo sacarino em três locais no Norte de Minas, encontraram pouca ou nenhuma diferença significativa na produção de massa verde destas cultivares em função do espaçamento, sendo que todas as produtividades foram menores do que aquelas encontradas em Sete Lagoas, na safra 2012/2013.

Na avaliação da produção de massa verde em função de diferentes populações de plantas na cultivar BR 505, May et al. (2012) observaram produtividades de 76 t/ha, 80 t/ha e 75 t/ha para populações de plantas de 100, 120 e 140 mil plantas por hectare, respectivamente. Desta forma, pode-se dizer que as diferenças nas produções de massa verde nos experimentos de sorgo sacarino se devem a fatores ambientais (manejo, local, época de semeio, entre outros), genético (diferentes cultivares) e a interação destes dois.

Diversos trabalhos demonstram que as exigências culturais do sorgo sacarino são baixas quando comparadas a outras culturas (ALMODARES, TAHERI e ADELI, 2008) e que esta planta faz uso eficiente da umidade do solo além de ser tolerante a condições de seca (DERCAS e LIAKATAS, 1999) no que se refere a sobrevivência e produção de açúcar, sendo capaz de resistir a períodos de seca prolongados, recuperando-se após receber umidade, pois a taxa de transpiração do sorgo muda de acordo com os níveis de umidade disponível e também pode variar de acordo com cada cultivar (ALMODARES, TAHERI e ADELI, 2008). Porém, de acordo com os resultados obtidos neste trabalho, melhores produtividades foram alcançadas quando cultiva-se o sorgo sacarino em períodos com maior umidade e temperatura.

Foi constatado que uma elevada concentração de açúcar foi produzida quando uma determinada cultivar de sorgo recebeu o equivalente a 2,3 mm de chuva por dia, produzindo cerca de 28% de açúcares solúveis a mais do que se recebesse 1,6 mm por dia. Em outro estudo, em que a quantidade de água disponível para o sorgo variou de 5,7 a 17,1 mm por dia, foi observado um aumento no rendimento da biomassa de acordo com o aumento da umidade (CURT, FERNANDEZ e MARTINEZ, 1995).

Ottman e Miller (2010) analisaram os efeitos da disponibilidade de umidade do solo na biomassa do sorgo sacarino e também na concentração de açúcares, com níveis de água variando de 7 a 10 mm por dia, não sendo observadas diferenças significativas durante o período de crescimento em termos de biomassa, mas os autores constataram que as diferenças nos teores de açúcares e rendimento de biomassa ocorrem quando os níveis de água estão abaixo do mínimo necessário para a cultura.

Comparando os dados reportados na Tabela 2.3 com os resultados obtidos neste trabalho, observa-se que o rendimento em etanol do sorgo sacarino e da cana-de-açúcar são próximos, sendo, portanto, uma alternativa bastante promissora para o cultivo em regiões em que a cana não tem adaptação. Além disso, se for feito o aproveitamento das frações sacarina, amilácea e lignocelulósica do sorgo (caldo, bagaço e grãos), a concentração de etanol por hectare em uma safra é praticamente o dobro da concentração obtida com a conversão do caldo de cana (BARCELOS, 2012).

Desta forma, a cultura do sorgo sacarino está sendo incluída no setor suco energético com a proposta de matéria-prima complementar à cana-de-açúcar, com objetivo principal de antecipar a safra, sendo processado em março/abril, reduzindo a necessidade de matéria-prima vinda da cana-de-açúcar em época de baixa qualidade dos canaviais. Para tanto, o semeio do sorgo deve ocorrer, preferencialmente, em novembro/dezembro do ano anterior, já que o ciclo dos cultivares atuais disponíveis no mercado é de 100-120 dias.

Entretanto, além da semeadura na entressafra em áreas de reforma de canaviais, vislumbra-se a introdução do sorgo sacarino em conjunto com a cana-de-açúcar durante a safra, aumentando assim a janela para colheita e, conseqüentemente, a semeadura em diferentes épocas do ano. Vale ressaltar que, possivelmente, não exista material genético apropriado atualmente, que resultem em alto rendimento para semeadura tardia, nos meses de março/abril, devido principalmente à grande influência de temperaturas baixas noturnas, não tolerantes pelo sorgo sacarino (BANDEIRA et al., 2012).

4.3 Curva de maturação

Com a curva de maturação da cultivar de sorgo sacarino foi possível avaliar o período de utilização industrial (PUI), que compreende o período em que a cultivar está apta para a colheita no campo, mantendo os padrões mínimos de concentração de açúcar para rendimentos estabelecidos que viabilizem o seu cultivo. Neste contexto a produção econômica e sustentável de etanol a partir do sorgo sacarino requer níveis mínimos de produção de açúcar total (AT) no caldo. Açúcares totais de 140 g/L é desejável, pois a levedura pode converter completamente este nível de açúcar em etanol em um período de 8 horas. Concentrações de açúcares totais menores que 140 g/L pode resultar em eficiências menores, em relação ao caldo de cana e aumentar os custos industriais de produção de etanol.

Industrialmente, recomenda-se um PUI mínimo de 30 dias para que uma cultivar proporcione um bom planejamento e processamento da matéria-prima.

As Figuras 4.10 e 4.11 apresentam o perfil de acúmulo de AT ao longo do período de maturação das cultivares de sorgo sacarino estudadas para os experimentos realizados na safra 2012 e na safra 2013, respectivamente. O AT foi dado pela soma dos açúcares: sacarose, glicose e frutose.

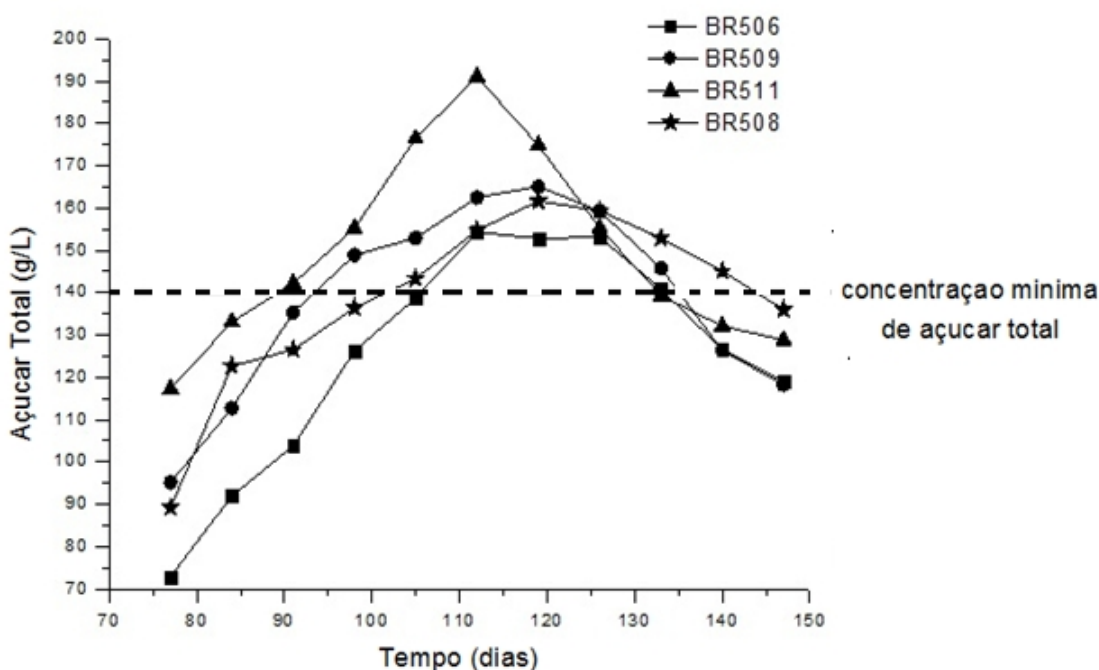


Figura 4.10 - Perfis do acúmulo de açúcares no período de maturação para o ensaio realizado na safra 2012

Analisando a Figura 4.10, verifica-se que a cultivar BR 511 apresentou valores de AT acima de 140 g/L durante maior tempo de plantio (44 dias) e os valores de AT foram superiores às demais cultivares no primeiro plantio, sendo o máximo de 191 g/L, por um período de tempo de aproximadamente 17 dias. Já na Figura 4.11, pode-se verificar que a cultivar BRS 511 manteve valores de AT acima de 140 g/L por apenas 29 dias e o valor máximo de AT foi de 162 g/L, sendo esta cultivar, nos dois plantios para acompanhamento da curva de maturação, a que apresentou maior concentração de AT. Esta maior concentração de açúcar total em 2012, pode ser explicado pela menor disponibilidade hídrica nesta safra durante a formação dos açúcares o que proporcionou maiores concentrações de açúcar total nos colmos do sorgo sacarino, porém um menor volume de caldo.

Também na Figura 4.10 pode-se observar que a espécie BRS 508 manteve a concentração de AT superior a 140 g/L por 42 dias e o valor máximo de AT para essa cultivar

foi de 162 g/L. Já na safra 2013, esta mesma cultivar apresentou concentração de AT superior a 140 g/L por 30 dias e o valor máximo de AT para essa cultivar foi de 160 g/L (Figura 4.11).

Entretanto, a cultivar BR 509 manteve valores acima de 140 g/L também por 42 dias e o valor máximo de AT foi de 165 g/L no primeiro plantio, sendo que no segundo plantio não atingiu valores de AT superior a 140 g/L, apresentando um valor máximo de AT de 135 g/L.

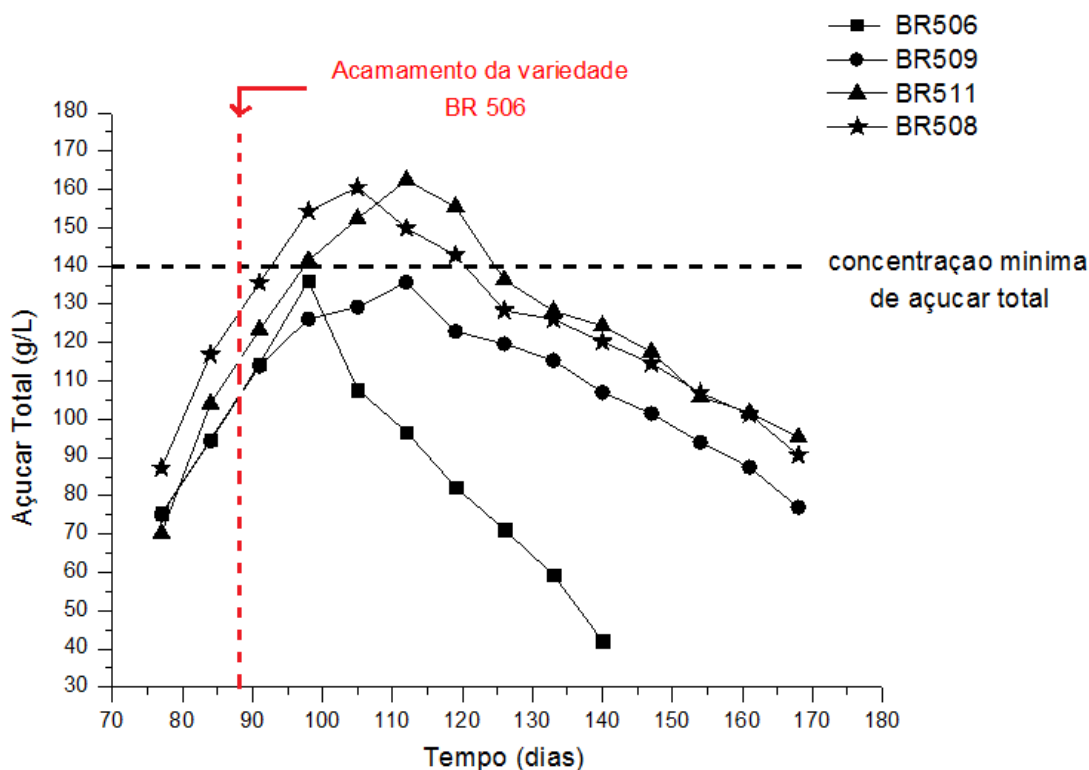


Figura 4.11- Perfis do acúmulo de açúcares no período de maturação para o ensaio realizado na safra 2013

A cultivar BRS 506, em comparação às três cultivares testada na safra 2012, apresentou valores de AT menores (máximo de 154 g/L) e o tempo em que a concentração de açúcar permaneceu superior a 140 g/L foi de 28 dias (105 a 133 dias). Já na safra 2013, esta cultivar acamou com 95 dias após fortes ventos e chuva. Isto pode ser explicado devido ao fato desta cultivar possuir menor teor de fibra em sua composição, como pode-se visualizar na Tabela 4.6. Mesmo após o acamamento esta cultivar ainda continuou concentrando açúcares por um período de aproximadamente 7 dias e a partir deste período, houve queda contínua dos açúcares, pois as folhas começaram a secar não havendo mais como produzir açúcares. Desta forma, houve o consumo dos açúcares armazenado pela planta, o que evidencia a não viabilidade de colheita deste sorgo acamado após muitos dias de acamamento.

Portanto, as cultivares BRS 509 e BRS 511 apresentaram as maiores concentrações de açúcares no primeiro plantio, sendo que a cultivar BRS 509 não atingiu o padrão mínimo adotado de 140 g/L de AT no segundo plantio. Este fato mostra o quanto é importante a época do plantio e as condições climáticas (período com maior índice de precipitação pluviométrica) para alcançar maiores concentrações de açúcares no caldo do sorgo sacarino. Porém, a cultivar BRS 508 apresentou comportamento semelhante em relação à quantidade de açúcares presente no caldo nos dois períodos de plantio analisados.

Os resultados apresentados na Figura 4.11 mostram que até 90 dias a cultivar BRS 506 apresentou comportamento semelhante à BRS 508 e BRS 511. Nesta data houve o acamamento da BRS 506, em que verifica-se que até 95 dias ainda houve aumento na concentração de açúcares e após este período ocorreu uma redução acentuada do mesmo. Este fato mostra que, dependendo do período de maturação da planta, mesmo quando ocorre o acamamento do sorgo, por um tempo determinado, ainda é possível haver o aproveitamento industrial do mesmo.

Pode-se observar pelas Figuras 4.10 e 4.11 que o perfil de queda de AT após o máximo de produção, foi similar para todas as cultivares. Assim, as cultivares BRS 508 e 511 apresentaram melhores resultados em relação à quantidade de AT e o tempo em que estes açúcares permaneceram com valores desejáveis (alto) na planta, isto é, maior PUI o que facilita o processo de colheita na Usina.

De acordo com Prasad et al. (2007) a cultivar e as condições ambientais são os principais aspectos que influenciam o tempo de maturação ótima e por isto se faz necessária uma avaliação contínua do processo de maturação de cada cultivar nas condições climática que se deseja cultivar. Almodares e Hadi (2009) indicaram que a concentração de carboidratos não estruturais do sorgo sacarino também são afetados pela temperatura, hora do dia, espaçamento e adubação.

De acordo com dados reportados na literatura especializada, a redução da concentração de açúcares redutores ao longo do período de maturação pode ser explicada pela conversão destes açúcares em amido, acumulados no grão. Em comparação à cana-de-açúcar, o sorgo sacarino apresenta maiores concentrações de glicose e frutose no caldo (TSUCHIHASHI e GOTO, 2004).

As quantidades máximas de açúcares encontradas nas 4 cultivares analisadas neste trabalho são superiores às quantidades de açúcares relatada por Almodares e Hadi, (2009) e outros autores que relataram valores que variavam de 85 a 120 g/L como média das cultivares Río, M81E, Della, Tato e Thor cultivadas na China (GNANSOUNOU, DAURIAT e

WYMAN, 2005; ZHANG et al., 2010). Guigou et al. (2011) e Zhão et al. (2009) em seus trabalhos encontraram valores bem próximos aos máximos de AT das cultivares analisadas neste trabalho. A cultivar Topper cultivada no Uruguaý e analisada por Guigou et al. (2011) apresentou, em média, 190 g/L de AT.

Em todas as 4 cultivares avaliadas, o principal açúcar encontrado foi a sacarose, seguido por glicose e frutose. A mesma tendência nas concentrações de açúcares foi observada por Guigou et al. (2011), Prasad et al. (2007), Gnansounou, Dauriat e Wyman (2005), Zhao et al. (2011), Wang et al. (2009) e Krishnaveni et al. (1984), em seus trabalhos. Estes resultados foram diferentes dos relatados de Gomez et al., (2011) em que a glicose foi o açúcar mais abundante nas cultivares estudadas.

Portanto, de acordo com os resultados apresentados, nas Figuras 4.10 e 4.11, para os dois plantios, o ponto ótimo de colheita para se obter a máxima concentração de açúcar disponível no colmo do sorgo sacarino seria quando as cultivares estivesse com aproximadamente 110 a 120 dias após o plantio. Após este período, pode-se visualizar nas Figuras 4.10 e 4.11, a diminuição contínua dos açúcares presentes no colmo. Os teores de sacarose e de açúcares redutores se elevaram até a planta atingir a maturidade fisiológica. O rendimento de massa verde também é maior quando os colmos atingem a plena maturidade, época em que os grãos das panículas estão totalmente maduros. Observações semelhantes são relatadas por vários autores, entre eles Broadhead e Dempsey (1969), Webster et al. (1984), Almadares et al. (1994), Naik e Jayakumar (1994) e Teixeira et al., (1999).

Resultados similares também foram encontrados por Liu et al. (1984) que realizaram experimentos com sorgo sacarino, em Taiwan, abrangendo quatro localidades. O teor mais alto de sacarose e de rendimento elevado de biomassa foi obtido com aproximadamente 120 dias após o plantio. Webster et al. (1984), em Oklahoma, EUA, mostraram a importância da época de colheita no rendimento e na composição do caldo de colmos de sorgo sacarino para se obter o máximo de açúcar disponível pelo sorgo sacarino.

Os resultados apresentados nas Figuras 4.10 e 4.11 e na Tabela 4.5 e 4.6 mostraram que as cultivares BRS 508, BRS 509 e BRS 511, apesar de algumas diferenças em relação a curva de maturação do açúcar e de produtividade em etanol, atendem às necessidades industriais para a produção de etanol.

A relação de percentual de açúcar sacarose, glicose e frutose, mostraram que as espécies 511 e 508 apresentaram maiores concentrações de sacarose (superior a 70%) e menores valores de frutose (menor que 12%) ao longo do período analisado. Após 110 dias de plantio as concentrações de sacarose glicose e frutose diminuíram para todas as espécies

estudadas. Porém, a porcentagem de sacarose aumenta em relação à glicose e à frutose, mostrando que estes açúcares passam a ser produzidos preferencialmente pela planta. Nas Figuras 4.12 a 4.17 pode-se visualizar o perfil de concentração dos açúcares glicose, frutose e sacarose separadamente para cada cultivar para as duas safras cultivadas neste trabalho.

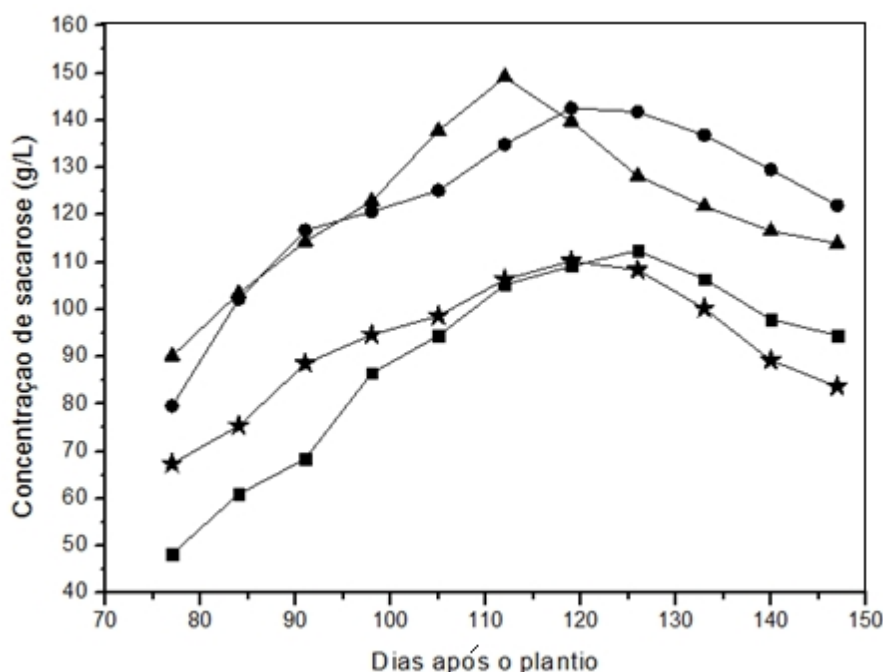


Figura 4.12 - Perfis do acúmulo de sacarose ao longo do período de maturação para as cultivares BRS 506 (■), BRS 508 (●), BRS 509 (★) e BRS511 (▲) na safra 2012

Nas Figuras 4.12, 4.13 e 4.14 pode-se visualizar o perfil de acúmulo de sacarose, glicose e frutose para cada cultivar para o experimento realizado na safra 2012. Desta forma, pode-se observar na Figura 4.12 que a cultivar BRS 511 apresentou maior teor de sacarose (149,13 g/L) que as demais cultivares e o seu maior valor também correspondeu ao mesmo período em que o máximo valor de AT (191,26 g/L) foi encontrado, ou seja para esta cultivar o seu teor de sacarose correspondem a 77,97 % do açúcar total da cultivar em seu ponto máximo de acúmulo de açúcares que ocorreu com 112 dias após o plantio. A cultivar BRS 508 apresentou máximos valores de sacarose similar a cultivar BRS 511. A cultivar BRS 506 obteve menores valores de sacarose até 126 dias após o plantio, em que atingiu o máximo teor de açúcar sacarose acumulado (112,45 g/L) que representa 78,2% do açúcar total acumulado por esta cultivar neste período.

A Figura 4.13 apresenta o perfil de glicose para as 4 cultivares, sendo também a cultivar BRS 511 a que apresentou aumento maior concentração de glicose (35,56 g/L) com

declínio mais acentuado de sua concentração ao longo do período de maturação. A cultivar BRS 506 apresentou menores valores de glicose em praticamente todo o período de maturação conseguindo concentração maior em 112 dias após o plantio (27,63 g/L) .

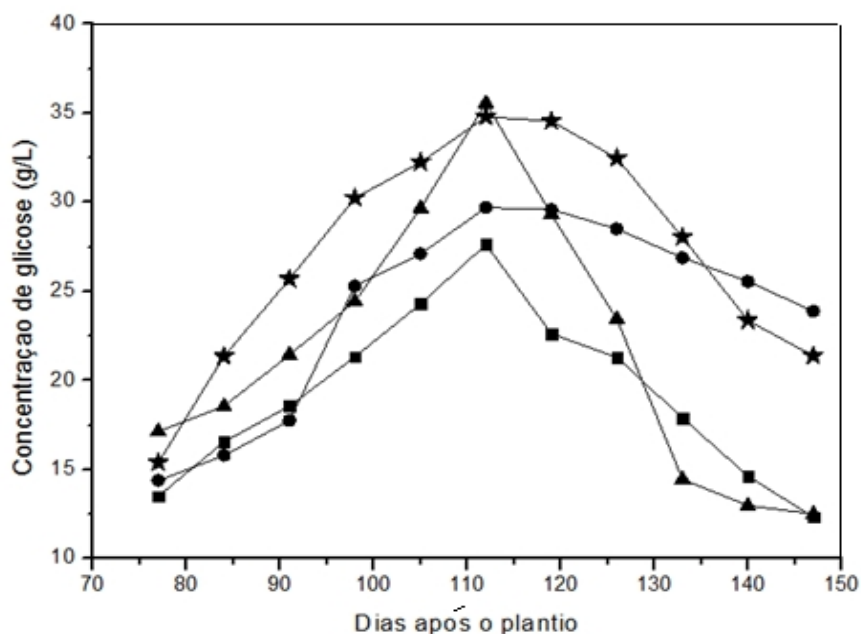


Figura 4.13 - Perfis do acúmulo de glicose ao longo do período de maturação para as cultivares BRS 506 (■), BRS 508 (●), BRS 509 (★) e BRS511 (▲) na safra 2012

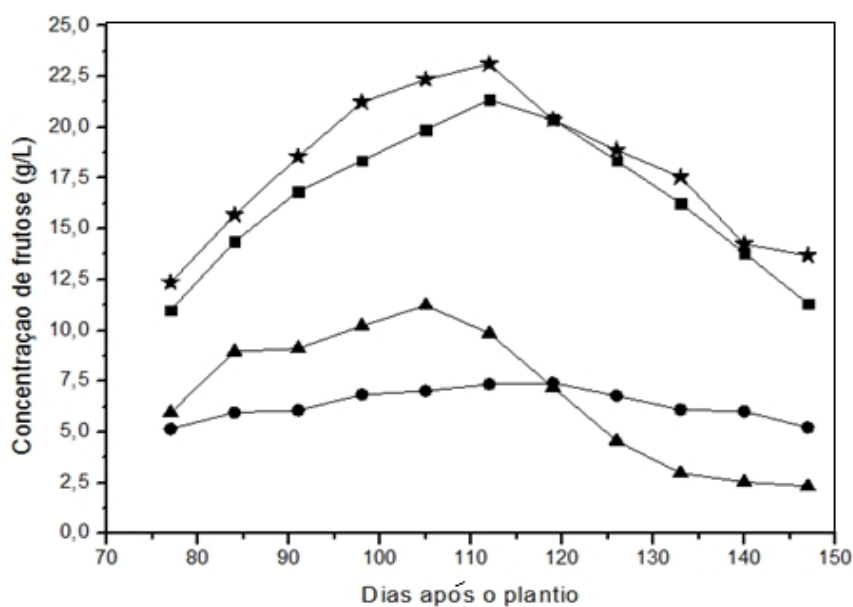


Figura 4.14 - Perfis do acúmulo de frutose ao longo do período de maturação para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (●), BRS 509 (★) e BRS511 (▲) na safra 2012

O perfil de acúmulo de frutose para as 4 cultivares é apresentada na Figura 4.14, em que a cultivar BRS 509 apresentou maiores teores deste açúcar (24,50 g/L). Menores valores de frutose foram observados até 120 dias após o plantio para a cultivar BRS 508 (7,41 g/L) e após este período a cultivar BRS 511 apresentou queda mais acentuada deste açúcar.

Na Figura 4.15 tem-se o perfil de acúmulo de sacarose para as 4 cultivares na safra 2013, em que a cultivar BRS 511 também apresentou maiores concentrações deste açúcar com 94,14 g/L com 112 dias após o seu plantio, que representa 58% do açúcar total acumulado por esta cultivar, porém 33,6% menor que na safra 2012. Estes valores menores de açúcares obtidos na safra 2013 se devem ao fato da maior disponibilidade hídrica que ocorreu em 2013 (como pode ser visualizado na Figura 4.9) fazendo com que os açúcares fiquem menos concentrados em seus colmos, porém com volumes de caldos maiores. A cultivar BRS 508 nesta safra apresentou concentração máxima de açúcar próxima à obtida pela cultivar BRS 511 (88,79 g/L), porém com 105 dias após o seu plantio. A cultivar BRS 506 também apresentou menores concentrações de sacarose nesta safra até 98 dias após o plantio, período em que ocorreu o acamamento desta cultivar e seus açúcares começaram a diminuir.

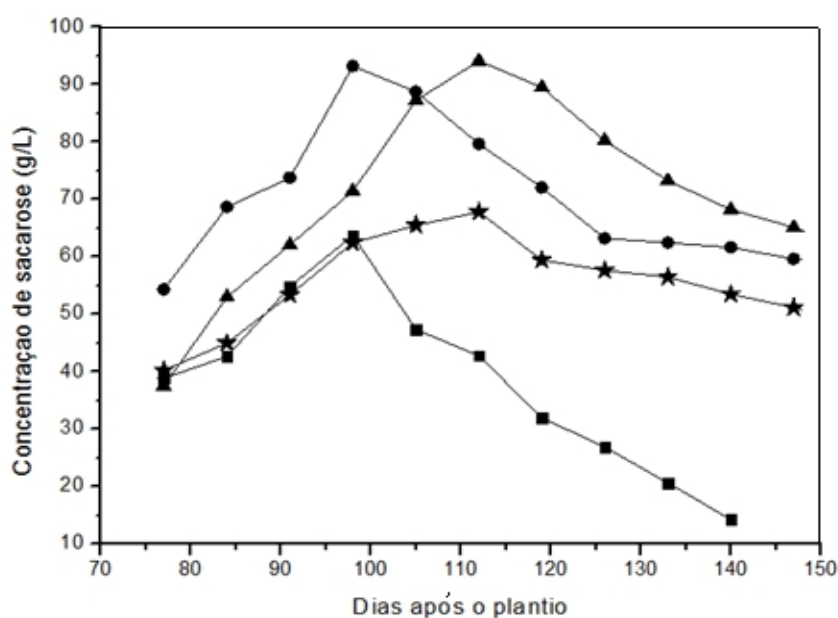


Figura 4.15 - Perfis do acúmulo de sacarose ao longo do período de maturação para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (●), BRS 509 (★) e BRS511 (▲) na safra agrícola 2013

Os perfis do acúmulo de glicose das 4 cultivares para a safra 2013 são apresentados na Figura 4.16, em que pode-se observar comportamentos similares para as cultivares BRS 508,

BRS 509 e BRS 511, sendo a cultivar BRS 508 a cultivar com maior concentração de glicose (48,84 g/L) e a cultivar 509 com a menor concentração deste açúcar com 41,23 g/L, diferentemente da safra 2012 em que as maiores e menores concentrações deste açúcar foi apresentado pela cultivar BRS 511 e BRS 506.

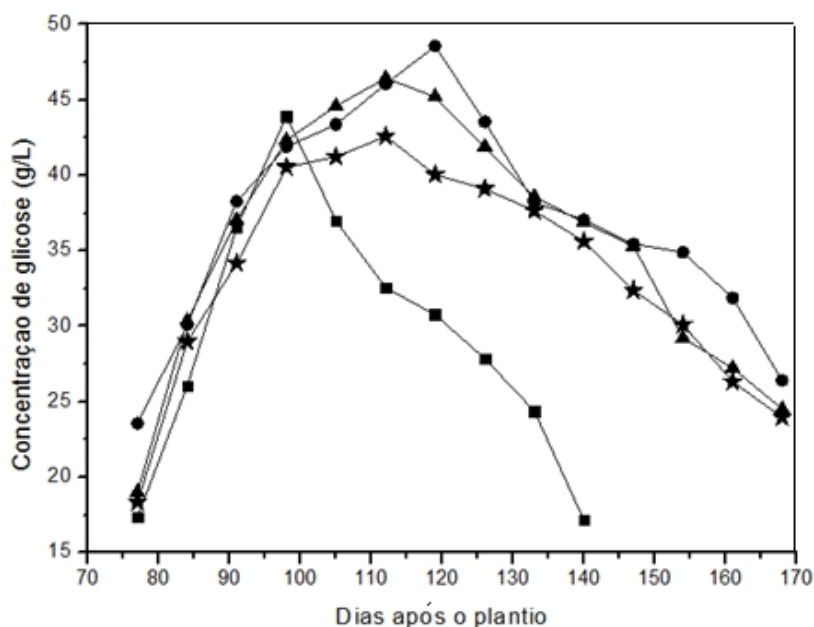


Figura 4.16 - Perfis do acúmulo de glicose ao longo do período de maturação para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (●), BRS 509 (★) e BRS511 (▲) na a safra agrícola 2013

Analisando o perfil de acúmulo de frutose para a safra 2013, observa-se na Figura 4.17 que as cultivares (exceto a cultivar BRS 506 que acamou) também apresentaram comportamento semelhante para as concentrações de frutose acumulado nesta safra com a cultivar BRS 509, sendo que o maior valor acumulado de frutose (25,31 g/L) ocorreu em 112 dias após o seu plantio. Esta cultivar também apresentou maior acúmulo de frutose em 2012 quando comparada com as demais cultivares. Estes resultados mostram que a concentração de açúcares (sacarose, glicose e frutose) ao longo do tempo de plantio teve comportamento similar nas safras de 2012 e 2013, indicando que este é uma característica de cada cultivar.

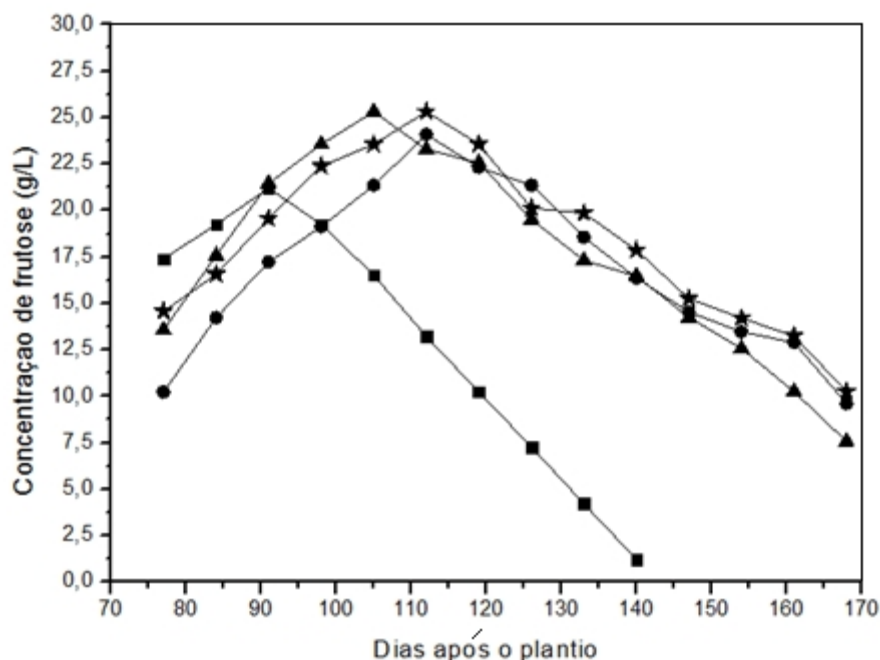


Figura 4.17 - Perfis do acúmulo de frutose ao longo do período de maturação para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (●), BRS 509 (★) e BRS511 (▲) na safra agrícola 2013

4.4 Determinação dos nutrientes e amido no caldo de sorgo sacarino ao longo do período de maturação

Os teores de fósforo, cálcio, magnésio e nitrogênio no caldo do sorgo sacarino, durante o período de construção da curva de maturação, podem ser visualizados nas Figuras 4.18, 4.19, 4.20 e 4.21, respectivamente. Para todas as cultivares analisadas neste trabalho, os teores de todos os nutrientes diminuíram ao longo do período em que foi acompanhado. Este comportamento pode ser explicado devido ao fato do sorgo sacarino, apresentar várias fases, com comportamentos diferentes, durante seu crescimento e maturidade fisiológica.

A fase de iniciação da panícula até o início do florescimento, é uma fase de rápido desenvolvimento da planta de sorgo sacarino, no qual ocorre o acúmulo de matéria seca e de nutrientes. É também a fase em que se dá a diferenciação floral (entre 30 e 40 dias), e a planta deixa de produzir partes vegetativas, colmo e folhas e inicia a formação da parte reprodutiva, a panícula. A partir desse ponto, o rápido alongamento do colmo e da panícula leva a planta ao estágio que é denominado de emborrachamento, e que se completa aos 50-55 dias aproximadamente. A panícula emerge ao final desse período e o florescimento se dá entre 60 a 80 dias após a emergência da planta para a maioria das cultivares (MAGALHÃES e DURÃES, 2003)

Do florescimento até a maturidade fisiológica, inicia-se a rápida translocação de nutrientes acumulados nos colmos para as panículas em que ocorre o enchimento dos grãos. Este fato pode ser claramente visualizado nas Figuras 4.18, 4.19, 4.20 e 4.21 em que a partir de 85 dias há uma queda acentuada nos teores de nutrientes (MAGALHÃES e DURÃES, 2003).

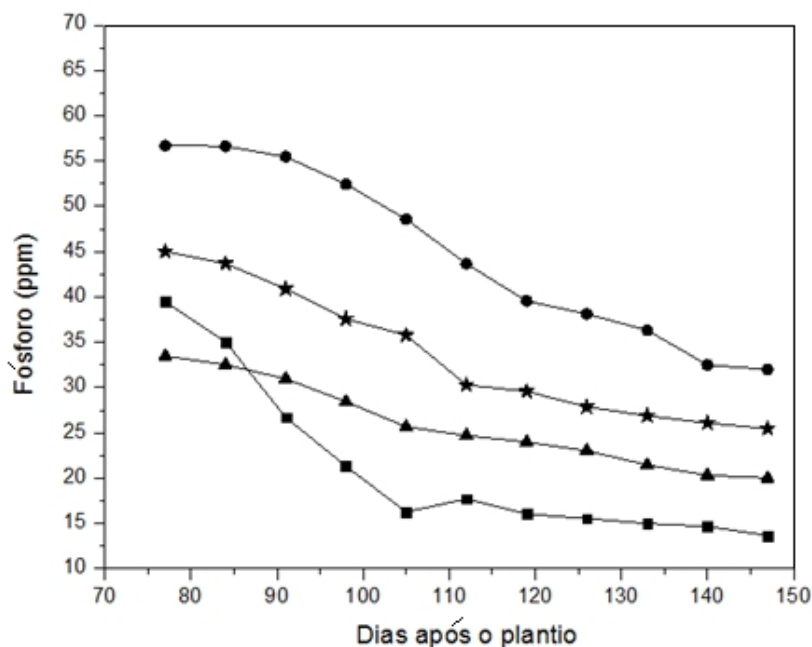


Figura 4.18 - Concentração de fósforo no período de maturação do sorgo sacarino para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (★), BRS 509 (●) e BRS511 (▲) na safra agrícola 2013

Com relação aos teores de fósforo encontrados no caldo do sorgo sacarino das cultivares analisadas, a cultivar BR 509 foi a que apresentou maior concentração de fósforo. Todas as cultivares apresentaram comportamentos similares na diminuição da concentração de fósforo, sendo que esta redução ocorreu de forma mais acentuada até 120 dias após o plantio. No final do período de crescimento e início da fase de maturação os teores de fósforo encontrados foram em média 57,23 ppm. Já no final da fase de maturação o teor de fósforo foi de 36,12 ppm. A cultivar BRS 506 foi a que apresentou menores teores do fósforo ao longo do período analisado e também menores concentração de açúcar e de PUI.

A determinação de fósforo no caldo do sorgo sacarino é muito importante, pois de acordo com Amorim, (1985) o fósforo absorvido pela levedura nos processos de fermentação tem sua principal função relacionada com a transferência de energia na célula de levedura. Este elemento é considerado indispensável à absorção do carboidrato e sua posterior conversão em etanol. Para uma boa fermentação, com alto rendimento de transformação de

açúcares redutores totais em álcool, o mosto destinado a fermentação deve apresentar entre 50 a 100 ppm de fósforo.

Han et al. (2012), em seus estudos observou que o acúmulo de fósforo no caldo de sorgo sacarino diminui ao longo do período de maturação. Este comportamento também pode ser visualizado nos resultados encontrados na investigação dos teores de fósforo durante a maturação do caldo de sorgo sacarino das diferentes cultivares analisadas neste trabalho.

Nas Figuras 4.19 e 4.20, pode-se visualizar os teores de cálcio e magnésio determinados nas diferentes cultivares de sorgo sacarino durante o período de maturação.

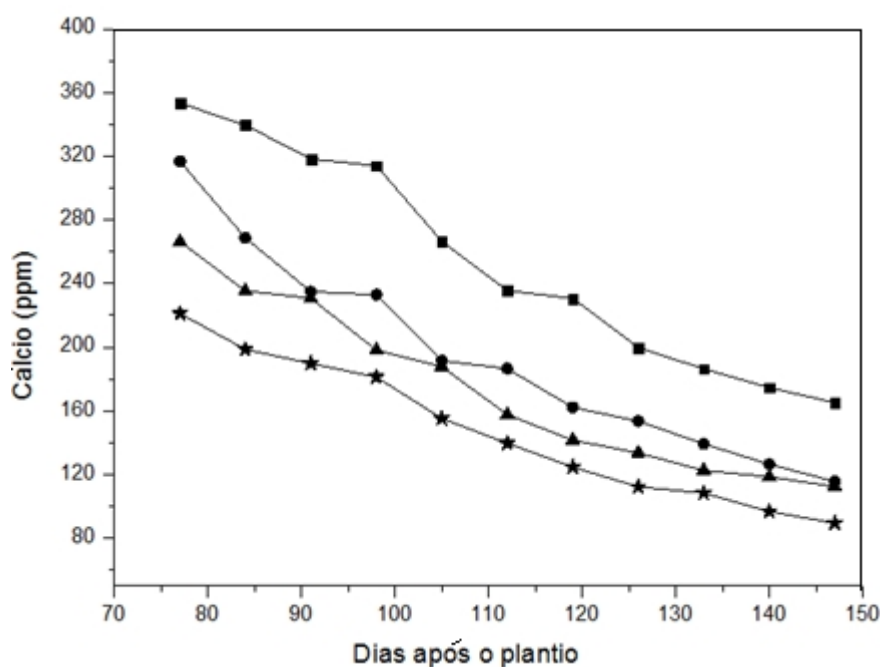


Figura 4.19 - Concentração de cálcio no período de maturação do sorgo sacarino para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (★), BRS 509 (●) e BRS511 (▲)na safra agrícola 2013

Com relação aos teores de cálcio e magnésio encontrados no caldo do sorgo sacarino nas cultivares analisadas, a cultivar BRS 506 foi a que apresentou maior concentração destes nutrientes. No final de seu período de crescimento e início da fase de maturação os teores de cálcio encontrados foram em média 359,29 ppm. No final da fase de maturação o teor de cálcio foi de 165,29 ppm. Após 110 dias de plantio as demais cultivares apresentou concentração de cálcio próxima.

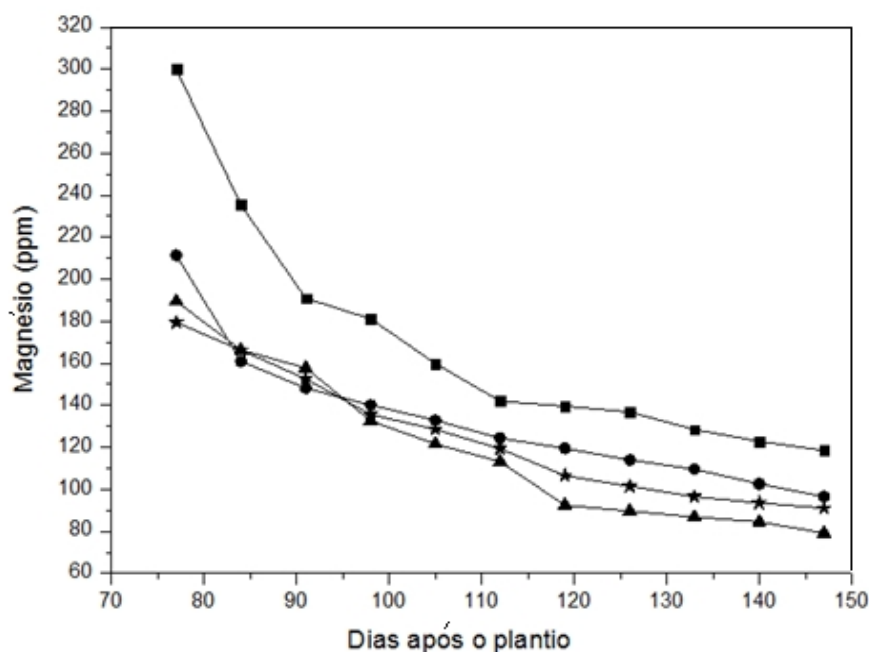


Figura 4.20 - Concentração de magnésio no período de maturação do sorgo sacarino para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (★), BRS 509 (●) e BRS511 (▲) na safra agrícola 2013

Com relação aos teores de magnésio encontrados, no início da fase de maturação, a cultivar BRS 506 apresentou um teor de 299,83 ppm de magnésio. Já no final da fase de maturação o teor de magnésio foi de 118,45 ppm. Para as demais cultivares os teores de magnésio foram próximos, conforme mostra a Figura 4.20 Vale ressaltar que a cultivar BRS 506 apresentou maior concentração de cálcio e magnésio e menor concentração de fósforo e AT e um menor PUI

De acordo com os relatos de Laopaiboon et al. (2009), o caldo de sorgo sacarino da cultivar KKU 40 cultivado na Tailândia, apresentou um teor de 20 ppm de fósforo, 166 ppm de Ca e 194 de Mg. Yu et al. (2009), em seus trabalhos com o caldo do sorgo sacarino colhido em Pequim, encontraram 50 ppm de fósforo, 93 ppm de Ca e 84 de Mg. Verifica-se que todas as cultivares avaliadas neste artigo apresentaram concentrações de cálcio e de magnésio superiores a cultivar KKU40.

Deve-se ressaltar que a absorção de nutrientes pelas plantas é limitada por diversos fatores. De acordo com estudos realizados por Franco et al. (2008) a cultivar, o clima, o ciclo da cultura, o tipo de solo e a quantidade de fertilizantes aplicados são fatores importantes que influenciam na composição mineral da planta.

A Figura 4.21 mostra que, para todas as cultivares estudadas, a concentração de nitrogênio no caldo diminuiu durante o período avaliado. O teor final de nitrogênio diminuiu

mais acentuadamente para a cultivar BRS 506, que apresentou menor concentração de fósforo e nitrogênio no final do período analisado. Como mencionado anteriormente, esta cultivar também não apresentou as melhores concentrações de açúcar e PUI.

Laopaiboon et al. (2009), em seus trabalhos com o caldo do sorgo sacarino da cultivar KKH 40 cultivado na Tailândia encontrou 18,4 ppm de nitrogênio no caldo do sorgo. Não foram encontrados na literatura consultada, trabalhos visando estudar o comportamento dos teores de nutrientes do caldo do sorgo sacarino presente no colmo da planta, durante o período de maturação.

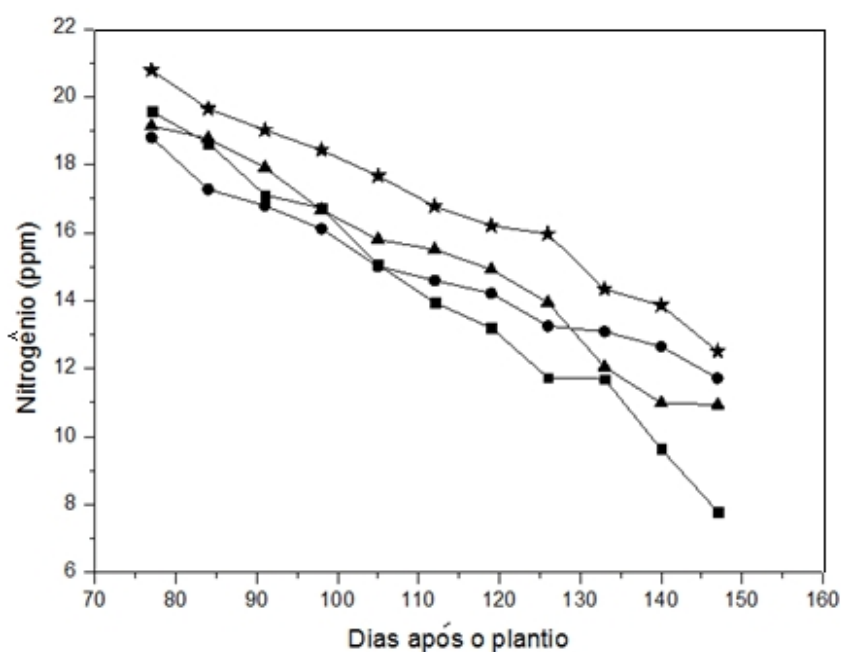


Figura 4.21 - Concentração de nitrogênio no período de maturação do sorgo sacarino para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (★), BRS 509 (●) e BRS511 (▲)na safra agrícola 2013

Na Figura 4.22, pode-se visualizar os teores de amido determinados nas diferentes cultivares de sorgo sacarino durante o período de maturação, em que pode ser observado que não houve grandes diferenças entre os teores de amido apresentados pelas cultivares analisadas neste trabalho. Além disso, observa-se que ambas apresentaram perfis similares no acúmulo de amido no caldo presente no colmo do sorgo sacarino, ao longo do período de maturação.

Na fase reprodutiva, quando os grãos começam a se formar (60 a 80 dias), eles se enchem de açúcar. Esse açúcar é proveniente do colmo e das folhas. A medida em que os grãos vão se enchendo, ficam mais densos devido à conversão dos açúcares (sacarose) em amido. Observando o desenvolvimento dos grãos, observa-se que inicialmente são aquosos, passando a pastosos, farináceos e, por fim, duros. Isso ocorre devido à conversão da sacarose

em amido. Verifica-se que no colmo, para as cultivares estudadas, a concentração de amido é sempre crescente durante todo o período de maturação, mostrando que a planta pode estar utilizando esta forma de composto como reserva de carboidrato (MAGALHÃES e DURÃES, 2007).

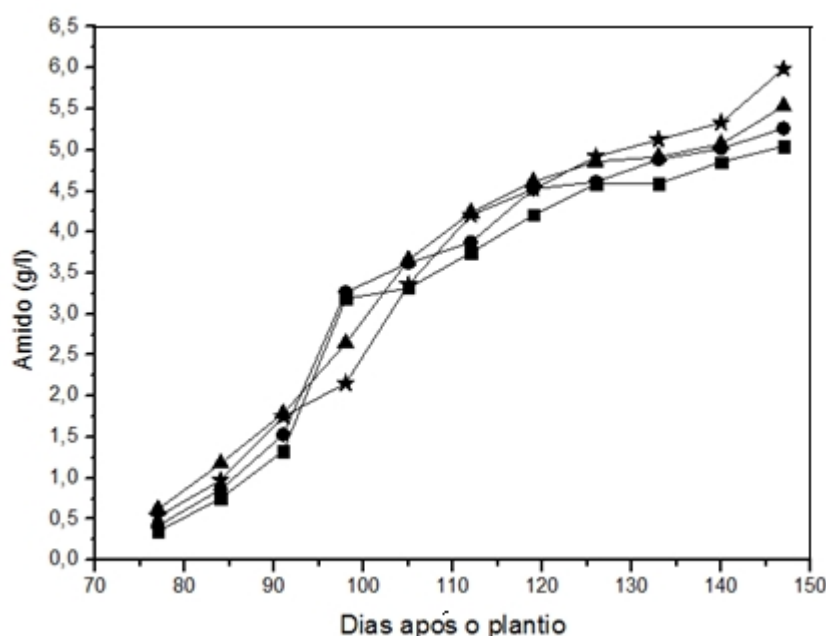


Figura 4.22 - Concentração de amido no período de maturação do sorgo sacarino para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (★), BRS 509 (●) e BRS511 (▲)na safra agrícola 2013

Ao comparar os resultados obtidos no presente trabalho com os resultados apresentados por Andrzejewski et al. (2013) observa-se, que a quantidade de amido no caldo de sorgo sacarino encontrada pelo autor também é superior à quantidade de amido encontrada no caldo de cana.

De acordo com Eggleston et al. (2007), o teor de amido é maior na cana-de-açúcar verde (imatura) do que na cana madura. Os autores observaram que durante a safra houve um decréscimo no teor de amido em todas as amostras e sistemas de clarificação do açúcar, e atribuíram ao aumento da maturidade da cana-de-açúcar. Já com o sorgo sacarino pode-se observar que o teor de amido aumenta significativamente durante o período de maturação e no final da maturação, onde houve pouca variação nestes teores tendendo a uma estabilidade após o amadurecimento dos colmos. Estudos similares de aumento da concentração de amido durante o período de maturação do com o sorgo sacarino não foi encontrado na literatura.

Segundo Anyangwa et al. (1993), o amido é um polissacarídeo natural da cana-de-açúcar e sua concentração depende de diversos fatores como condições de crescimento,

variedade da planta, solo de cultivo, método de colheita. Os estudos apontaram que o índice de maturação é considerado como o mais importante para a determinação dos fatores de qualidade.

Eggleston et al. (2012) estudaram o teor de amido de quatro cultivares de cana-de-açúcar da Austrália e concluíram que a quantidade da concentração de amido é uma característica da cultivar. Os autores observaram que o teor de amido na cana-de-açúcar não sofreu mudança significativa durante os últimos três meses de maturidade.

Diante dos altos valores encontrados para o teor de amido no caldo do sorgo sacarino uma das alternativas para viabilizar esta matéria-prima para produção de etanol seria a hidrólise deste amido presente no caldo.

Estudos realizados por Barcelos (2011), devido a grande quantidade de amido presente no caldo do sorgo sacarino, com a adição de enzimas (amilases) que hidrolisaram o amido, observaram um aumento de até 40% na concentração final de glicose, devido à hidrólise do amido presente no caldo do sorgo sacarino. Este procedimento seria uma das alternativas para minimizar possíveis problemas causados pelo amido presente neste caldo.

4.5 Acompanhamento dos açúcares após congelamento

Na Figura 4.23 pode-se visualizar o comportamento dos valores médios de açúcar total presente no caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar após congelamento a -20°C. As análises foram realizadas quinzenalmente e foi observado, que para a cana-de-açúcar, os valores de açúcar total se mantiveram constantes ao longo do período de 8 meses de análises. Para a cultivar de sorgo sacarino BRS 508 e BRS 509, foi verificado que durante os primeiros 30 dias de congelamento a concentração de açúcar total manteve-se estável para as duas variedades. No período de 30 a 240 dias houve uma queda de 8,3% para a cultivar BRS 508 e de 7,8% para a cultivar BRS 509.

Para o caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 509, com plantas de sorgo sacarino que apresentavam a doença podridão vermelha, foi observado que nas duas primeiras quinzenas a concentração de açúcar manteve-se estável e que no período de 30 a 240 dias houve uma queda de 14,4% na concentração de açúcar total. Esta maior redução nos teores de açúcar caracteriza a interferência de alguma substância produzida pelo fungo *Colletotrichum falcatum* que é o patógeno responsável por causar a doença da podridão vermelha da cana-de-açúcar (KIMATI et al., 2005) que degradam estes açúcares mais rapidamente após congelamento. A maior queda no teor de açúcar do caldo de sorgo em relação ao caldo de

cana pode estar relacionado à contaminação neste caldo, já que nenhum dos caldos foi esterilizado. O perfil do comportamento da concentração de sacarose, glicose e frutose após congelamento, separadamente, para cada caldo está apresentado no Anexo A2.

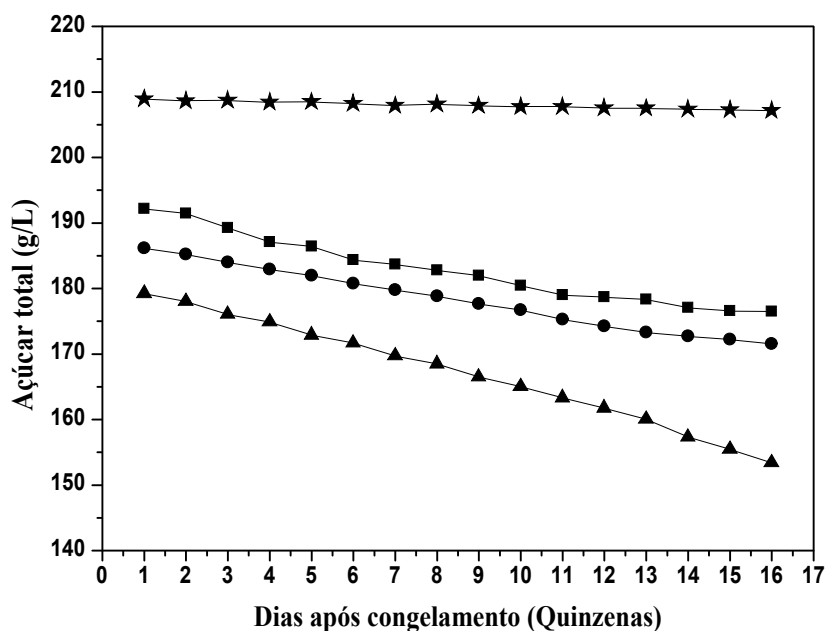


Figura 4.23 - Acompanhamento do açúcar total (sacarose, glicose e frutose) presente no caldo do sorgo sacarino da cultivar BRS 508 (■), BRS 509 (●), BRS 509 com podridão vermelha (▲) e cana-de-açúcar (★) em função do tempo de congelamento

4.6 Caracterização de açúcares em diferentes partes do colmo do sorgo sacarino

A composição de açúcares apresentadas em cada uma das partes do colmo do sorgo sacarino de cada uma das cultivares são apresentadas nas Tabelas 4.8, 4.9, 4.10 e 4.11. De acordo com os resultados, pode-se observar que em todas as cultivares a maior quantidade de açúcares está concentrada na base dos colmos. Em sequência, em ordem crescente de concentração está o meio e o ápice dos colmos. De acordo os resultados apresentados por Qudsiehet al., (2011) a cana-de-açúcar também apresenta maiores concentrações de açúcar em sua base.

Tabela 4.8 - Composição de açúcares nas 3 partes do colmo da cultivar BRS 511

	Base	Meio	Ápice
Sacarose (g/L)	78,15 ± 0,57	56,145 ± 0,77	55,32 ± 0,53
Glicose (g/L)	47,335 ± 1,44	36,06 ± 1,44	36,92 ± 0,91
Frutose (g/L)	21,4 ± 0,07	13,955 ± 0,035	13,71 ± 1,63
Açúcar Total (g/L)	146,885 ± 0,94	106,16 ± 1,51	105,96 ± 0,21

Tabela 4.9 - Composição de açúcares nas 3 partes do colmo da cultivar BRS 508

	Base	Meio	Ápice
Sacarose (g/L)	78,77 ± 0,41	70,86 ± 0,25	57,01 ± 0,28
Glicose (g/L)	48,59 ± 0,61	41,57 ± 0,55	47,71 ± 0,44
Frutose (g/L)	24,29 ± 0,99	17,91 ± 0,43	18,65 ± 0,13
Açúcar Total (g/L)	151,65 ± 0,03	130,34 ± 0,73	123,38 ± 0,59

Tabela 4.10 - Composição de açúcares nas 3 partes do colmo da cultivar BRS 509

	Base	Meio	Ápice
Sacarose (g/L)	68,14 ± 1,17	67,30 ± 1,72	54,97 ± 0,19
Glicose (g/L)	41,19 ± 1,31	38,81 ± 0,85	37,88 ± 0,55
Frutose (g/L)	20,96 ± 1,06	17,35 ± 1,87	17,82 ± 1,63
Açúcar Total (g/L)	130,30 ± 1,42	123,46 ± 2,74	110,67 ± 1,27

Tabela 4.11 - Composição de açúcares nas 3 partes do colmo da cultivar BRS 506

	Base	Meio	Ápice
Sacarose (g/L)	56,04 ± 0,49	53,16 ± 1,13	48,81 ± 0,35
Glicose (g/L)	44,71 ± 1,63	34,67 ± 1,44	31,08 ± 2,10
Frutose (g/L)	15,62 ± 1,33	12,98 ± 0,83	11,77 ± 1,15
Açúcar Total (g/L)	116,37 ± 2,46	100,81 ± 1,14	91,65 ± 3,59

4.7 Fermentações do caldo *in natura* com e sem adição de nutrientes

Os perfis de concentração de açúcar total e formação de etanol das fermentações do caldo de sorgo sacarino das cultivares BRS 506 e BRS 511 realizadas para verificar a influência da adição de nutrientes na produção de etanol podem ser visualizadas nas Figuras 4.23 e 4.24.

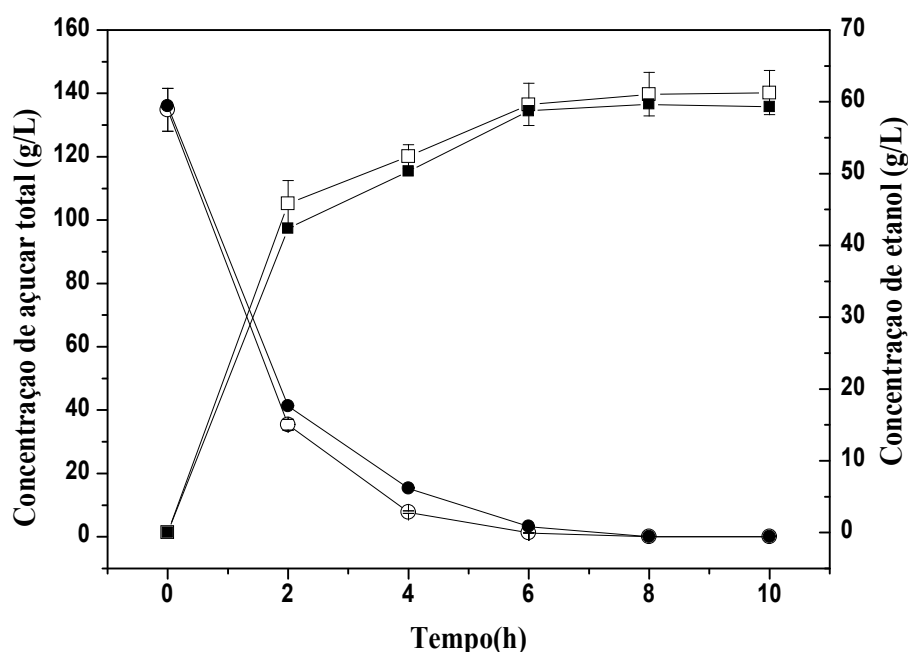


Figura 4.23 – Perfis de concentração de açúcar total na fermentação do caldo do sorgo sacarino da cultivar BRS 506 com adição de nutriente (○) e sem nutriente (●) e concentração de etanol formado com adição de nutrientes (□) e sem nutriente (■) em função do tempo de fermentação

De acordo com os resultados apresentados nas Figuras 4.23 e 4.24, pode-se observar que houve um aumento médio de 1,5% para a variedade BRS 506 e de 2,0% para a BRS 511 na produção de etanol nas fermentações com nutrientes. Este aumento foi considerado pequeno para justificar a adição destes nutrientes durante a fermentação. Os resultados de rendimento de etanol em relação ao consumo de açúcar total e produtividade obtida para 6 e 8 horas de fermentação podem ser observados nas Tabelas 4.12 e 4.13.

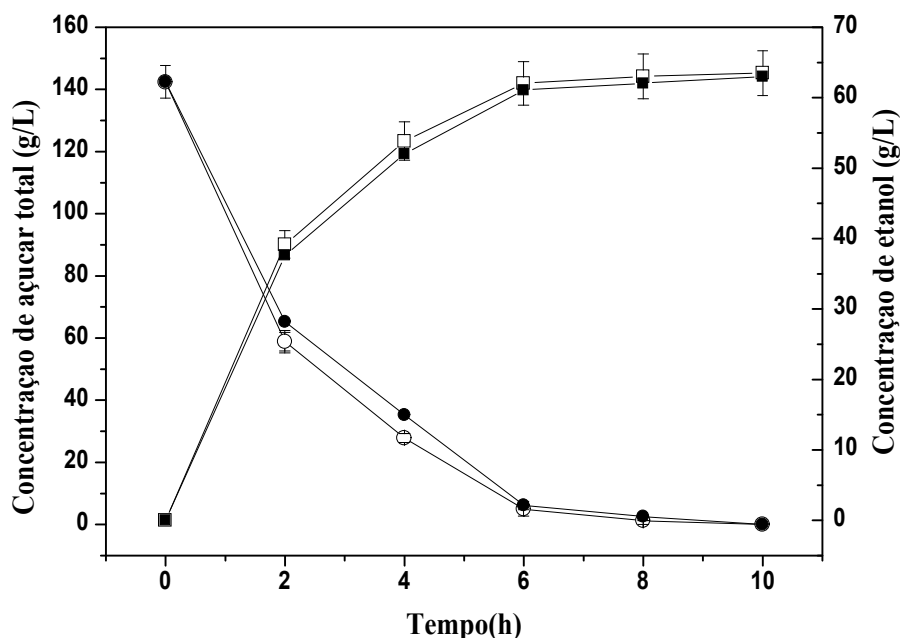


Figura 4.24 – Perfis de concentração de açúcar total para fermentação do caldo do sorgo sacarino da cultivar BR 511 com adição de nutriente (○) e sem nutriente (●) e concentração de etanol formado com adição de nutrientes (□) e sem nutriente (■) em função do tempo de fermentação

Comparando os resultados das Tabelas 4.12 e 4.13, pode-se verificar que as fermentações realizadas com o caldo da variedade BRS 506 apresentaram um rendimento ligeiramente superior às fermentações realizadas com a variedade BRS 511 que pode ser justificado pelas pequenas variações de composição que cada cultivar apresentou.

Tabela 4.12 - Resultados de rendimento e produtividade obtidos na fermentação do caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506 com e sem adição de nutrientes

Tempo de fermentação (h)	Com nutriente		Sem nutriente	
	6	8	6	8
Rendimento ($Y_{P/AT}$)	88,79	87,11	88,31	87,30
Produtividade (g/L.h)	10,15	7,56	10,04	7,51

A viabilidade celular das leveduras ao longo das fermentações foi, em média, $6,8 \times 10^8$ células/mL. Em todas as fermentações os melhores resultados de rendimento e produtividade foram alcançados com 6 horas de fermentação.

Tabela 4.13 - Resultados de rendimento e produtividade obtidos na fermentação do caldo de sorgo sacarino da cultivar BR 511 com e sem adição de nutrientes

Tempo de fermentação (h)	Com nutriente		Sem nutriente	
	6	8	6	8
Rendimento ($Y_{P/AT}$)	87,95	86,62	87,49	86,80
Produtividade (g/L.h)	10,20	7,87	10,17	7,81

Como não foi verificado grandes diferenças no comportamento de produção de etanol e consumo de açúcar para os dois cultivares (BRS 506 e BRS 511) com e sem adição de nutrientes, para as demais fermentações com caldo de sorgo sacarino de todas as cultivares, não foi adicionado nutrientes, sendo que todas as fermentações a partir deste teste foram realizadas com o caldo *in natura*.

4.8 Fermentação do caldo de sorgo *in natura* com e sem agitação

Nestas fermentações, foram avaliadas a necessidade de agitação no processo fermentativo. O perfil de concentração de açúcar total e formação de etanol das fermentações do caldo de sorgo sacarino, da cultivar BRS 506, realizadas nas condições de agitação de 400 rpm, 100 rpm e sem nenhuma agitação para verificar a influência desta variável na produção de etanol, podem ser visualizadas na Figura 4.25. Os valores de rendimento e produtividade obtidos para 6 e 8 horas de fermentações estão apresentados na Tabela 4.14.

Verifica-se na Figura 4.25 que de 2 a 6 horas de fermentação existe uma diferença maior na produção de etanol para a agitação de 400 rpm. Porém, neste período a produção de etanol ainda é crescente. Em 6 horas de fermentação, a produção de etanol para a agitação de 100 e 400 rpm foi semelhante e para a fermentação sem agitação foi 8% menor. Em 8 horas de fermentação, independente da agitação, a produção de etanol foi semelhante. Para 8 horas de fermentação, em relação ao rendimento e a produtividade, os resultados foram muito semelhantes, conforme mostra a Tabela 4.14. Como em 6 horas de fermentação ainda existe açúcar disponível para produção de etanol no sistema, optou-se por não utilizar agitação na fermentação do caldo de sorgo sacarino.

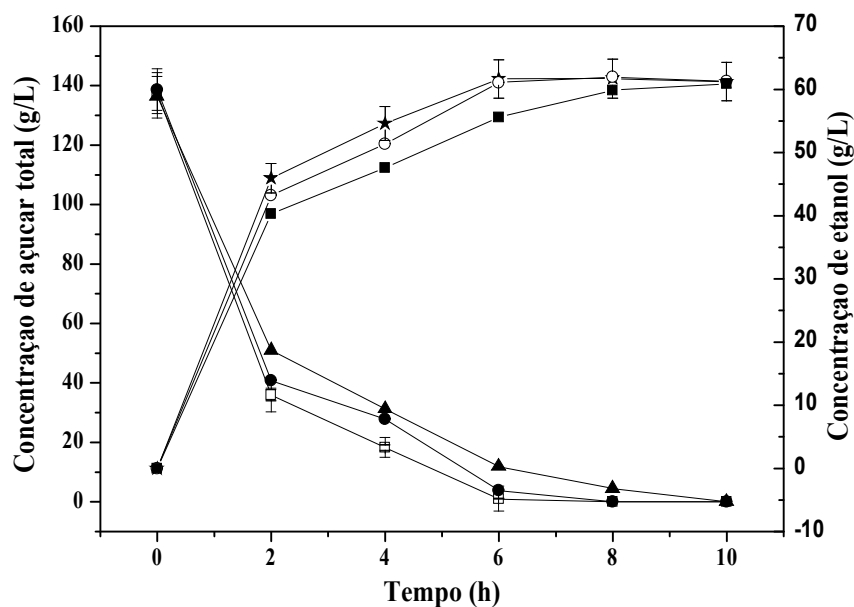


Figura 4.25 - Perfil do consumo de açúcar total com agitação de 400 rpm (□), 100 rpm (●) e sem agitação (▲) e da concentração de etanol produzido com agitação de 400 rpm (★), 100 rpm (○) e sem agitação (■) no caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506 em função do tempo de fermentação

Tabela 4.14 - Rendimento e produtividade obtidos na fermentação do caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506 em diferentes condições de agitação

Agitacao (rpm)	Tempo (h)	Rendimento ($Y_{P/AT}$)	Produtividade (g/L.h)
400	6 horas	88,46	10,27
	8 horas	87,91	7,71
100	6 horas	88,70	10,17
	8 horas	87,49	7,74
Sem agitação	6 horas	87,34	9,26
	8 horas	88,82	7,48

4.9 Fermentações alcoólicas das 4 cultivares de sorgo sacarino

Para efeito de comparação foram feitas fermentações com o caldo do sorgo das 4 cultivares e com caldo de cana-de-açúcar. Estas fermentações foram realizadas sem a adição

de nutrientes e sem agitação. A Tabela 4.15 apresenta os valores médios iniciais e finais de concentração de açúcares totais, concentração de células vivas/mL, concentração de etanol produzida, o rendimento e a produtividade para 8 horas de fermentação sem adição de nutrientes. Para comparação, em todos os experimentos, as concentrações de açúcar total e de células iniciais foram próximas.

Tabela 4.15 - Condições e resultados da fermentação alcoólica em relação a média da concentração inicial e final de AT, a média concentração inicial e final de células vivas/mL, a média concentração de etanol final, rendimento e produtividade

Cultivares	AT _I (g/L)	AT _R (g/L)	CV _I /mL	CV _F /mL	CE _F (g/L)	Y _{P/AT} (%)	P _{etanol} (g/L.h)
BRS 506	157,4	4,9 ± 0,06	1,7x10 ⁸	1,45x10 ⁹	68,6 ± 0,50	88,4 ± 0,28	8,6 ± 0,48
BRS 508	158,2	1,9 ± 0,06	9,7x10 ⁷	1,3x10 ⁹	72,3 ± 0,42	90,5 ± 0,58	9,0 ± 0,40
BRS 509	155,3	2,8 ± 0,21	1,1x10 ⁸	1,3x10 ⁹	67,9 ± 0,25	87,1 ± 0,87	8,5 ± 0,24
BRS 511	156,5	4,6 ± 0,15	9,5x10 ⁷	1,2x10 ⁹	67,8 ± 0,4	87,3 ± 0,70	8,5 ± 0,46
Cana-de-açúcar	157,9	0,5 ± 0,20	1,7x10 ⁸	1,4x10 ⁹	73,2 ± 0,47	91,0 ± 0,71	9,2 ± 0,47

AT_I = Concentração de açúcar total inicial (g/L); AT_R = Concentração de açúcar total residual (g/L); CV_I = Concentração inicial de células vivas (mL); CV_F = Concentração final de células vivas (mL); CE_F = Concentração de etanol final (g/L); Y_{P/AT} = rendimento da produção de etanol em relação ao consumo de açúcar total (%); P_{etanol} = produtividade de etanol.

Nas Figuras 4.26, 4.27 e 4.28 pode ser visualizado o perfil de concentração de açúcar total e formação de etanol das fermentações do caldo de sorgo sacarino das cultivares BRS 506, BRS 509 e BRS 511. Para todas as cultivares observou-se um pequeno crescimento celular, devido à alta concentração inicial de leveduras, sendo que durante a fermentação a quantidade de célula foi da ordem de 10⁸ células viáveis /mL. As Figura 4.26, 4.27 e 4.28 mostram que a variedade BRS 511 apresentou maior concentração de etanol e menor concentração de açúcar em 6 horas de fermentação. Porém, em 8 horas de fermentação os valores de concentração de etanol e de açúcar residual foram semelhantes para as três variedades estudadas.

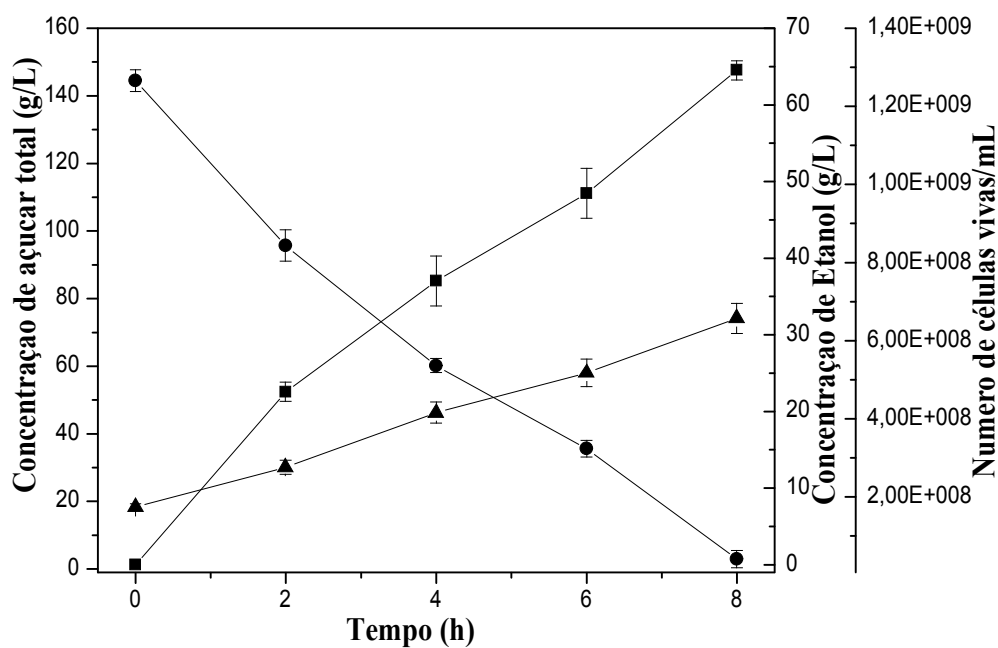


Figura 4.26 - Perfil da concentração de etanol (■), consumo de açúcares total (●) e crescimento celular (▲) no caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506 em função do tempo de fermentação

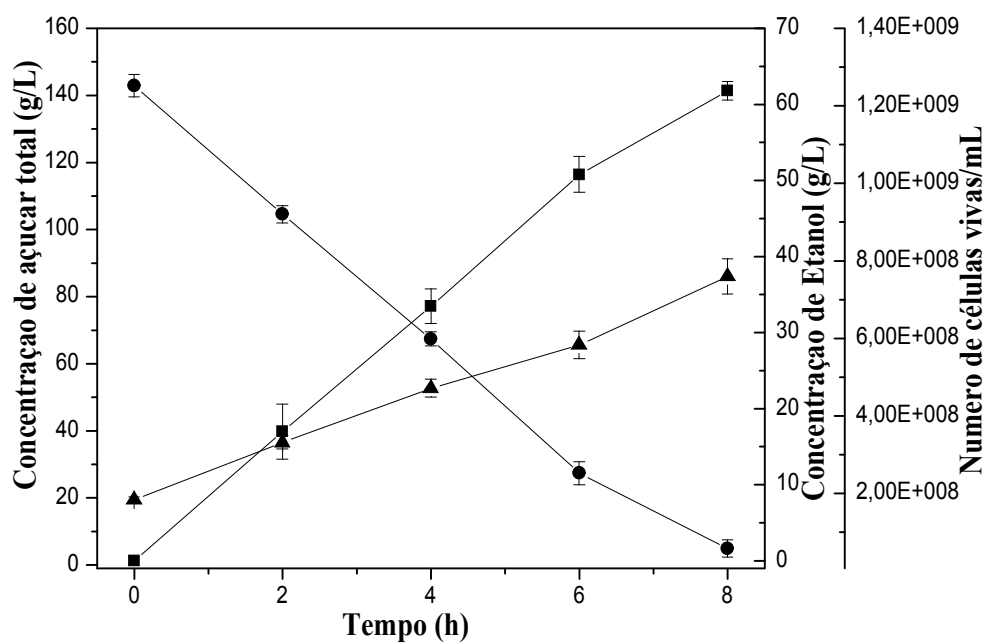


Figura 4.27 - Perfil da concentração de etanol (■), consumo de açúcares total (●) e crescimento celular (▲) no caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 509 em função do tempo de fermentação

Para todas as fermentações houve redução nos valores de pH (em média 4,2), que podem estar relacionadas com a produção de ácidos orgânicos no metabolismo dos açúcares pelas leveduras, conforme relatado por Dutra et al. (2011). O pH é uma variável relevante no processo fermentativo, uma vez que controla a dissolução dos nutrientes, atividade enzimática e impede a proliferação de micro-organismos contaminantes da fermentação alcoólica (LIU e SHEN, 2008).

A Tabela 4.15 mostra que a cultivar com valores de rendimento e de produtividade que mais se aproximou do caldo de cana foi a BR 508. Segundo Viegas (2003), uma unidade de fermentação contínua convencional, geralmente opera com rendimento de 87% e produtividade de 7,9 g etanol/L.h., quando o caldo de cana-de-açúcar é utilizado como matéria-prima. Assim, em relação aos resultados obtidos, para todas as cultivares estudadas, pode-se verificar que a produtividade e o rendimento foram próximos aos obtidos em usinas. Porém, o rendimento do produto em relação ao substrato foi menor ($Y_{P/S} = 0,46$ para BRS 508 e 0,46 para o caldo de cana) se comparado a rendimentos teóricos que é em torno de 0,511 (ANDRIETTA, STECKELBERG e ANDRIETTA, 2008; LEE et al. 1995).

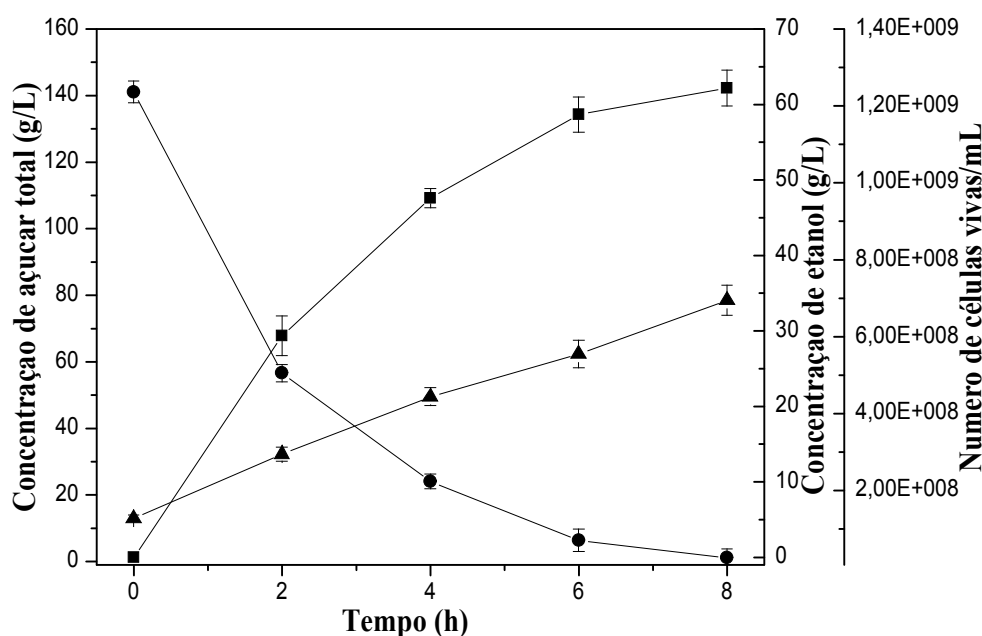


Figura 4.28-Perfil da concentração de etanol (■), consumo de açúcares total (●) e crescimento celular (▲) no caldo de sorgo sacarino da cultivar BR 511 em função do tempo.

A Figura 4.29 apresenta os perfis de concentração de açúcar total, produção de etanol e de crescimento celular em função do tempo, para a fermentação do caldo de sorgo da

variedade BR508 e do caldo de cana. Esta análise tem como objetivo mostrar uma comparação entre a fermentação utilizando o caldo de cana e o caldo de sorgo empregando as mesmas condições de processo. Verifica-se, portanto, que o comportamento da fermentação do caldo de sorgo e do caldo de cana foram semelhantes em relação às respostas consumo de açúcar total, produção de etanol e crescimento celular.

Na Figura 4.29 pode-se observar o perfil de concentração de açúcar total e formação de etanol das fermentações do caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 508 e do caldo de cana-de-açúcar. Adotou-se este procedimento visando facilitar a comparação entre as cultivares e o caldo de cana-de-açúcar.

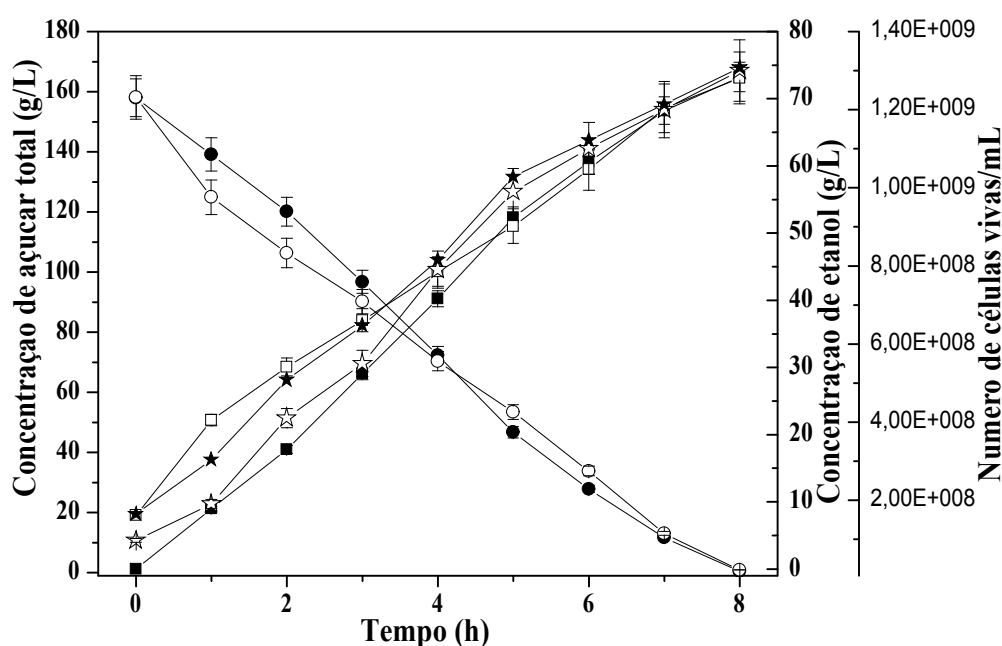


Figura 4.29 - Evolução da concentração de etanol do caldo de sorgo sacarino BRS 508 (□) e do caldo de cana-de-açúcar(■), consumo de açúcar total do caldo de sorgo sacarino BRS 508 (○) e do caldo de cana-de-açúcar (●), crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 508 (☆) e no caldo de cana-de-açúcar (★) em função do tempo de fermentação

Estes resultados indicam que é possível fermentar caldo de sorgo sacarino em processos já instalados para a fermentação de caldo de cana, o que representa uma grande vantagem em relação à aplicação do caldo de sorgo na entre safra do plantio da cana-de-açúcar, evitando assim que as usinas fiquem paradas por um período do ano. Além disso, a produção de etanol pode ser aumentada com a hidrólise do amido presente no caldo de sorgo, proporcionando um aumento no rendimento e na produtividade do mesmo.

A concentração de etanol após 8 horas de fermentação para todas as variedades analisadas neste trabalho foi superior ao resultado observado por Dutra, et al. (2011) e Gomez et al. (2011) na fermentação do caldo de sorgo sacarino da variedade BRS 506, com valor médio de etanol de 59,07 g/L. Resultados similares de produtividade de etanol (de 82 a 90 g/L) foram encontrados por Ratnavathi, et al. (2010), Yu e Tan, (2009) e por Rank, et al. (1995) em fermentação de diferentes variedades de sorgo sacarino.

4.10 Fermentação do caldo concentrado

O caldo de sorgo sacarino da variedade BRS 509 e da cana-de-açúcar foram fermentados em diferentes concentrações de açúcar total inicial, e os resultados de rendimento, produtividade e açúcar residual, em cada fermentação, estão apresentados na Tabela 4.16.

Tabela 4.16 - Concentrações de açúcar total inicial e final, rendimento e produtividade para fermentações realizadas com os caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 509 e caldo de cana em diferentes concentrações de açúcares iniciais em diferentes tempos de fermentação

	8 horas				10 horas			12 horas		
	AT _I (g/L)	AT _R (g/L)	Y _{P/AT} (%)	P _{etanol} (g/L.h)	AT _R (g/L)	Y _{P/AT} (%)	P _{etanol} (g/L.h)	AT _R (g/L)	Y _{P/AT} (%)	P _{etanol} (g/L.h)
Sorgo	158,44	13,87	88,21	7,87	5,45	82,21	6,43	0	80,73	5,29
Cana	159,33	12,55	84,16	7,63	0	79,85	6,26	0	72,81	4,94
Sorgo	180,23	34,25	83,72	7,81	22,82	80,01	6,44	14,04	77,02	5,45
Cana	182,97	37,89	82,27	7,53	19,97	76,81	6,40	12,56	74,51	5,41
Sorgo	220,21	67,57	82,00	8,00	50,21	77,45	6,72	43,46	75,31	5,67
Cana	218,67	66,35	80,00	7,82	53,93	75,03	6,35	38,85	70,01	6,18
Sorgo	256,58	96,83	79,23	8,08	68,22	78,83	7,24	59,03	76,10	6,33
Cana	258,32	100,59	78,61	7,92	75,57	77,70	7,26	53,29	71,25	6,22
Sorgo	299,67	172,6	76,00	6,17	154,9	71,34	5,30	140,92	70,23	4,75
Cana	299,80	160,35	68,15	6,07	145,76	65,08	5,12	138,56	65,11	4,47

AT_I = Concentração de açúcar total inicial (g/L); AT_R = Concentração de açúcar total residual (g/L); Y_{P/AT} = rendimento da produção de etanol em relação ao consumo de açúcar total (%); P_{etanol} = produtividade de etanol.

O perfil da concentração de etanol, consumo de açúcar total e crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 509 e da cana-de-açúcar em função do tempo de fermentação podem ser visualizados nas Figuras 4.30 a 4.34. Na Tabela 4.16 podemos visualizar que a concentração de açúcar residual foi crescente com o aumento da concentração de açúcar total no início da fermentação. Os resultados apresentados nesta tabela mostram também que o rendimento e a produtividade em 8 h de fermentação para o caldo de sorgo foi de 0,8 a 4,8 % superior e de 2 a 3,7 % superior, respectivamente para o caldo de sorgo.

Os resultados de concentração de etanol para 8 horas de fermentação, utilizando substrato com concentração de açúcar total de 160, 180, 220 e 260 g/L para o caldo de sorgo sacarino foi de 62,94; 62,45; 63,96 e 64,68 g/L e para o caldo de cana-de-açúcar foi de 61,07; 60,25; 63,58 e 63,3 g/L, respectivamente. Estes resultados mostram que, o caldo de sorgo sacarino produziu um pouco mais de etanol do que o de cana e como mostra as Figuras 4.30a 4.33, um comportamento semelhante entre os caldos analisados em diferentes concentrações de açúcar.

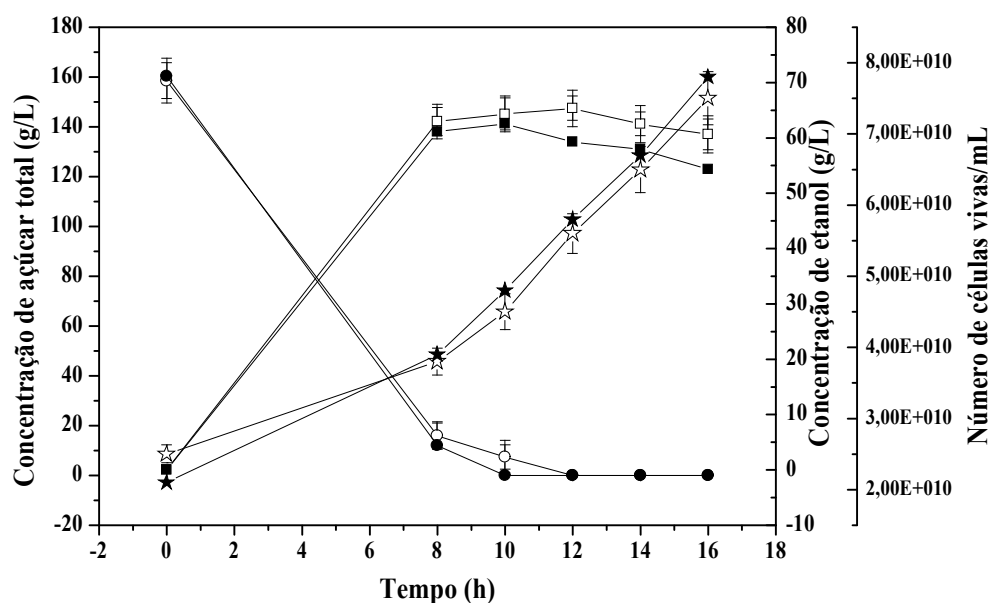


Figura 4.30 - Evolução da concentração de etanol do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (□) e do caldo de cana-de-açúcar (■), consumo de açúcar total do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (○) e do caldo de cana-de-açúcar (●), crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 509 (☆) e no caldo de cana-de-açúcar (★) em função do tempo de fermentação com concentrações iniciais de açúcar total de 160 g/L

Para a concentração inicial de 300 g/L de açúcar total observou-se uma redução média de 22% na produção de etanol em relação a concentração de 160 g/L para o sorgo e o caldo de cana. Porém, nesta concentração de açúcar, a produção de etanol foi semelhante para o sorgo e o caldo de cana, assim como o açúcar residual. Este resultados mostram que com o aumento da concentração de açúcar não houve aumento na produção de etanol para as concentrações de 160, 180, 220 e 260 g/L e uma redução para a concentração de 300 g/L. Este comportamento mostra que houve inibição pelo substrato na produção de etanol quando utilizou-se caldo com maior concentração inicial de açúcar. Este fato é citado na literatura por Cerqueira (2013), em seus trabalhos com caldo de cana concentrado.

O fato da produção de etanol ter sido ligeiramente superior para o caldo de sorgo sacarino, levou ao estudo da quantificação de alguns ácidos orgânicos presentes no sorgo em fermentações com caldo de sorgo concentrado. Vale ressaltar que na concentração de açúcar inicial de 300 g/L, o caldo apresenta um aspecto muito viscoso e de difícil manipulação.

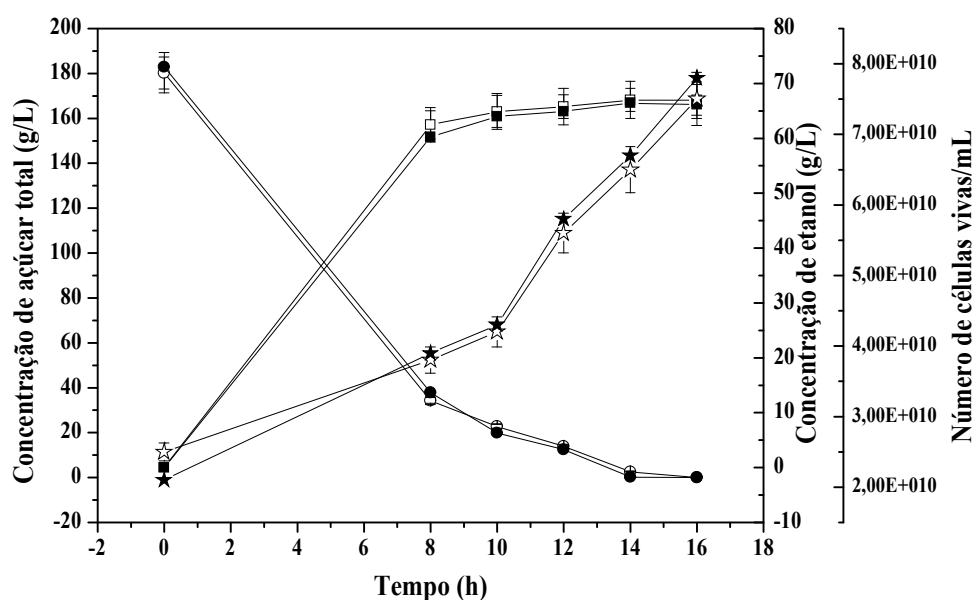


Figura 4.31 - Evolução da concentração de etanol do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (□) e do caldo de cana-de-açúcar (■), consumo de açúcar total do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (○) e do caldo de cana-de-açúcar (●), crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 509 (☆) e no caldo de cana-de-açúcar (★) em função do tempo de fermentação com concentrações iniciais de açúcar total de 180 g/L

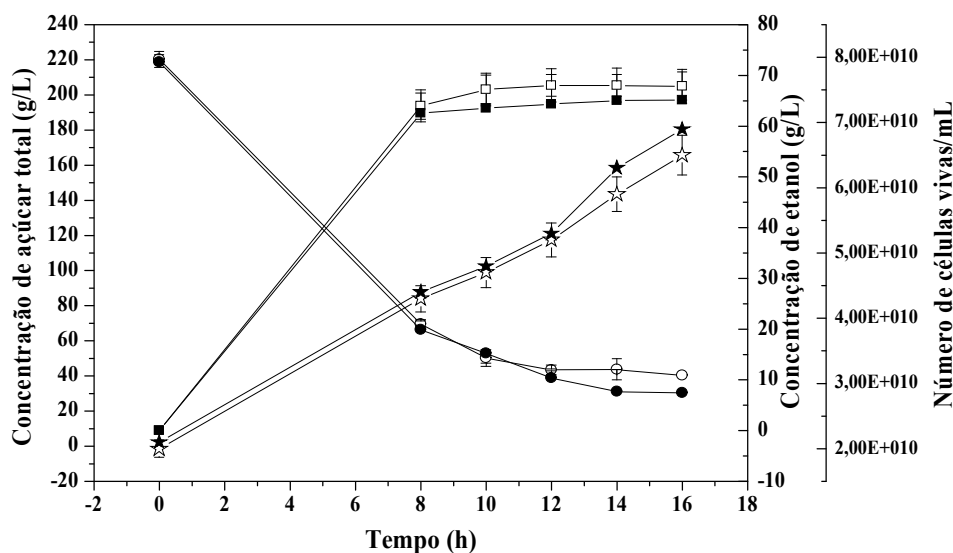


Figura 4.32 - Evolução da concentração de etanol do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (□) e do caldo de cana-de-açúcar (■), consumo de açúcar total do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (○) e do caldo de cana-de-açúcar (●), crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 509 (☆) e no caldo de cana-de-açúcar (★) em função do tempo de fermentação com concentrações iniciais de AT de 220g/L.

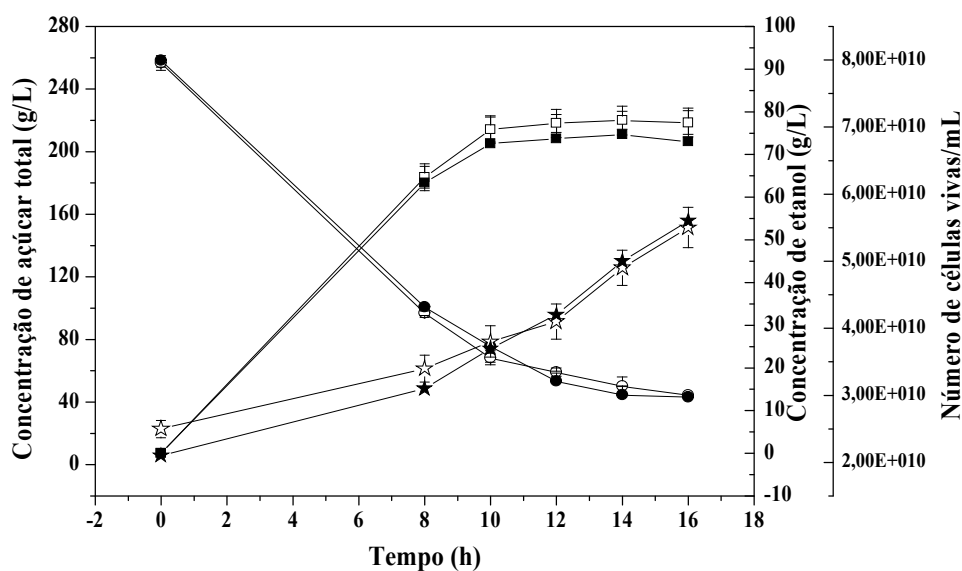


Figura 4.33 - Evolução da concentração de etanol do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (□) e do caldo de cana-de-açúcar (■), consumo de açúcar total do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (○) e do caldo de cana-de-açúcar (●), crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 509 (☆) e no caldo de cana-de-açúcar (★) em função do tempo de fermentação com concentrações iniciais de açúcar total de 260 g/L.

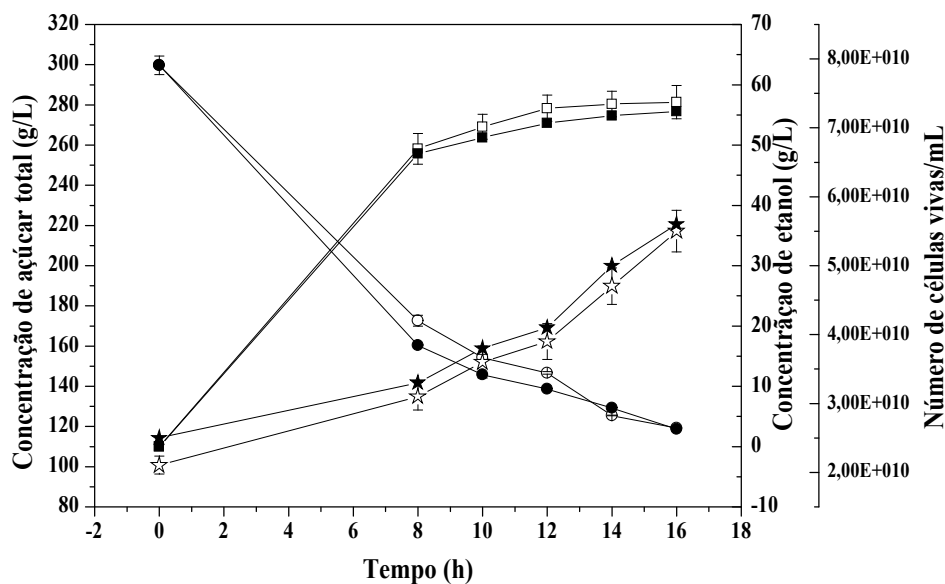


Figura 4.34 - Evolução da concentração de etanol do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (□) e do caldo de cana-de-açúcar (■), consumo de açúcar total do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (○) e do caldo de cana-de-açúcar (●), crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 509 (☆) e no caldo de cana-de-açúcar (★) em função do tempo de fermentação com concentrações iniciais de açúcar total de 300 g/L

Verifica-se que acima de 10 horas de fermentação, o aumento na produção de etanol foi muito pequeno, apesar do aumento no consumo de açúcares. Este fato mostra que os açúcares consumidos estão sendo utilizado para manutenção da cultura, já que o crescimento celular também é muito pequeno e em alguns casos inexistente. A redução no rendimento com o aumento do tempo de fermentação também confirma esta hipótese.

4.11 Quantificações dos ácidos no caldo concentrado

As concentrações de ácidos aconítico, succínico, acético e propiônico foram monitoradas durante o período de fermentação do caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 509 e do caldo de cana nas concentrações de $149 \pm 2,7$ g/L e $158 \pm 2,1$ g/L e podem ser visualizadas nas Tabelas 4.17 a 4.24. Os compostos furfural e hidroximetilfurfural também

foram monitorados, porém nenhuma quantidade deste composto foi encontrado durante as fermentações.

Comparando os resultados apresentados nas Tabelas 4.17 a 4.24 referentes aos ácidos do caldo de cana sem concentrar comparativamente com o caldo de cana concentrado, após a fermentação, pode-se sugerir que a concentração deste caldo provocou um aumento na concentração dos ácidos, em média, de 60% para o ácido aconítico e ácido acético, 100% para o ácido propiônico e o succínico. Durante as fermentações realizadas no caldo de cana-de-açúcar, tanto para a concentração de açúcar total inicial de $149 \pm 2,7$ g/L como para a concentração de $258 \pm 2,1$ g/L, observou-se um aumento em torno de 300% do ácido succínico com e sem a adição do Kamoran (Tabelas 4.17, 4.18, 4.19, 4.20).

Tabela 4.17 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de cana-de-açúcar na concentração de $149 \pm 2,7$ g/L de açúcar total inicial ao longo do tempo de fermentação

ÁCIDOS				
Tempo (h)	Aconítico (g/L)	Succínico (g/L)	Acético (g/L)	Propiônico (g/L)
0	$0,83 \pm 0,014$	$0,014 \pm 0,000$	$0,039 \pm 0,001$	$1,01 \pm 0,040$
2	$0,84 \pm 0,014$	$0,019 \pm 0,000$	$0,17 \pm 0,014$	$1,09 \pm 0,070$
4	$0,83 \pm 0,000$	$0,026 \pm 0,001$	$0,32 \pm 0,021$	$1,11 \pm 0,014$
6	$0,83 \pm 0,007$	$0,035 \pm 0,001$	$0,49 \pm 0,028$	$1,13 \pm 0,007$
8	$0,85 \pm 0,014$	$0,040 \pm 0,001$	$0,91 \pm 0,04$	$1,17 \pm 0,007$
10	$0,85 \pm 0,014$	$0,049 \pm 0,001$	$1,25 \pm 0,07$	$1,19 \pm 0,021$

Tabela 4.18 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de cana-de-açúcar concentrado com $258 \pm 2,1$ g/L de açúcar total inicial ao longo do tempo de fermentação

ÁCIDOS				
Tempo (h)	Aconítico (g/L)	Succínico (g/L)	Acético (g/L)	Propiônico (g/L)
0	$1,42 \pm 0,01$	$0,028 \pm 0,001$	$0,075 \pm 0,001$	$2,05 \pm 0,025$
2	$1,44 \pm 0,015$	$0,036 \pm 0,0015$	$0,39 \pm 0,015$	$2,12 \pm 0,005$
4	$1,44 \pm 0,015$	$0,045 \pm 0,005$	$0,85 \pm 0,030$	$2,16 \pm 0,005$
6	$1,44 \pm 0,010$	$0,068 \pm 0,002$	$0,96 \pm 0,045$	$2,20 \pm 0,025$
8	$1,45 \pm 0,005$	$0,088 \pm 0,001$	$1,56 \pm 0,025$	$2,26 \pm 0,015$
10	$1,45 \pm 0,000$	$0,12 \pm 0,011$	$2,12 \pm 0,011$	$2,28 \pm 0,015$

Foi observado um aumento na concentração de ácido acético de 31 vezes (1,25 g/L) para o caldo sem concentrar e de 27 vezes (2,12 g/L) para o caldo concentrado durante as fermentações sem Kamoran (Tabelas 4.17 e 4.18). Quando utilizou-se Kamoran, este aumento foi de 1,10 vezes (0,04 g/L) e 1,47 vezes (0,052 g/L) para o caldo sem concentrar e concentrado, na presença de Kamoran (Tabelas 4.19 e 4.20). Estes resultados demonstram que o antibiótico usado foi efetivo no combate das bactérias produtoras de ácido acético, mas este efeito não repercutiu substancialmente nas fermentações para o ácido succínico.

Tabela 4.19 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de cana-de-açúcar na concentração de $149 \pm 2,7$ g/L de açúcar total inicial com adição de Kamoran ao longo do tempo de fermentação

ÁCIDOS				
Tempo (h)	Aconítico (g/L)	Succínico (g/L)	Acético (g/L)	Propiônico (g/L)
0	$0,92 \pm 0,010$	$0,010 \pm 0,010$	$0,019 \pm 0,000$	$1,12 \pm 0,005$
2	$0,95 \pm 0,025$	$0,018 \pm 0,096$	$0,024 \pm 0,002$	$1,15 \pm 0,005$
4	$0,96 \pm 0,025$	$0,026 \pm 0,0015$	$0,028 \pm 0,0015$	$1,17 \pm 0,005$
6	$0,96 \pm 0,02$	$0,035 \pm 0,0005$	$0,031 \pm 0,0005$	$1,20 \pm 0,000$
8	$0,97 \pm 0,025$	$0,041 \pm 0,000$	$0,035 \pm 0,0005$	$1,21 \pm 0,005$
10	$0,97 \pm 0,021$	$0,050 \pm 0,001$	$0,040 \pm 0,0005$	$1,23 \pm 0,005$

Tabela 4.20 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de cana-de-açúcar concentrado com $258 \pm 2,1$ g/L de açúcar total inicial com adição de Kamoran ao longo do tempo de fermentação

ÁCIDOS				
Tempo (h)	Aconítico (g/L)	Succínico (g/L)	Acético (g/L)	Propiônico (g/L)
0	$1,39 \pm 0,01$	$0,029 \pm 0,000$	$0,021 \pm 0$	$2,12 \pm 0,015$
2	$1,38 \pm 0,005$	$0,033 \pm 0,0005$	$0,031 \pm 0,001$	$2,15 \pm 0,005$
4	$1,38 \pm 0,005$	$0,042 \pm 0,0005$	$0,042 \pm 0,0005$	$2,17 \pm 0,000$
6	$1,40 \pm 0,000$	$0,060 \pm 0,000$	$0,047 \pm 0,002$	$2,17 \pm 0,015$
8	$1,40 \pm 0,010$	$0,082 \pm 0,0015$	$0,049 \pm 0,0025$	$2,21 \pm 0,005$
10	$1,40 \pm 0,005$	$0,099 \pm 0,0055$	$0,052 \pm 0,0015$	$2,24 \pm 0,005$

Avaliando os ácidos durante o processo de fermentação nos testes com os caldos de cana de $149 \pm 2,7$ g/L e $258 \pm 2,1$ g/L, pode-se dizer que para o ácido aconítico, não houve alteração em sua quantidade com e sem adição do Kamoran. Como mencionado, a quantidade de ácido aconítico aumentou apenas quando a concentração do caldo passou de $149 \pm 2,7$

g/L para $258 \pm 2,1$ g/L. O mesmo comportamento pode ser observado para o ácido propiônico. Para os demais ácidos analisados, não houve diferença na utilização do Kamoran durante as fermentações. Na Tabela 4.25, tem-se os resultados obtidos em termos de rendimento de etanol formado em relação ao consumo de açúcar total e produtividade para as fermentações referentes as Tabelas 4.17 a 4.24.

Tabela 4.21 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de sorgo sacarino BRS 509 na concentração de $150 \pm 2,3$ g/L de açúcar total inicial ao longo do tempo de fermentação

ÁCIDOS				
Tempo (h)	Aconítico (g/L)	Succínico (g/L)	Acético (g/L)	Propiônico (g/L)
0	$2,58 \pm 0,015$	$0,010 \pm 0,0005$	$0,012 \pm 0,000$	$0,025 \pm 0,001$
2	$2,60 \pm 0,015$	$0,014 \pm 0,001$	$0,089 \pm 0,003$	$0,030 \pm 0,0015$
4	$2,61 \pm 0,005$	$0,018 \pm 0,000$	$0,12 \pm 0,015$	$0,032 \pm 0,001$
6	$2,61 \pm 0,010$	$0,022 \pm 0,0005$	$0,26 \pm 0,015$	$0,040 \pm 0,0005$
8	$2,62 \pm 0,005$	$0,030 \pm 0,0005$	$0,35 \pm 0,025$	$0,041 \pm 0,002$
10	$2,62 \pm 0,010$	$0,039 \pm 0,001$	$0,66 \pm 0,025$	$0,042 \pm 0,0035$

Tabela 4.22 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de sorgo sacarino BRS 509 concentrado com $257 \pm 2,5$ g/L de açúcar total inicial ao longo do tempo de fermentação

ÁCIDOS				
Tempo (h)	Aconítico (g/L)	Succínico (g/L)	Acético (g/L)	Propiônico (g/L)
0	$4,05 \pm 0,050$	$0,0175 \pm 0,005$	$0,026 \pm 0,001$	$0,05 \pm 0,010$
2	$4,13 \pm 0,010$	$0,025 \pm 0,001$	$0,089 \pm 0,071$	$0,054 \pm 0,002$
4	$4,125 \pm 0,005$	$0,0335 \pm 0,0005$	$0,87 \pm 0,020$	$0,059 \pm 0,0005$
6	$4,18 \pm 0,020$	$0,0435 \pm 0,0015$	$1,075 \pm 0,025$	$0,0615 \pm 0,0005$
8	$4,18 \pm 0,020$	$0,0555 \pm 0,0005$	$1,23 \pm 0,020$	$0,0625 \pm 0,0015$
10	$4,18 \pm 0,020$	$0,069 \pm 0,001$	$1,595 \pm 0,035$	$0,0685 \pm 0,0005$

Analisando a interferência dos ácidos no rendimento e produtividade das fermentações para o caldo de cana, pode-se dizer que para as fermentações com o caldo de cana-de-açúcar na concentração de $149 \pm 2,7$ g/L de açúcar total inicial adicionando o Kamoran nas fermentações, houve um aumento médio de 2% no rendimento e 4% na produtividade. Já para as fermentações com o caldo de cana concentrado, a adição de Kamoran nas fermentações

ocasionou um aumento de 2,2% no rendimento e de 4,4% na produtividade. Este fato mostra que para o caldo de cana, a concentração de açúcar na faixa estudada proporcionou um pequeno aumento nestas variáveis e a adição de Kamoran não ocasionou variação significativa nas mesmas.

Ao compararmos as fermentações do caldo de cana-de-açúcar com $149 \pm 2,7$ g/L e $258 \pm 2,1$ g/L sem adição do Kamoran, pode-se afirmar que a fermentação com o caldo de cana-de-açúcar mais concentrado em açúcar total, apresentou um rendimento de 6,41% menor que a fermentação com $149 \pm 2,7$ g/L. Quando o Kamoran foi adicionado nas fermentações, esta diferença no rendimento das duas concentrações de açúcares analisadas diminuiu para 5,17%.

Tabela 4.23 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de sorgo sacarino BRS 509 na concentração de $150 \pm 2,3$ g/L de açúcar total inicial com adição de Kamoran ao longo do tempo de fermentação

ÁCIDOS				
Tempo (h)	Aconítico (g/L)	Succínico (g/L)	Acético (g/L)	Propiônico (g/L)
0	$2,59 \pm 0,010$	$0,0105 \pm 0,0005$	$0,009 \pm 0,001$	$0,0205 \pm 0,0005$
2	$2,595 \pm 0,015$	$0,012 \pm 0,000$	$0,0115 \pm 0,0005$	$0,027 \pm 0,002$
4	$2,61 \pm 0,000$	$0,015 \pm 0,001$	$0,0145 \pm 0,0005$	$0,034 \pm 0,001$
6	$2,615 \pm 0,005$	$0,019 \pm 0,001$	$0,02 \pm 0,001$	$0,04 \pm 0,001$
8	$2,62 \pm 0,000$	$0,0255 \pm 0,0005$	$0,0225 \pm 0,0005$	$0,0425 \pm 0,0025$
10	$2,62 \pm 0,000$	$0,033 \pm 0,003$	$0,0255 \pm 0,0005$	$0,0445 \pm 0,0035$

Tabela 4.24 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de sorgo sacarino BRS 509 concentrado com $257 \pm 2,5$ g/L de açúcar total inicial com adição de Kamoran ao longo do tempo de fermentação

ÁCIDOS				
Tempo (h)	Aconítico (g/L)	Succínico (g/L)	Acético (g/L)	Propiônico (g/L)
0	$4,035 \pm 0,085$	$0,0165 \pm 0,000$	$0,015 \pm 0,001$	$0,046 \pm 0,001$
2	$4,05 \pm 0,095$	$0,0225 \pm 0,0005$	$0,0185 \pm 0,0005$	$0,0495 \pm 0,0005$
4	$4,05 \pm 0,070$	$0,029 \pm 0,001$	$0,0195 \pm 0,0015$	$0,0565 \pm 0,0015$
6	$4,05 \pm 0,070$	$0,0405 \pm 0,0005$	$0,0235 \pm 0,0025$	$0,0605 \pm 0,0015$
8	$4,05 \pm 0,080$	$0,051 \pm 0,001$	$0,027 \pm 0,002$	$0,063 \pm 0,002$
10	$4,06 \pm 0,080$	$0,0655 \pm 0,0005$	$0,032 \pm 0,003$	$0,064 \pm 0,001$

Tabela 4.25 - Rendimento e produtividade obtidos nas fermentações do caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 509 e do caldo de cana-de-açúcar nas concentrações de $149 \pm 2,7$ g/L e $258 \pm 2,1$ g/L para avaliação dos ácidos para 8 horas de fermentação

Fermentações	Rendimento ($Y_{P/AT}$)	Produtividade(g/L.h)
Caldo de sorgo ($150 \pm 2,3$ g/L) - sem Kamoran	88,5	7,91
Caldo de sorgo ($150 \pm 2,3$ g/L) - com Kamoran	90,2	8,42
Caldo de sorgo ($257 \pm 2,5$ g/L) - sem Kamoran	79,9	8,23
Caldo de sorgo ($257 \pm 2,5$ g/L) - com Kamoran	83,1	8,89
Caldo de cana ($149 \pm 2,7$ g/L) - sem Kamoran	84,5	7,69
Caldo de cana ($149 \pm 2,7$ g/L) - com Kamoran	86,1	7,98
Caldo de cana ($258 \pm 2,1$ g/L) - sem Kamoran	79,1	7,92
Caldo de cana ($258 \pm 2,1$ g/L) - com Kamoran	81,6	8,62

Analizando os ácidos dos caldos de sorgo sacarino na concentração de açúcar total inicial de $150 \pm 2,3$ g/L comparativamente com o caldo de sorgo sacarino na concentração de $257 \pm 2,5$ g/L, após sua fermentação, pode-se dizer que a concentração deste caldo provocou um aumento médio na concentração dos seguintes ácidos: 55% para o ácido aconítico, 85% para o ácido acético, 100% para o ácido propiônico e 70% para o ácido succínico. Em comparação com o caldo de cana verifica-se que a concentração do caldo de sorgo proporcionou um maior aumento na concentração de ácido acético e ácido succínico, embora este último em menor proporção. Porém, vale ressaltar que as concentrações iniciais destes ácidos são pequenas. A quantidade de ácido aconítico presente no sorgo indica que este composto é o principal ácido orgânico presente no caldo de sorgo como mencionado pelos autores Cunha e Savero Filho, (2010).

Avaliando os ácidos durante o processo de fermentação do caldo de sorgo sacarino, testes com concentração inicial de açúcar total de $150 \pm 2,3$ g/L e $257 \pm 2,5$ g/L (Tabelas 4.21 e 4.22) e também para os testes com e sem adição do Kamoran (Tabelas 4.23 e 4.24), pode-se observar que para o ácido aconítico, não houve alteração em sua quantidade com e sem adição do Kamoran. Este comportamento também foi verificado para o caldo de cana, isto mostra que o ácido aconítico estava presente no caldo e não foi decorrente da produção da fermentação alcoólica. Como já mencionado, houve aumento nas concentrações deste ácido quando a concentração do caldo passou de $150 \pm 2,3$ g/L para $257 \pm 2,5$ g/L. O mesmo

comportamento pode ser observado para o ácido propiônico. Para o ácido succínico, durante sua fermentação, houve um aumento médio de 300% tanto para o caldo concentrado como para o caldo sem concentrar. O mesmo comportamento ocorreu para o caldo com e sem adição de Kamoran.

Para o caldo de sorgo a concentração de ácido acético aumentou durante a fermentação alcoólica em 54 vezes (0,66 g/L), para o caldo sem concentrar foi de 60 vezes (1,595 g/L) na ausência de Kamoran. Na presença de Kamoran este aumento foi de 1,8 vezes (0,025 g/L), para o caldo sem concentrar e de 1,13 vezes (0,032 g/L) para o caldo concentrado, o que demonstra também a efetividade do uso do antibiótico no controle das bactérias produtoras de ácido acético. Para o ácido succínico, tanto para a concentração de açúcar total inicial de $150 \pm 2,3$ g/L como para a concentração de $257 \pm 2,5$ g/L, com e sem Kamoran, houve um aumento médio de 300% em sua concentração. Comparando a quantidade de ácido acético durante a fermentação alcoólica sem Kamoran, para o caldo de cana e de sorgo, nota-se que a quantidade deste ácido foi maior para a cana-de-açúcar, apesar do menor percentual de aumento do mesmo durante a fermentação para a cana, mostrando que a quantidade de ácido acético inicial na cana é maior do que no sorgo.

Já para o caldo de sorgo sacarino, analisando a interferência dos ácidos no cálculo do rendimento e produtividade das fermentações, pode-se dizer que para as fermentações com o caldo na concentração de açúcar total inicial de $150 \pm 2,3$ g/L, quando o Kamoran foi adicionando nas fermentações, houve um aumento médio de 1,92% no rendimento e de 6,44% na produtividade (Tabelas 4.25). Já para os fermentações com o caldo de sorgo sacarino na concentração de açúcar total inicial de $257 \pm 2,5$ g/L, a adição de Kamoran nas fermentações ocasionou um aumento de 4,0% no rendimento e de 8,01% na produtividade (Tabelas 4.22 e 4.24). Ao compararmos as fermentações do caldo de sorgo sacarino com $150 \pm 2,3$ g/L e $257 \pm 2,5$ g/L sem adição do Kamoran, pode-se verificar que a fermentação com o caldo de sorgo mais concentrado em açúcar total apresentou um rendimento de 9,71% menor que a fermentação com $150 \pm 2,3$ g/L. Quando o Kamoran foi adicionado nas fermentações, esta diferença entre rendimento das duas concentrações de açúcares analisadas, diminuiu para 7,87%.

Comparando o rendimento e a produtividade das duas matérias-primas analisadas, pode-se verificar pela Tabela 4.25, que as fermentações com o caldo de sorgo sacarino, na concentração de $150 \pm 2,3$ g/L sem adição do Kamoran, apresentou um rendimento de 4,49% maior que na fermentação para o caldo de cana-de-açúcar na mesmas condições. Quando o Kamoran foi adicionado, o rendimento obtido para o caldo do sorgo sacarino na concentração

de $150 \pm 2,3$ g/L foi de 4,6% maior que a fermentação para o caldo de cana-de-açúcar nas mesmas condições. Já para as fermentações com o caldo de sorgo sacarino na concentração de $257 \pm 2,5$ g/L sem adição do Kamoran, apresentou um rendimento de 1% maior que a fermentação para o caldo de cana-de-açúcar nas mesmas condições. Quando o Kamoran foi adicionado, o rendimento obtido para o caldo do sorgo sacarino na concentração de $257 \pm 2,5$ g/L foi 1,8% maior que na fermentação para o caldo de cana-de-açúcar nas mesmas condições.

Desta forma, observou-se que no caldo do sorgo sacarino, na concentração de $150 \pm 2,3$ g/L e $257 \pm 2,5$ g/L, o rendimento e a produtividade foi ligeiramente superior quando comparado com a caldo de cana-de-açúcar, e este fato pode estar relacionado com a maior quantidade de ácido acético presente durante as fermentações realizadas com caldo de cana-de-açúcar.

4.12 Determinação da atividade enzimática da enzima α -amilase e amiloglicosidase no caldo do sorgo Sacarino.

As atividades enzimáticas no amido pela α -amilase e amiloglicosidase, realizadas em caldo de sorgo com pH 4,8 e nas temperaturas de 35°C e 75°C, em diferentes concentrações enzimáticas, estão apresentadas nas Figuras 4.35, 4.36. Ambas as enzimas testadas neste trabalho, ao analisar-se sua melhor concentração, apresentaram melhor atividade na concentração de 1g/L. Melhores atividades nesta concentração foram encontradas para as temperaturas de 75°C.

Desta forma, como a melhor atividade enzimática para a enzima α -amilase e amiloglicosidase foi encontrada na concentração de 1 g/L, a análise do efeito do pH na atividade destas enzimas foram realizadas na concentração de 1 g/L e os resultados podem ser visualizados na Figura 4.37 e 4.38.

Na Figura 4.37, estão apresentados os resultado da atividade enzimática da α -amilase na temperatura de 35 °C e 75°C, em função do pH. De acordo com os resultados apresentados tem-se que para a temperatura de 75°C uma melhor atividade foi encontrada no pH 6,5. Na temperatura de 35°C, o mesmo comportamento foi observado, sendo o pH 6,5 o que apresentou melhor atividade nesta temperatura. Ao analisar as duas temperaturas testadas, melhores atividades para todos os pH foram encontrados na temperatura de 75°C.

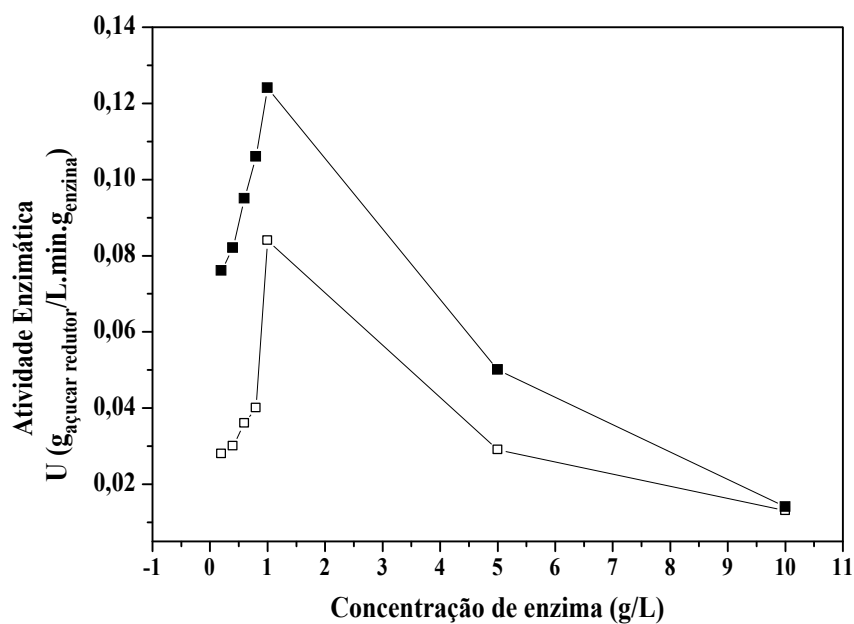


Figura 4.35 - Influência da concentração de enzimas α -amilase na atividade enzimática em temperatura de 35°C (\square) e 75°C (\blacksquare) para o tempo de 30 minutos

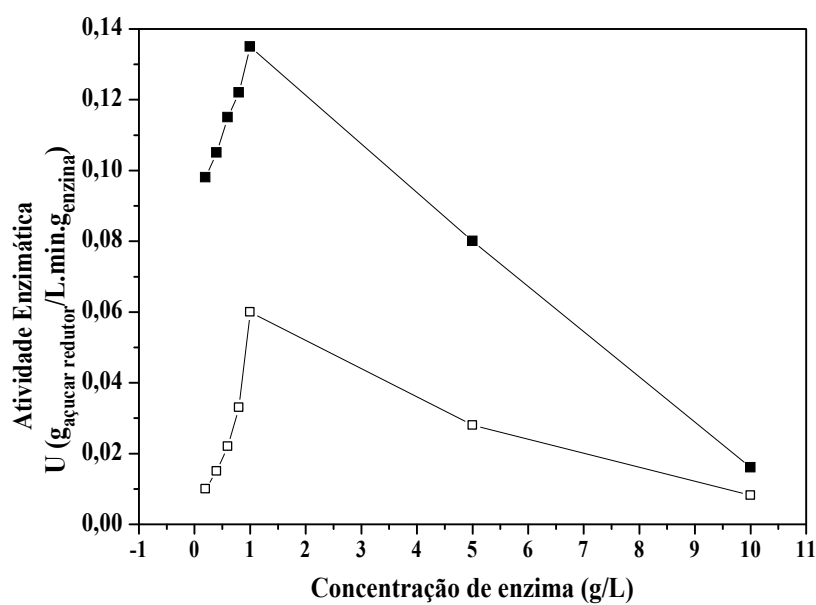


Figura 4.36 - Influência da concentração de enzimas amiloglicosidase na atividade enzimática em temperatura de 35°C (\square) e 75°C (\blacksquare) para o tempo de 30 minutos

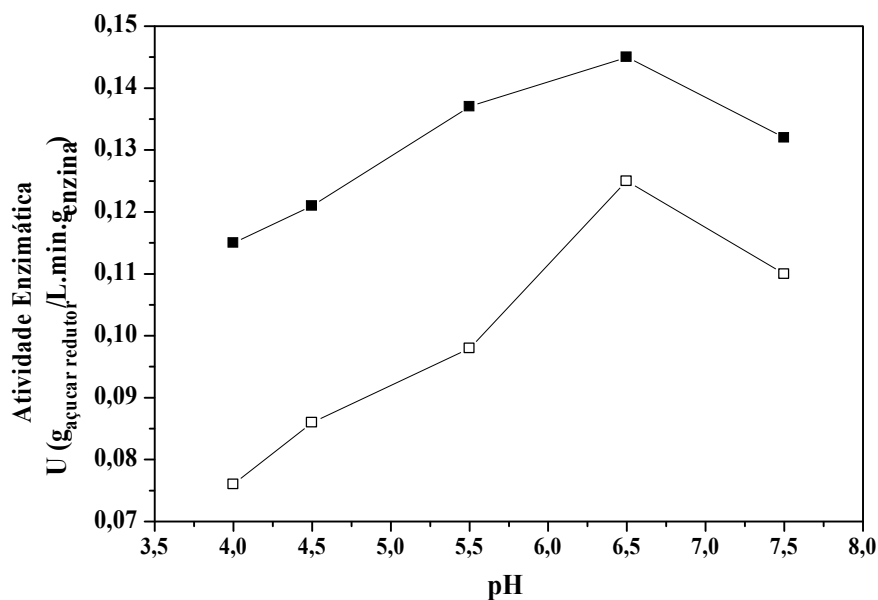


Figura 4.37 - Influência do pH na atividade enzimática de enzimas α -amilase na temperatura de 35°C (□) e 75°C (■) para o tempo de 30 minutos

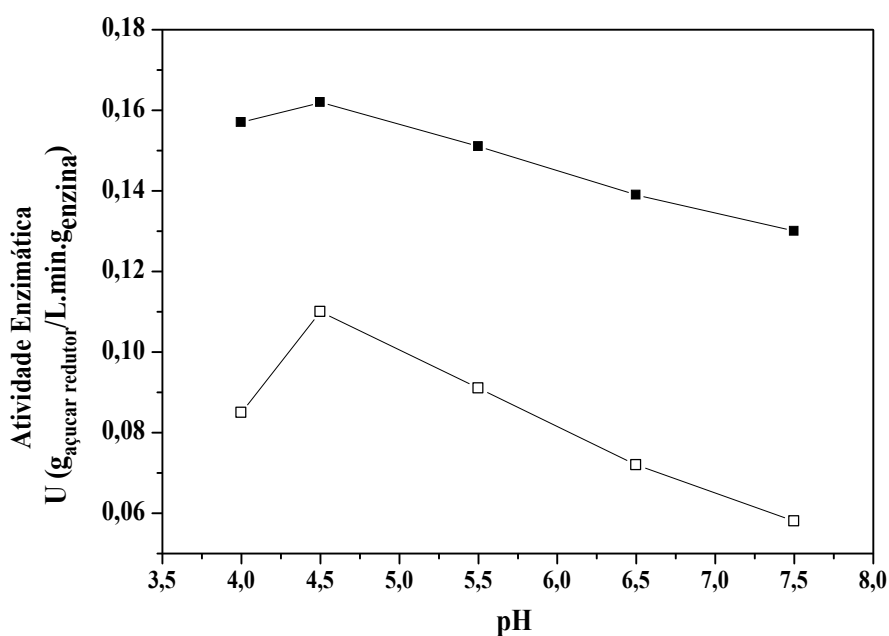


Figura 4.38 - Influência do pH na atividade enzimática de enzimas amiloglicosidase na temperatura de 35°C (□) e 75°C (■) para o tempo de 30 minutos

A máxima atividade encontrada para a enzima α -amilase, na temperatura de 35°C no pH de 6,5 foi similar a atividade encontrada no pH do caldo para a temperatura de 75°C. A atividade encontrada para a temperatura de 75°C, no pH de 4,5 foi de 0,121U que representa

83,44% da máxima atividade obtida para esta enzima no pH de 6,5. Portanto, foi possível obter atividades consideráveis para esta enzima a altas temperaturas sem que fosse necessário alterar o pH do caldo do sorgo sacarino. Isto mostra que os possíveis custos envolvidos para essas alterações de pH podem não justificar o aumento da produtividade final. Na Figura 4.38 tem-se o resultado da atividade enzimática da enzima amiloglicosidase na temperatura de 35°C e 75°C em função do pH. Para as temperaturas de 35°C e 75°C, uma melhor atividade foi encontrada no pH 4,5.

Ao analisar as duas temperaturas testadas para a enzima amiloglicosidase, melhores atividades para todos os pHs foram encontrados na temperatura de 75°C, sendo similar ao comportamento apresentado pela enzima α -amilase nesta faixa de temperatura. Para a enzima amiloglicosidase, os maiores valores de atividade foram obtidos no pH do próprio caldo, e isto é de grande importância em escalas industriais por não ser necessário alterações no pH do caldo do sorgo sacarino para se obter bons resultados em termos de hidrólise do amido presente no caldo e também por este pH ser o melhor em termos de desempenho da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

4.13 Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509

É conhecido que o caldo de sorgo sacarino contém amido em sua composição. Por este motivo, ensaios com a adição de enzimas α -amilase e amiloglicosidase ao caldo de sorgo foram avaliados com o objetivo de aumentar a concentração de glicose presente no caldo. As Tabelas 4.26 até a 4.33, apresentam os resultados decorrentes desta avaliação em diferentes condições.

Tabela 4.26 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com a enzima α -amilase na concentração de 1g/L, temperatura de 75°C e pH de 6,5

Enzima	Inicial	30 minutos	1 hora	2 horas
Amido (ppm)	4.762,56	2.724,76	2.524,76	2.478,76
Sacarose (g/L)	75,46	51,01	43,12	36,83
Glicose (g/L)	41,88	56,25	60,38	63,55
Frutose ((g/L))	21,73	33,95	37,91	41,045
Açúcar total (g/L)	139,07	141,21	141,4	141,45

Em todos os ensaios foram quantificados as variações que ocorreram nas diminuições do teor de sacarose e aumento no teor de glicose e frutose durante o processo de hidrólise que pode ter sido ocasionado pelas condições de temperatura e pH durante a hidrólise, provocado pela hidrólise da sacarose.

Nas Tabelas 4.26 a 4.28, são apresentados os resultados da hidrólise enzimática realizada com enzima α -amilase e amiloglicosidase nas melhores condições determinadas nos ensaios de determinação da atividade enzimática. Desta forma, na Tabela 4.26, pode-se observar que quando a enzima α -amilase foi adicionada no caldo do sorgo sacarino, na temperatura de 75 °C e pH de 6,5 em 30 minutos de hidrólise, 42,8% do amido presente no caldo do sorgo sacarino foi hidrolisado e este percentual passou para 47,66% de amido hidrolisado após 2 horas de hidrólise, o que proporcionou um aumento de 1,68% no teor de açúcar total presente neste caldo.

Já na Tabela 4.27, pode-se observar que quando a enzima amiloglicosidase foi adicionada no caldo do sorgo sacarino, na temperatura de 75 °C e pH de 4,8 em 30 minutos de hidrólise, 48% do amido presente no caldo do sorgo sacarino foi hidrolisado. Este percentual passou para 54,66% de amido hidrolisado após 2 horas de hidrólise, o que proporcionou um aumento de 2,5% no teor de açúcar total presente neste caldo.

Tabela 4.27 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com a enzima amiloglicosidase na concentração de 1g/L, temperatura de 75 °C e pH de 4,8

Enzima	Inicial	30 minutos	1 hora	2 horas
Amido (ppm)	4.762,56	2.446,98	2.216,98	2.158,98
Sacarose (g/L)	75,46	61,3	55,75	52,55
Glicose (g/L)	41,88	52,03	56,98	57,52
Frutose ((g/L))	21,73	28,19	29,03	32,57
Açúcar total (g/L)	139,07	141,52	141,76	142,64

Analisando a adição individual de cada enzima em sua melhor condição de atividade, pode-se verificar que a enzima amiloglicosidase, em sua melhor condição de atividade, hidrolisou 7% a mais do amido total presente no caldo do sorgo sacarino.

Visando um maior rendimento na hidrólise do amido total presente neste caldo, as duas enzimas foram adicionadas a este caldo e os resultados são apresentados na Tabela 4.28, em que pode-se observar nesta tabela que após 2 horas de hidrólise, 94% do amido presente neste caldo foi hidrolisado e que mostra a efetividade da adição das 2 enzimas no

processo final de hidrólise do amido, o que proporcionou um aumento de 3,3% (4,72 g de açúcar) no teor de açúcar total presente neste caldo.

Isto pode ser explicado pelo fato de que a enzima α -amilase é uma enzima que catalisa e cliva aleatoriamente e simultaneamente as ligações α -(1,4), não atuando sobre as ligações α -1,6 do amido e a enzima amiloglicosidase hidrolisa as ligações α -(1,4) produzindo glicose e, lentamente ligações α -(1,6), no amido (BELITZ, SCHIEBERLE e GROSCH, 2009).

Tabela 4.28 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com as enzimas α -amilase e amiloglicosidase na concentração de 1g/L, temperatura de 75 °C e meia hora em pH 4,8 e meia hora em pH 6,5

Enzima	Inicial	1 hora	2 horas	3 horas
Amido (ppm)	4.762,56	673,32	286,36	254,01
Sacarose (g/L)	75,46	42,96	34,31	29,91
Glicose (g/L)	41,88	62,42	67,12	69,38
Frutose ((g/L))	21,73	37,98	42,35	44,51
Açúcar total (g/L)	139,07	143,36	143,74	143,79

Visando analisar a efetividade destas enzimas nas mesmas condições do caldo durante o processo de fermentação (35 °C) e também durante a sua extração no difusor (75 °C), mantendo o pH natural do caldo (4,8), estas enzimas foram monitoradas em sua hidrólise separadamente e também atuando de forma conjunta. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 4.29 a 4.33.

Tabela 4.29 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com a enzima α -amilase na concentração de 1g/L, temperatura de 35 °C e pH de 4,8

Enzima	Inicial	30 minutos	1 hora	2 horas
Amido (ppm)	4.762,56	3.992,11	3.239,91	3.210,91
Sacarose (g/L)	75,46	61,93	55,34	50,78
Glicose (g/L)	41,88	49,51	53,542	55,81
Frutose ((g/L))	21,73	28,51	32,02	34,33
Açúcar total (g/L)	139,07	139,92	140,90	140,93

Desta forma, quando a enzima α -amilase foi adicionada isoladamente ao caldo de sorgo sacarino nas condições de uma fermentação (temperatura de 35 °C e pH de 4,8), após 30 minutos atuando neste caldo (Tabela 4.29), apenas 16,2% do caldo foi hidrolisado. Este

percentual foi de 32,6% ao final de 2 horas, com um aumento no teor de açúcar total de 1,31% (1,84 g).

Quando esta mesma condição de hidrólise foi testada, alterando apenas a temperatura para 75 °C (Tabela 4.30), com 30 minutos ocorreu a hidrólise de 21,1% do amido presente no caldo e em 2 horas 40,31% foi hidrolisado, ou seja, ao realizar a hidrólise com a enzima α -amilase no pH natural do caldo (fora do pH de melhor atividade desta enzima), houve uma diminuição na quantidade de caldo hidrolisado de 7,35% na mesma condição de temperatura.

Tabela 4.30 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com a enzima α -amilase na concentração de 1g/L, temperatura de 75 °C e pH de 4,8

Enzima	Inicial	30 minutos	1 hora	2 horas
Amido (ppm)	4.762,56	3.757,12	2.934,7	2.842,65
Sacarose (g/L)	75,46	59,14	51,25	46,04
Glicose (g/L)	41,88	51,15	56,23	59,51
Frutose ((g/L))	21,73	29,89	34,06	36,67
Açúcar total (g/L)	139,07	140,15	141,54	141,76

Avaliando o comportamento da enzima amiloglicosidase isoladamente nas condições normais de uma fermentação, pode-se observar na Tabela 4.31 que com duas horas de hidrólise houve a conversão de 49% do amido. Comparando com os experimentos realizados nas condições de melhor atividade para esta enzima, verifica-se uma diminuição de 5% na conversão total de amido, que pode ser justificado pelo fato do ensaio experimental não ter sido realizado na melhor faixa de temperatura para esta enzima.

Tabela 4.31 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com a enzima amiloglicosidase na concentração de 1g/L, temperatura de 35 °C e pH de 4,8

Enzima	Inicial	30 minutos	1 hora	2 horas
Amido (ppm)	4.762,56	2.756,25	2.312,21	2.425,23
Sacarose (g/L)	75,46	59,81	53,42	50,86
Glicose (g/L)	41,88	51,75	55,02	56,5
Frutose ((g/L))	21,73	29,55	32,6	33,88
Açúcar total (g/L)	139,07	141,12	141,04	141,24

Quando a enzima α -amilase e amiloglicosidase foi adicionada ao caldo de sorgo sacarino com as condições de uma fermentação alcoólica (35 °C e pH de 4,8), após 2 horas de

hidrólise, 80% do amido foi hidrolisado. Com três horas este valor aumentou para 83,15% (Tabela 4.32). Comparando com os resultados obtidos nas condições de melhor atividade para esta fermentação (Tabela 4.28), tem-se uma diminuição de 10,9% na quantidade de amido hidrolisado e de 1,4 g na quantidade de açúcar total. Portanto, mesmo que não seja possível realizar a hidrólise nas condições ideais da atividade enzimática, ainda assim, não haverá grandes perdas, visto que não terá que ajustar nenhuma condição do processo de fermentação.

Tabela 4.32 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com as enzimas α -amilase e amiloglicosidase na concentração de 1g/L, temperatura de 35 °C e pH de 4,8

Enzima	Inicial	1 hora	2 horas	3 horas
Amido (ppm)	4.762,56	1.358,39	1.023,98	802,36
Sacarose (g/L)	75,46	60,9	56,34	52,04
Glicose (g/L)	41,88	52,36	54,99	57,01
Frutose ((g/L))	21,73	29,01	31,52	33,34
Açúcar total (g/L)	139,07	142,27	142,85	142,4

Avaliando a efetividade da ação das duas enzimas na temperatura de 75 °C, pode-se observar na Tabela 4.33, que após 3 horas de hidrólise, 86,9% do amido foi hidrolisado. Isto evidencia um aumento de 3,75% quando a temperatura da hidrólise aumentou de 35°C para 75°C mantendo as demais condições apresentadas na Tabela 4.32. Isto ocorre devido a melhor atividade enzimática das duas enzimas em maiores temperaturas.

Tabela 4.33 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com as enzimas α -amilase e amiloglicosidase na concentração de 1g/L, temperatura de 75 °C e pH de 4,8

Enzima	Inicial	1 hora	2 horas	3 horas
Amido (ppm)	4.762,56	989,23	862,33	625,28
Sacarose (g/L)	75,46	62,21	58,96	56,31
Glicose (g/L)	41,88	52,25	54,08	55,26
Frutose ((g/L))	21,73	28,35	30,21	31,39
Açúcar total (g/L)	139,07	142,89	143,25	142,96

Desta forma os resultados indicam que uma hidrólise no caldo com que deve ser avaliado de acordo com a disponibilidade do processo e viabilidade econômica para tais mudanças.

Vários estudos com relação ao amido presente no caldo de cana-de-açúcar indicam que a presença de polissacarídeos dificulta a produção de açúcar e contribui para o aumento das perdas nas usinas. Segundo (CUDDIHY, PORRO e RAUH, 2001), o amido e a dextrana presentes no caldo de cana interferem nos processos de clarificação, filtração e cristalização. Durante o processo, o amido presente aumenta a viscosidade, inibem a cristalização e aumenta as perdas de sacarose no melaço, além de contribuírem para distorção da polarização.

Segundo França (2013), o amido é indesejável no processo, pois reduz a velocidade de cristalização e dificulta a centrifugação, impede a cristalização da sacarose, aumenta a produção de melaço, reduz a filtrabilidade e afinação dos açúcares e impede os processos de descoloração nas refinarias, sendo o principal prejuízo causado pelo amido e o aumento na viscosidade das massas, dificultando a cristalização e a filtrabilidade do açúcar. Mesmo em pequenas quantidades no caldo de cana-de-açúcar, o amido pode alcançar concentrações suficientemente altas, aumentando a viscosidade e exercendo alto poder melassigênico no processo de concentração do açúcar. Estes mesmos problemas seriam encontrados no caldo do sorgo sacarino, que possui quantidades superiores de amido presentes no caldo, caso esta matéria-prima fosse utilizada para produção de açúcar. A aplicação de enzimas alfa amilases tem sido utilizada para remoção do amido no caldo de cana, levando ao aumento nos rendimentos do processo e da qualidade do açúcar produzido. Esta mesma aplicação poderia ser feita ao caldo do sorgo sacarino para evitar estes problemas de processos e de rendimentos.

4.14 Fermentação alcoólica do caldo de sorgo BRS 509 com adição de enzimas

Após avaliar as condições de hidrólise do caldo do sorgo sacarino, foram realizadas fermentações no caldo hidrolisado para verificar o rendimento final em termos de produção de etanol de forma comparativa com uma fermentação sem o caldo hidrolisado. Na Tabela 4.34, estão apresentados os resultados da fermentação do caldo do sorgo sacarino sem adição de enzimas, no tempo de fermentação de 8 horas. Nestas condições foram obtidos um rendimento de 87,59% e produtividade de 7,72 g/L.h (Tabela 4.36).

Para a fermentação realizada com adição de enzimas α -amilase e amiloglicosidase nas próprias condições de fermentação do caldo (Tabela 4.35), após 8 horas de fermentação obteve-se um rendimento de 90,21% e produtividade de 7,94 g/L.h com um aumento de 2,83% na produção de etanol final quando comparado com as fermentações sem adição de enzima.

Tabela 4.34 - Valores médios obtidos para a concentração de etanol, glicerol e consumo de açúcar total no caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506 em função do tempo de fermentação sem adição de enzimas na temperatura de 35 °C

Parâmetros	Caldo Puro	6 horas	8 horas
Sacarose (g/L)	96,76	1,77	0,49
Glicose (g/L)	35,14	7,99	0,00
Frutose (g/L)	10,97	17,71	4,33
Glicerol (g/L)	0,00	3,25	3,76
Etanol (g/L)	0,0	50,75	61,79
AT (g/L)	142,87	27,43	4,82

Se for considerada a produtividade média de etanol por tonelada de sorgo sacarino para as safras 2012 e 2013 cultivadas para o desenvolvimento deste trabalho, pode-se verificar que para a cultivar BRS 509 foi produzido 58,91 L etanol/ton colmo de sorgo. Para cada tonelada de colmo processado, levando em consideração o amido hidrolisado com a adição das enzimas α -amilase e amiloglicosidase nas mesmas condições de fermentação do caldo ter-se-ia um aumento de 1,67 litros de etanol para cada tonelada de sorgo processada. Os ganhos industriais seriam ainda maiores, caso fossem utilizadas enzimas imobilizadas. Este ganho em termos de produtividade de etanol pode ser aumentado se as condições de hidrólise fossem realizadas na melhor condição de atividade da enzima, conforme mostrado anteriormente.

Tabela 4.35 - Valores médios obtidos para a concentração de etanol, glicerol e consumo de açúcar total no caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506 em função do tempo de fermentação com adição de enzimas α -amilase e amiloglicosidase na temperatura de 35°C

Parâmetros	Caldo Puro	6 horas	8 horas
Sacarose (g/L)	75,35	0,00	0,00
Glicose (g/L)	47,57	6,85	0,52
Frutose (g/L)	21,96	17,02	6,42
Glicerol (g/L)	0,00	3,38	3,79
Etanol (g/L)	0,00	53,89	63,59
AT (g/L)	144,88	23,87	6,94

Tabela 4.36 - Resultados de rendimento e produtividade obtidos na fermentação do caldo de sorgo sacarino da cultivar BR 509 com e sem adição de enzimas

Tempo de fermentação (h)	Sem enzima		Com enzima	
	6	8	6	8
Rendimento ($Y_{P/AT}$)	86,03	87,59	87,15	90,21
Produtividade (g/L.h)	8,45	7,72	8,98	7,94

Analizando todos os resultados obtidos neste trabalho, observa-se que o rendimento em etanol do sorgo sacarino e da cana-de-açúcar é próximo, sendo, portanto, uma alternativa bastante promissora para o cultivo em regiões em que a cana-de-açúcar não tem adaptação. Além disso, se for feito o aproveitamento das frações sacarina, amilácea e lignocelulósica do sorgo (caldo, bagaço e grãos), a concentração de etanol por hectare em uma safra é praticamente o dobro da concentração obtida com a conversão do caldo de cana, como relata Barcelos (2012).

O sorgo, por se tratar de uma cultura de ciclo vegetativo curto, de 90 a 130 dias, também se apresenta ideal para o complemento na produção de etanol durante o período de entressafra da cana-de-açúcar, cujo ciclo é de ano e meio ou anual, nas grandes usinas de etanol, permitindo ampliar o período de uso em três meses. O sorgo também apresenta características interessantes para as propriedades médias e pequenas, as quais possibilitam uma maior rotação de culturas e produção do próprio combustível.

Altas concentrações de açúcares foram obtidas nos colmos do sorgo sacarino das quatro cultivares analisadas neste trabalho, com concentrações bastante similar ao caldo de cana-de-açúcar. As concentrações de etanol atingidas na fermentação também foram similares as concentrações obtidas nos caldos de cana-de-açúcar, o que evidencia que o sorgo sacarino possui alto potencial, tanto do ponto de vista agrônomo quanto industrial, como produtor de energia renovável, devido a sua alta produtividade de biomassa por hectare, somado com a habilidade de crescimento em regiões com diferentes condições climáticas.

Não há dúvidas que a produção de etanol a partir de cana trata-se de um complexo produtivo impressionante, porém com a matriz energética centrada apenas em uma cultura. Portanto, faz-se necessária a busca por outras fontes de matérias-primas para produção de etanol, visando à sustentabilidade e à consolidação do conceito de energia renovável. O Brasil, além de concentrar grande número de pequenos, médios e grandes produtores, apresenta uma diversidade de condições ambientais que permitem, ao explorar o potencial de matérias-primas renováveis e com aptidão regional, promover a descentralização da produção de etanol.

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Neste capítulo estão apresentadas as conclusões consideradas mais importantes do trabalho realizado. Faz-se uma avaliação se os resultados obtidos foram satisfatórios. Apresentam-se também algumas sugestões para futuros trabalhos e pesquisas a serem desenvolvidas, provenientes dos resultados obtidos neste trabalho.

5.1 Conclusões

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que:

- As cultivares, BRS 508, BRS 509 e BRS 511 apresentaram as maiores produtividades e a cultivar BRS 506 apresentou menor produtividade de colmo em ambas as safras. A safra 2013 proporcionou melhores condições climáticas para o desenvolvimento do sorgo sacarino devido a sua época de plantio (época com maior incidência de chuvas). Resultados semelhantes foram obtidos na safra 2013 para as mesmas cultivares em relação a produção de açúcar total e litros de etanol por hectare de sorgo sacarino;
- Um maior período útil industrial (PUI) foi observado, tanto na safra 2012 como na safra 2013, para a cultivar BRS 511 que apresentou valores de açúcar total acima de 140 g/L durante maior tempo de plantio (44 dias). Na safra 2012, a cultivar BR 511 apresentou valores de AT superiores as demais cultivares, sendo o máximo de 191 g/L em 112 dias após o plantio, sendo que na safra 2013 a cultivar BRS 511 manteve valores de AT acima de 140 g/L por 29 dias e o valor máximo de AT foi de 162 g/L o que demonstra a influência dos fatores climáticos na produção dos açúcares;
- Para todas as variáveis analisadas melhores resultados em termos de produtividade foram alcançadas para a safra 2013, cujo plantio do sorgo sacarino foi realizado no mês de novembro;

- Durante o período de maturação das variedades de sorgo sacarino estudadas verificou-se que houve aumento na concentração de amido no caldo presente no colmo do sorgo e redução na concentração de fósforo, cálcio, magnésio e nitrogênio;
- Após o acamamento a cultivar BRS 506 ainda continuou concentrando açúcares por um período de aproximadamente 7 dias e a partir deste período, houve queda contínua dos açúcares o que evidenciou a não viabilidade de colheita deste sorgo acamado 15 dias após o acamamento, dependendo do estágio de maturação em que o mesmo se encontra;
- Quedas nos teores de açúcar total foram observadas após 30 dias de congelamento para a cultivar BRS 508 e BRS 509 que apresentaram comportamentos de queda similares. Para o caldo congelado dos colmos da cultivar BR 509 com podridão vermelha a queda na concentração total de açúcar foi maior. Os teores de açúcar total no caldo de cana-de-açúcar congelado apresentou-se estável durante o período de congelamento analisado, diferentemente do sorgo;
- Para todas as cultivares analisadas neste trabalho a maior quantidade de açúcares estava concentrada na base dos seus colmos;
- A suplementação da fermentação com adição de nutrientes não apresentou ganhos significativos com relação a produtividade final de etanol. O mesmo comportamento foi observado para as fermentações com agitação mecânica;
- Após 8 horas de fermentação alcoólica do caldo das cultivares, verificou-se que a cultivar BR 508 apresentou o melhor desempenho em termos de produtividade;
- Fermentações com altas concentrações de açúcar (acima de 180 g/L) não proporcionaram aumento na produção de etanol para as concentrações de 160, 180, 220 e 260 g/L e houve uma redução na produtividade de etanol para a concentração de 300 g/L. mostrando que houve inibição na produção de etanol quando utilizou-se caldo com maior concentração inicial de açúcar;

- O rendimento e a produtividade do caldo do sorgo sacarino foi ligeiramente superior quando comparado com a caldo de cana-de-açúcar, tanto para os caldos com menor concentração de açúcar como para o caldo com maior concentração e este fato pode estar relacionado com a maior quantidade de ácido acético presente durante as fermentações realizadas com caldo de cana-de-açúcar;
- Maior hidrólise do amido presente no caldo do sorgo sacarino foi obtido na temperatura de operação do difusor (próxima de 75 °C) e utilizando a mistura das enzimas α -amilase e amiloglicosidase;

5.2 Sugestões para trabalhos futuros

As sugestões para trabalhos futuros são:

- Caracterizar físico-química e micro biologicamente, de forma mais detalhada, o caldo do sorgo sacarino congelado;
- Avaliar detalhadamente a utilização das enzimas nas várias etapas do processo de produção do etanol;
- Verificar economicamente a utilização das enzimas na hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino;
- Estudar das adaptações necessárias no processo de moagem do sorgo sacarino
- Analisar a viabilidade da produção de açúcar utilizando sorgo sacarino;

CAPÍTULO 6

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, C. J. B.; TARDIN, F. D.; PARRELA, R. A. C.; GUIMARÃES, A. S.; OLIVEIRA, R. M.; SILVA, K. M. J. Sorgo Sacarino em Diferentes Arranjos de Plantas e Localidades de Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.11, n.1, p. 69-85, 2010.

ALMODARES, A.; HADI, M. R. Production of bioethanol from sweet sorghum: A review. **African Journal of Agricultural Research**. vol. 4, n.9, p. 772-780, 2009.

ALMODARES, A.; SEPAHI, A. Comparison among sweet sorghum cultivars, lines and hybrids for sugar production. **Annual Plant Physiology**. v.10, p. 50-55, 1996.

ALMODARES, A.; SEPAHI, A.; DALILITAJARY, H.; GAVAMI, R.; Effect of phenological stages on biomass and carbohydrate contents of sweet sorghum cultivars **Annual Plant Physiology**. v. 8, p. 42-48, 1994.

ALMODARES, A.; TAHERI, R.; ADELI, S. Categorization of sweet sorghum cultivars and lines as sweet, dual purpose and grain sorghum. **Journal Tropical Agriculture**. v.46, 62–63, 2008.

ALPER, H.; STEPAHNOPOULOS, G. Engineering for biofuels: exploiting innate microbial capacity or importing biosynthetic potential. **Nature Reviews**, v.7, p.715-723, 2009.

ALTINTAS, M. M.; ULGEN, K. O.; KIRDAR, B.; ONSAN, I. Z.; AND OLIVER, S. G.; Improvement of ethanol production from starch by recombinant yeast through manipulation of environmental factors. **Enzyme and Microbial Technology**, 31, 640-647, 2002.

ALVES, V.M.C.; VASCONCELLOS, C.A.; FREIRE, F.M.; PITTA, G.V.E.; FRANÇA, G.E.; RODRIGUES FILHO, A.; ARAÚJO, J.M.; VIEIRA, J.R.; LOUREIRO, J.E. SORGO *IN*: RIBEIRO, A.C., GUIMARÃES, P.T.G., Alvarez, V.V.H. **Recomendações para o uso de**

corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5ª Aproximação. Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. Viçosa p. 325-327. 1999.

ALVES, G. F. **Solubilização do fosfato de rocha por *Aspergillus niger*.** 133f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

AMADUCCI, S.; MONTI, A.; VENTURI, G. Non-structural carbohydrates and fibre components in sweet and fibre sorghum as affected by low and normal input techniques. **Industrial Crops Products.** v. 20, n. 1, p. 111-118, 2004.

AMORIM, H. V. Nutrição mineral da levedura. Aspectos teóricos e práticos. In: Semana De Fermentação Alcoólica “Jaime Rocha De Almeida”, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1985, 1, 144-148.

ANDRIETTA, S. R.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, M. G. S. Study of flocculent yeast performance in tower reactors for bioethanol production in a continuous fermentation process with no cell recycling. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3002-3008, 2008.

ANDRZEJEWSKIA, B.; EGGLESTON, G.; LINGLEA, S.; POWELL, R. Development of a sweet sorghum juice clarification method in the manufacture of industrial feedstocks for value-added fermentation products. **Industrial Crops and Products.** v. 44, p. 77- 87, 2013.

ANTONOPOULOU, G., GAVALA, H., SKIADAS, I., ANGELOPOULOS, K., LYBERATOS, G. Biofuels generation from sweet sorghum: fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass. **Bioresource Technology.** v. 99, p.110–119, 2008.

ANYANGWA, E. M.; KAPSEU, C. E.; MUSONGE, P. The effect and removal of starch the sugar refining industry. **Institute Sugar Journal.** v.95, p.210-213.1993.

ARIYAJAROENWONG, P.; LAOPAIBOON, P.; JAISIL, P.; LAOPAIBOON, L. Repeated-batch ethanol production from sweet sorghum juice by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on sweet sorghum stalks. **Energies.**, v. 5, p.1215-1228, 2012.

AZEVEDO, J.A.G.; PEREIRA, J.C.; QUEIROZ, A.C.; CARNEIRO, P.C. .; LANA, R. de P.; BARBOSA, M H.P.; FERNANDES, A.M.; RENNÓ, F.P. Composição químicobromatológica, fracionamento de carboidratos e cinética da degradação *in vitro* da fibra de três variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1443-1453, 2003.

BALA, R. S.; BISWAS, P. K.; RATNAVATHI, C. V. Genetic variability and stability for the major attributes of sweet sorghum. In: **Proceedings of the First International Sweet Sorghum Conference**. Beijing, p. 298-304, 1997.

BAHIA FILHO, A. F. C.; GARCIA, J.C.; PERENTONI, S.N.; SANTANA, D.P.; CRUZ, J. C.; SCHAFFERT, R. E. Impulsionando a produção e a produtividade de milho e sorgo, no Brasil. In: ALBUQUERQUE, A. C. S.; SILVA, A. G. **Agricultura tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas**. Embrapa Informações Tecnológicas, p. 125-2008.

BARCELOS, C.A. Aproveitamento das frações sacarínea, amilácea e lignocelulósica do sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) para a produção de bioetanol. 334 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química , Universidade Federal do Rio de Janeiro, pg 98. Rio de Janeiro, 2012.

BARCELOS, C.A.; MAEDA, R.N.; BETANCUR, G.J.V.; PEREIRA JR, N. Ethanol production form sorghum grains: evaluation of the enzymatic hydrolysis and hydrolysate fermentability. In: **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.28, n.4, p. 507-604, 2011.

BANDEIRA, A. H.; MÜLLER, L.; MEDEIROS, S. L. P.; LEAL, L. T.; SILVA, N. G. da; EMYGDIO, B. M.; BIONDO, J. C. **Parâmetros tecnológicos de sorgo sacarino BRS 506, cultivado em distintas épocas de semeaduras e espaçamento de entrelinhas**. In: Simpósio Estadual de Agroenergia, 4 Reunião técnica de agroenergia, AMRIGS: Porto Alegre. Anais... Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 2012.

BELAYACHI, L., DELMAS, M. Sweet sorghum bagasse: A raw material for the production of chemical paper pulp.: effect of depithing. **Industrial Crops and Products**, v.6, p. 229–232, 1997.

BELITZ, H. D.; SCHIEBERLE, P.; GROSCH, W. **Food Chemistry: Enzymes**. 4. ed. Berlin: Springer-verlag, Cap. 2, p. 93-155. 2009.

BENNETT, A., ANEX, R.,. Production, transportation and milling costs of sweet sorghum as a feedstock for centralized bioethanol production in the upper Midwest. **Bioresource Technology**. 100, 1595–1607, 2009.

BERTOFT, E.; BLENNOW, A.; Structure of Potato Starch. In: SINGH, Jaspreet; KAUR, Lovedeep (Ed.). *Advances in Potato Chemistry and Technology*. **New York: Elvesier**, cap.4, p. 83-94, 2009.

BLAS J, ALMODARES A, SOMANI R. B. Econo-Feasibility of sugar production from sweet sorghum. **Research Journal**. v.24, p. 30-34, 2000.

BLUEMMEL, M.; RAO, S.S.; PALANISWAMI, S.; SHAH, L.; REDDY, B.V.S.; Evaluation of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) used for bio-ethanol production in the context of optimizing whole plant utilization. **Animal Nutrition Feed Technology**. v.9, p. 1–10, 2009.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos: Enzimas**. 3.ed. São Paulo: Varela, p.143-167. 2001.

BROADHEAD, M.; DEMPSEY, M. Sugar production from sweet sorghum as affected by planting date, after-ripe harvesting, and storage. **Agronomy Journal**, v.61, p.811-812, 1969.

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.23, p.85-112, 1998.

BAYSAL, Z.; UYAR, F.; DOĞRU, M.; ALKAN, H. Production of extracellular alkaline α -

amylase by solid state fermentation with a newly isolated *Bacillus* sp. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v.38, n.2, p.184-190, 2008.

CABRAL, B. V. **Hidrólise de Sacarose por Invertase Imobilizada em Duolite A-568 por Adsorção e Ligação Cruzada**. 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012

CAVAZZA, L.; VENTURI, G.; ANADUCCI, M.T. Technical possibilities for ethanol crops in Italy. **Rivista Agronomy**, v. 17, 238-260, 1983.

CERQUEIRA, D. P. 2013; **Fermentação alcoólica de mosto com alta concentração de açúcar**. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

CHENG, K. K.; CAI, B. Y.; ZHANG, J. A.; LING, H. Z.; ZHOU, Y.; GEB, J. P.; XU, J. Sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process. **Biochemical Engineering Journal**, v.38, p.105–109, 2008.

COCCO, D. Comparative study on energy sustainability of biofuel production chains Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. **Journal of Power and Energy**, v. 21, p.637–645, 2007.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar. Disponível em <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_04_09_10_30_34_boletim_cana_portugues_abril_2013_4o_lev.pdf>. Acesso em 05/03/2014.

COOPERSUCAR. Centro de tecnologia de Cana (CTC). **Manual de controle químico da fabricação de açúcar**. Piracicaba, 216p, 2011.

CUDDIHY, J.A.; PORRO, M.E.; RAUH, J.S. The presence of total polysaccharides in sugar production and methods for reducing their negative effects. **Journal of the American Society of Sugarcane Technologists**, Lenexa, v. 21, p. 73-91, 2001.

CUNHA, S. P.; SAVEROFILHO, W. A. AVANÇOS TECNOLÓGICOS NA OBTENÇÃO DE ETANOL A PARTIR DE SORGO SACARINO (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **Tecnológica**, Santa Cruz do Sul, v. 14, p. 69-75, 2010.

CURT M. D, FERNANDEZ J, MARTINEZ M. Productivity and radiation use efficiency of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) cv. Keller in central Spain. **Biomass Bioenerg**, v.14, p.169-178, 1998.

CURT, M.D., J. FERNANDEZ, AND M. MARTINEZ.. Productivity and water use efficiency of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) cv. Keller in relation to water regime. **Biomass Bioenergy**. v. 8, p.401–409, 1995.

DERCAS, N.; LIAKATAS, A. Sorghum water loss in relation to water treatment. **Water Resources Management**, vol.13, no 1, p.39-57, 1999.

DOLCIOTTI, I.; MAMBELLI, S.; GRANDI, S.; VENTURI, G. Comparison of two sweet sorghum genotypes for sugar and fibre production. **Industrial Crops Products**, v. 7, p.265-72, 1998.

DONATÉLLI, M.; HAMMER, G. L.; VANDERLIP, R. L. Genotype and water limitation effects on phenology, growth and transpiration efficiency in grain sorghum. **Crop Science**, v.32, n.3, p.781-786, 1992.

DUTRA, E. D.; NETO. A. G. B.; MENEZES, R. S. C.; JUNIOR, M. A. M.; NAGAI, M. A., SANTOS, T. N. **Produção de Etanol a partir do mosto do colmo de diferentes cultivares de sorgo sacarino em Pernambuco**. XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos. Caxias do Sul/RS. 2011.

ECONOMOU, C.N.; MAKRI, A.; AGGELIS, G.; PAVLOU, S.; VAYENAS, D.V. Semisolid state fermentation of sweet sorghum for the biotechnological production of single cell oil. **Bioresource Technology**.v.101, p.1385–1388, 2010.

ESTEVES, A.L.; BAGGIO, C.A.; COSTA, F.A.; CASTRO, H. F.; BARROSO, H.G.; CRUZ, I. M.; LEAL, J.L.S.; MAIA, M. Q.; SANTOS, M. G.M.R.; SALLES FILHO, M.; SALLES, N.G.; REIS, R.F.; CARVALHO, S.E. R.; SCHNEIDERMAN, V.; SILVA, A.J.V.; NUNES JUNIOR, G.L. **Efeitos da época de plantio em dez cultivares de sorgo sacarino**. Reunião Brasileira de Milho e Sorgo, Informativo do Instituto Nacional de Tecnologia, v.14, p.26-44, 1981.

EGGLESTON, G.; MONTES, B.; MONGR, A.; GUIDRY, D. optimization of amylase application in raw sugar manufacture. **International Sugar Journal**. v.70, p. 579-584, 2007.

EGGLESTON, G.; MONTES, B.; OCIER, B.E. Preheating and incubation of cane juice prior to liming: A comparison of intermediate and cold lime clarification, **Journal Agricultural of Food Chemistry**. v. 50, p. 484-490, 2012.

EMBRAPA - Milho e Sorgo. Sistema Embrapa de Produção Agroindustrial de Sorgo Sacarino para Bioetanol Sistema BRS1G – Tecnologia Qualidade Embrapa. **Documentos 139**. 2012

EMBRAPA – Milho e Sorgo. Sorgo sacarino na Embrapa: Histórico, importância e usos. **Revista Agroenergia**, Ano II, nº 3, p.06, 2011.

EMBRAPA. Indicações de Aspectos Tecnológicos sobre o Bioetanol de Matéria-prima Amilácea. **Documentos 94**. 2009.

FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; OTTO, R. Aproveitamento pela cana-de-açúcar da adubação nitrogenada de plantio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p. 2763-277, 2008.

FRANÇOSO, I. L. T. **Efeito da enzima α -amilase na etapa de clarificação do caldo de cana-de-açúcar**. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

FIGUEIRA, S.R. **Os Programas de Etanol como Combustível nos EUA, no Japão e na União Europeia e as Possibilidades de Exportação do Brasil**. Tese (Doutorado em

Ciências. Área de concentração: Economia aplicada) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

FORNASIERI FILHO, D.; FORNASIERI, J. L. **Manual da cultura do Sorgo**. Jaboticabal: Funep, 2009. 202p.

GARCIA, Ariane Regina Lopes. **Germinação do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) em solo proveniente de monocultura de cana-de-açúcar com inoculação de rizobactérias (RPCP)**. 48f . Trabalho de conclusão de curso. Faculdade de Tecnologia de Araçatuba, Tecnologia em Bicombustíveis. Araçatuba, SP : Fatéc , 2012.

GAO, C., ZHAI, Y., DING, Y., WU, Q. Application of sweet sorghum for biodieselproduction by heterotrophic microalga *Chlorella protothecoides*. **Applied Energy**, v.87,p.756–761, 2010.

GLOBAL Ethanol Production to reach 85,2 billion liters in 2012. Global Renewable Fuels Alliance. Disponível em: <<http://www.globalrfa.org>. Acesso em: 01 Mar. 2014.

GNANSOUNOU, E.; DAURIAT, A.; WYMAN, C.E.; Refining sweet sorghum to ethanol and sugar: economic trade-offs in the context of North China. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 985–1002, 2005.

GOLDEMBERG, J. The challenge of biofuels. **Energy and Environmental Science**, v.1, p.523-525, 2008.

GOMEZ, F. J. D.; HERNANDEZ, C.C.; CARRILLO, E. P.; W.L. ROONEY, W. L. ; S.O. SERNA-SALDIVAR, S. O. S. Evaluation of bioethanol production from five different varieties of sweet and forage sorghums (*Sorghum bicolor* (L) Moench). **Industrial Crops and Products**. v. 33, p. 611-616, 2011.

GOMEZ, F. J. D.; CHUCK-HERNANDEZ, C.; PEREZ-CARRILLO, E.; ROONEY, W. L.; SERNA-SALDIVAR, S. O. Evaluation of bioethanol production from five different varieties of sweet and forage sorghums (*Sorghum bicolor* (L) Moench). **Industrial Crops Products**.v.33, p.611–616, 2011.

GUIGOU, M.; LAREO, C.; PÉREZ, L.V.; LLUBERAS, M. E.; VÁZQUEZ, D.; FERRARI, M. D. Bioethanol production from sweet sorghum: evaluation of post-harvest treatments on sugar extraction and fermentation. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 3058-3062, 2011.

HAN, K. J.; PITMAN, W. D.; ALISON, M. W.; HARRELL, D. L.; VIATOR, H. P.; McCORMICK, M. E.; GRAVOIS, K. A.; KIM, M.; DAY, D. F. Agronomic considerations for sweet sorghum biofuel production in the South-Central USA. **Bioenergy Research**, v. 5, n. 3, p. 748-758, 2012.

HAN, L.P.; STEINBERGER, Y.; ZHAO, Y.L.; XIE, G.H. Accumulation and partitioning of nitrogen, phosphorus and potassium in different varieties of sweet sorghum. In: **Field crops research**, v. 120, p. 230-240, 2011.

HANSEN, M. R.; BLENNOW, A.; PEDERSEN, S.; NORGAARD, L.; ENGELSEN, S. B. Gel texture and chain structure of amylomaltase-modified starches compared to gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.22, n.8, p.1551-1566, 2008.

HETÉNYI, K.; GÁL, K.; NÉMETH, Á.; SEVELLA, B. Use of sweet sorghum juice for lactic acid fermentation: preliminary steps in a process optimization. **Bioresource Technology**, v.85, p.872–877, 2010.

HIRA, A.; OLIVEIRA, L. G. No substitute for oil? How Brazil developed its ethanol industry. **Energy Policy**, v. 37, p. 2450–2456, 2009.

HUZ, P.U.G.; FANG F.; WANG C. Economics, environment, and energy life cycle assessment of automobiles fueled by bio-ethanol blends in China. **Renewable Energy**, v. 29, p. 2183-2192, 2004.

HUZ, P.U.G.; FANG, F.; BEN, D.P.U.G.; WANG, C. Net energy, CO₂ emission, and life cycle cost assessment of cassava-based ethanol as an alternative automotive fuel in China. **Applied Energy**, v.78, p. 247-256, 2004.

ICNA - Instituto CNA. RELATÓRIO DE EXPOSIÇÃO NA MÍDIA. Disponível em: <<http://www.icna.org.br/sites/default/files/relatorio/RELAT%C3%93RIO%20DO%20AGRONEG%C3%93CIO%20-%20janeiro%20de%202013.pdf>> . Acesso em 22/06/2014

JERGER, D. E.; CHYNOWETH, D. P. Isaacson, H.R. Anaerobic digestion of sorghum **Biomass and Biomass Energy**. v. 14, p.99–113, 1987.

KIM, S.; DALE, B.E. Allocation procedure in ethanol production system from corn grain I. system expansion. **International Journal of Life Cycle Assessment**, v.4, p. 237-243, 2002.

KIM, S.; DALE, B.E. Environmental aspects of ethanol derived from no-tilled corn grain: nonrenewable energy consumption and greenhouse gas emissions. **Biomass and Bioenergy**, v. 28, p. 475-489, 2005.

KIM, S.; DALE, B.E. Life cycle assessment of various cropping systems utilized for producing biofuels: Bioethanol and biodiesel. **Biomass and Bioenergy**. v. 29, p. 426-439, 2005b.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4ª Ed. Vol. 2, São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.

KLIMIUK, E.; POKÓJ, T.; BUDZYNSKI, W.; DUBIS, B. Theoretical and observed biogas production from plant biomass of different fibre contents. **Bioresource Technology**. v.101, p.9527–9535, 2010.

KRISHNAVENI, S.; BALASUBRAMANIAN, T.; SADASIVAM, S. Sugar distribution in sweet stalk sorghum. **Food Chemistry**, v. 15, p.229-232, 1984.

LAOPAIBOON, L.; NUANPENG, S.; SRINOPHAKUN, P.; KLANRIT, P.; LAOPAIBOON, P. Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology: Effects of carbon and nitrogen supplementations. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 4176-4182, 2009.

LARSON, E. D.; KARTHA, S. Expanding roles for modernized biomass energy. **Journal Energy for Sustainable Development**, v, 4, n. 3, p. 15-25, 2000.

LEE, Y. S.; LEE, W. G.; CHANG, Y. K. E CHANG, H. N. Modelling of Ethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae* from a Glucose and Maltose Mixture. **Biotechnology Letters**, v. 32, p. 791-796, 1995.

LEITE, I. R. **Avaliação da Ação de Antibiótico Natural na Fermentação Alcoólica contaminada por cultura mista**. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

LEITE, R. C. C; LEAL, M. R.L.V; O Biocombustível no Brasil. Novos Estudos – **CEBRAP** . v. 78, p.15-21, 2007.

LESTON, G.; MONTES, B.; ANTOINE, A.; STEWART, D. Seasonal variations in optimized applications of intermediate temperature stable α -amilase in raw sugar manufacture. **International Sugar Journal**, London, v. 112, n. 1340, p.472-480, 2010.

LIANG, Y.; SARKANY, N.; CUI, Y.; YESUF, J.; TRUSHENSKI, J.; BLACKBURN, J.W. Use of sweet sorghum juice for lipid production by *Schizochytrium limacinum* SR21. **Bioresource Technology**. v.101, p. 3623–3627, 2010.

LIMA, J. M. P.; MEDEIROS, A. C.; GONÇALVES, R. J. S.; LIMA, J. G. A.; LIRA, M. A.; TABOSA, J. N.; E RIBEIRO, R. R.R. Competição de cultivares de sorgo sacarino no vale do Assu no estado do Rio Grande do Norte. **XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo**. v. 1, p. 2764-2767, 2010.

LINTON, J.A.; MILLER, J.C.; LITTLE, R.D.; PETROLIA, D.R.; COBLE, K.H. Economic feasibility of producing sweet sorghum as an ethanol feedstock in the southeastern United States. **Biomass Bioenergy**. v. 35, p. 3050–3057, 2011.

LÓPEZ, C.; TORRADO, A.; FUCIÑOS, P.; GUERRA, N. P.; PASTRANA, L. Enzymatic hydrolysis of chestnut purée: process optimization using mixtures of alpha-amylase and

glucoamylase. **Journal of Agricultural And Food Chemistry**, Ourense, (Spain), p.2907-2914, 2005.

LIU, S.; LIANG, C.; CHEN, T.H. Biomass yield, juice quality and alcohol production of sweet sorghum. **Journal of Agricultural Research**, v.33, p.236-246, 1984.

LIU, R.; SHEN, F. Impacts of main factors on bioethanol fermentation from stalk juice of sweet sorghum by immobilized *Saccharomyces cerevisiae*. **Bioresource Technology**. v.99. 2008.

LIU, Q. A study of enzymatic hydrolysis of starch in potato pulp. **Journal of Food Science: Food Chemistry and Toxicology**, v.67, p.2113-2117, 2002.

LORA, E.S.; ANDRADE, R.V. Biomass as energy source in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.13, p.777-788, 2009.

LUO, L.; VAN DER VOET, E.; HUPPES, G. Life cycle assessment and life cycle costing of bioethanol from sugarcane in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, p. 403-465, 2009.

LUSK, J.W.; KARAU, P.K.; BALOGU, D.O. Brow hybrid sorghum or corn silage for milk production. **Journal of Dairy Science**., v.67, n.8, p.1739-1744, 1984.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M. Ecofisiologia da Produção de Sorgo. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 4p. (Comunicado Técnico, 87), 2003.

MALAVOLTA, E; VITTI, G. C. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. 1997, 230p.

MAGALHÃES, P. C.; DURAES, F.; SCHAFFERT, R. E. **Fisiologia da planta de sorgo**. EMBRAPA Milho e Sorgo, 46 p. **Circular Técnica**, v. 3, 2000.

MAMMA D, CHRISTAKOPOULOS P, KOULLAS D, KEKOS D, MACRIS BJ, KOUKIOS E. An alternative approach to the bioconversion of sweet sorghum carbohydrates to ethanol. **Biomass Bioenerg**, v. 2, p. 99-103, 1995.

MARCHEZAN, E; SILVA, M I. Avaliação de cultivares de sorgo sacarino em Santa Maria, RS. **Revista Centro de Ciências Rurais**, v. 14, p. 3-4,p.161-172, 1984.

MARCOCCIA, R. **A participação do etanol brasileiro em uma nova perspectiva na matriz energética mundial**. 95 p. Dissertação (Mestrado)EP/FEA/IEE/IF da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2007.

MARTINS, A. M.**Período de utilização industrial de cultivares de sorgo sacarino visando a produção de etanol na região central de minas gerais**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) -Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São João Del Rei, Sete Lagoas, 2014.

MASOJIDEK, J.; TRIVEDI, S.; HALSHAW, L.; ALEXIOU, A.; HALL, D. O. The synergetic effect of drought and light stress in sorghum and pearl millet. **Plant Physiology**, v.96, n.1, p.198-207, 1991.

MANSURE, J. J.; SOUZA, R. C.; PANEK, A. D. Trehalose metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* during alcoholic fermentation. **Biotechnology Letters**, Kew, v.19, n.2, p.1201-1203, 1997.

MATSUSHIKA, A.; INOUE, H.; KODAKI, T.; SAWAYAMA, S. Ethanol production from xylose in engineered *Saccharomyces cerevisiae* strains: current staté and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.84, p.37–53, 2009.

MAY, A.; CAMPANHA, M.M.; SILVA, A.F.; COELHO, M.A.O; PARRELLA, R.A.C.; SCHAFFERT, R.E.; FILHO, I.A.P. Variedades de Sorgo Sacarino em Diferentes Espaçamentos e População de Plantas. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.11, n.3, p.278-290. 2012.

MDIC - Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Álcool Combustível. **ALICEWEB**, (2012). Disponível em: <<http://www.desenvolvimento.gov.br/sitio/interna/interna.php?área =2&menu=999>>. Acesso em: 01 fev. 2014.

MELO, D. A. **Avaliação de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) e milheto (*pennisetum glaucum* (L.) r. brown) sob diferentes níveis de água no solo.** 123f. Dissertação (Mestrado em zootecnia). Universidade Federal de Campina - GRANDE, UFCG, Patos-PB. 2006.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, v.31, p.426-428, 1959.

MURRAY, S.C.; ROONEY, W.L.; MITCHELL, S.E.; SHARMA, A.; KLEIN, P.E.; MULLET, J.E & KRESOVICH, S. Genetic Improvement of Sorghum as a Biofuel Feedstock: II. QTL for Stem and Leaf Structural Carbohydrates. **Crop Science**, v.48, p.2180-2193. 2008.

MUSSA, M. A global growth rebound: how strong for how long? Washington, DC : Institute for International Economics, 2003. Disponível em: <www.iie.com/publications/papers/mussa0903.pdf>. Acesso em: 03 mar.2014.

MUSSATTO, S. I., G. DRAGONE, P. M. R. GUIMARAES, J. P. A. SILVA, L. M. CARNEIRO, I. C. ROBERTO, A. VICENTE, L. DOMINGUES & J. A. TEIXEIRA. Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. **Biotechnology Advances**, v. 28, n 6, p. 1873-1899, 2010.

NAIK, D.C.; JAYAKUMAR, B.V. Effect of time of harvest of sweet sorghum (*Sorghum bicolor*) genotypes on its yield and juice quality for jaggery preparation. **Indian Journal of Agronomy**, v.39, p.415-417, 1994.

NOVACANA. As projeções de produção de cana, açúcar e etanol para a safra 2023/24 da Fiesp/MB Agro. Disponível em: <<http://www.novacana.com/estudos/projecoes-producao-cana-acucar-etanol-safra-2023-2024-fiesp-mb-agro/>> Acesso em 20/05/2014

NTAIKOU, I.; GAVALA, H. N.; LYBERATOS, G. Application of a modified anaerobic digestion model 1 version for fermentative hydrogen production from sweet sorghum extract by *Ruminococcus albus*. **International Journal Hydrogen Energy**. v.35,p.3423–3432, 2010.

OLIVEIRA, L. C. **Indústria de etanol no Brasil: uma estrutura de mercado em mudança**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Econômico) - Setor de Ciências Sociais Aplicadas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

OLIVEIRA, D.; ESQUIAVETO, M.M.M.; SILVA JÚNIOR, J.F. Impacto dos itens da especificação do açúcar na indústria alimentícia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, p. 99-102, 2007.

OTTMAN, M. J.; MILLER, A.N. Irrigation frequency effects on growth and ethanol yield in sweet sorghum. **Agronomy Journal**, v. 102, n 1, p. 60-70, 2010.

PANAGIOTOPOULOS, I. A.; BAKKER, R.R.; DE VRIJE, T.; KOUKIOS, E. G.; CLAASSEN, P.A.M. Pretreatment of sweet sorghum bagasse for hydrogen production by *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. **International Journal Hydrogen Energy**. v.35, p.7738–7747, 2010.

PASQUAL, J.C. **Projetos de Bioenergia e Créditos de Carbono: do passivo à sustentabilidade ambiental em uma propriedade suinícola**. 124 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

PRASAD, S.; SINGH, A.; JAIN N.; JOSHI, H. C. Ethanol production from sweet sorghum syrup for utilization as automotive fuel in India. **Energy and Fuels**, v. 21, p. 2415-2420, 2007.

PIMENTEL D. Ethanol fuels: energy balance, economics, and environmental impacts are negative. **Natural Resources Research**, v. 12, p.127-134. 2003.

QUDSIEH, H. Y. M.; YUSOF, S.; OSMAN, A.; RAHMAN, R. A. Physico-chemical changes in sugarcane (*Saccharum officinarum* var yellow cane) and the extracted juice at different portions of the stem during development and maturation. **Food Chemistry**, v.75, p. 131-137, 2011.

RAJKUMARA, S. Lodging in cereals – a review. **Agricola Review**. v. 29, p. 55–60, 2008

RANK, M.; GRAM, J.; NIELSEN, K.S.; DANIELSSON, B. On line monitoring of ethanol, acetaldehyde and glycerol during industrial fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 42, p. 813-817, 1995.

RATNAVATHI, C.; CHAKRAVARTHY, S.; KOMALA, V.; CHAVAN, U.; PATIL, J. Sweet sorghum as feedstock for biofuel production: a review. **Sugar Technology reviews**, v. 13, p. 399-407, 2011.

RATNAVATHI, C.V.; SURESH, K.; VIJAY KUMAR, B. S.; PALLAVI, M.; KOMALA, V.; SEETHARAMA, N. Study on genotypic variation for ethanol production from sweet sorghum juice, **Biomass and Bioenergy**, v. 34, p. 947-952, 2010.

REDDY, B.V.S.; RAMESH, S.; ASHOK, K. A.; WANI, S.P.; ORTIZ, R.; CEBALLOS, H.; SREEDEVI, T. K. Bio-fuel crops research for energy security and rural development in developing countries. **Bioenergy Research**. v. 1, p. 248–258, 2008.

REGULY, J. C. **Biotecnologia dos processos fermentativos: Matérias-primas agrícolas, processos e produtos**. Pelotas: Universitária/UFPEL. v. 1, 330 p. 1996.

RESTLE, J.; VAZ, F.N.; SILVA, N.L.Q.; BERNARDES, R.A.L.C.; PEROTTONI, J. **Aspectos qualitativos da carcaça e carne de novilhos, terminados aos 24 meses, com diferentes silagens de sorgo**. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35. 1998, Botucatu. Anais ... Botucatu, SP: SBZ, 3p, 1998.

RIBAS, P. M. **Sorgo: Introdução e Importância Econômica**. Sete Lagoas-MG: EMBRAPA, 16 p. (Documento 23), 2003.

RICHTER, K.; BERTHOLD, C. Biotechnological conversion of sugar and starchy crops into lactic acid. **Journal of Agricultural Engineering**. v. 71, p. 181–191, 1998.

ROSILLO-CALLE, F.; CORTEZ, L. A. B. Towards proalcool II - a review of the Brazilian bioethanol programme. **Biomass and Bioenergy**. v. 14, p. 115–124, 1998.

RUIS, H.; SCHULLER, C. Stress signaling in yeast. **Bioessays**, v.17, p. 959-965, 1995.

SAMUEL, W.A.; LEE, Y.Y.; ANTHONY, W.B. Lactic acid fermentation of crude **sorghum extract**. **Biotechnology and Bioengineering**. v. **22**, p. **757–777**, 1980.

SANTOS, F. G.; CASELA, C. R.; WAQUIL, J. M. Melhoramento de sorgo. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2. ed. Viçosa: UFV, p. 605-658, 2005.

SARAPHIROM, P.; REUNGSANG, A. Biological hydrogen production from sweet sorghum syrup by mixed cultures using an anaerobic sequencing batch reactor (ASBR). **International Journal Hydrogen Energy**. v. 36, p.8765–8773, 2011.

SAXENA, R.C.; ADHIKARI, D.K.; GOYAL, H.B. Biomass-based energy fuel through biochemical routes: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.13, p.167-178, 2009.

SCANDIFFIO, M.I.G. **Análise Prospectiva do Etanol Combustível no Brasil - Cenários 2004-2024**. 145 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil, 2005.

SCHULZ, M. A. **Produção de bioetanol a partir de rejeitos da bananicultura: polpa e cascas de banana**. 103 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) – Programa de Mestrado em Engenharia de Processos, Universidade da Região de Joinville, Joinville, 2010.

SCIPIONIO, G. C. **Otimização do processo de sacarificação do amido de batata (*solanum tuberosum* L.) utilizando enzimas amilolíticas**. 126 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil 2011.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, p.507-512, 1974.

SILVA, C. E. C. **Avaliação dos condicionantes ambientais na perspectiva de expansão da produção de etanol.** 110 f. Dissertação (Mestrado em Planejamento Energético) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia, 2010.

SILVA, C. M. R. **Uso do teste de Scott-Knott e da análise de agrupamentos, na obtenção de grupos de locais para experimentos com cana-de-açúcar.** 123 f Dissertação (Mestrado em estatística e experimentação agrônômica) - Universidade de Sao Paulo. Escola superior de agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2010.

SIPOS, B.; RECZEY, J.; SOMORAI, Z.; KADAR, Z.; DIENES, D.; RECZEY, K.; Sweet sorghum as feedstock for ethanol production: enzymatic hydrolysis of steam pretreated bagasse. **Applied Biochemistry and Biotechnology** , v. 153, p. 151-162, 2009.

SIQUEIRA, P. F.; KARP, S. G.; CARVALHO, J. C.; STURM, W.; RODRÍGUEZ-LEÓN, J. A.; THOLOZAN, J. L.; SINGHANIA, R. R.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Production of bio-ethanol from soybean molasses by *Saccharomyces cerevisiae* at laboratory, pilot and industrial scales. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8156–8163, 2008.

SOUZA, C. C.; DANTAS, J. P.; SILVA, S. de M.; SOUZA, V. C. de; ALMEIDA, F. A. de; SILVA, L. E. da. . Produtividade do sorgo granífero cv. sacarino e qualidade de produtos formulados isoladamente ou combinados ao caldo de cana-de-açúcar. **Ciência e Tecnologiade Alimentos**, Campinas, v.25, n. 3, p. 512-517, 2005.

SOUZA, V.F.; PARRELLA, R.A.C; TARDIN, S.D; COSTA, M.R; JUNIOR, G.A.C; SCHAFFERT, R.E. ADA Stability and stability of sweet sorghum cultivars. Crop Breeding and Applied. **Biotechnology**, v.13, n.2, 2013 .

SMITH G. A.; BUXTON, D.R. Temperate zone sweet sorghum ethanol production potential.**Bioresource Technology**. v.43, p.71-75, 1993.

SRINIVASA, R. P.; SANJANA R. P.; RATHORE A.; REDDY B. V. S.; PANWAR, S. Application of GGE biplot and AMMI model to evaluate sweet sorghum hybrids for genotype

9 environment interaction and seasonal adaptation. **Indian Journal of Agricultural Research**. v. 81, p.438–444, 2009.

SPIER, M.R. **Produção de enzimas amilolíticas fúngicas α -amilase e amiloglucosidase por fermentação no estado sólido**. 146 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

TARDIN, F.D.; CASASANTA, E.C.; PARRELLA, R.A. da C.; SILVA, A.F.; BALDONI, A.B.; SOUZA, M.C.; BOTIN, A.A.; ZANATTO, I.B.; RAMOS, E.U.; SCHAFFERT, R.E. Desempenho Agrônômico de Genótipos de Sorgo Sacarino Cultivados em Sinop-MT na Safra 2011/12. **Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, 29, Águas de Lindóia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, p. 2389-2395, 2012.

TAYLOR, J.R.N.; SCHOBBER, T.J.; BEAN, S.R. Novel food and non-food uses for sorghum and millets. **Journal of Cereal Science**, v. 44, p. 252–271, 2006.

TEETOR, V. H.; DUCLOS, D. V.; YOUNG, K. M.; CHAWHUAYMAK, J.; RILEY, M. R.; RAY, D. T. Effects of planting date on sugar and ethanol yield of sweet sorghum grown in Arizona. **Industrial Crops and Products**, Tucson, v. 34, n. 2, p. 1293-1300, 2011.

TEIXEIRA, C. G.; JARDINE, J. G.; BEISMAN, D. A. Utilização do sorgo sacarino como matéria-prima complementar à cana-de-açúcar para obtenção de etanol em microdestilaria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, p. 221- 229, 1997.

TEIXEIRA, C. G.; JARDINE, J. G.; ZARONE, M. H. Influência da época de corte sobre o teor de açúcares de colmos de sorgo sacarino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 1601-1606, 1999.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Review: Starch Composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v.39, p.151-165, 2004.

THOMAS, K. C.; HYNES, S. H.; INGLEDEW, W. M.; Influence of Medium Buffering Capacity on Inhibition of *Saccharomyces cerevisiae* Growth by Acetic and Lactic Acids. **Applied and Environmental Microbiology**. vol. 68, no. 4, p. 1616-1623, 2002.

TSUCHIHASHI, N.; GOTO, Y. Cultivation of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) and determination of its harvest time to make use as the raw material for fermentation, practiced during rainy season in dry land of Indonesia. **Plant Production Science**, v. 7, p. 442-448, 2004.

TSUNECHIRO, A.; MARIANO, R.M.; MARTINS, V.A. Produção e preços de sorgo no Estado de São Paulo, 1991-2001. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.1, n.1, p.15-24, 2002.

UDOP- União dos produtores de Bioenergia. **Retomada: US\$ 65 bi investidos em novas usinas renderão US\$ 62 bi em impostos.** Disponível em <<http://www.udop.com.br/index.php?item=noticias&cod=1082044#nc>>. Acesso em 05/03/2013.

UNICA – União da Indústria de Cana-de-açúcar. **Indústria brasileira de cana-de-açúcar: uma trajetória de evolução.** Disponível em <<http://www.unica.com.br/linhadotempo/linhadotempo.html>>. Acesso em 01/03/2014.

UNICA – União da Indústria de Cana-de-Açúcar. **Setor Sucroenergético – Histórico.** Disponível em <<http://www.unica.com.br/content/show.asp?cntCode=11891360-41CC-459C-9A22-191506941834>>. Acesso em 22/10/2013.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant.** New York, 1994, 476 p.

VASILAKOGLU, I.; DHIMA, K.; KARAGIANNIDIS, N.; GATSIS, T. Sweet sorghum productivity for biofuels under increased soil salinity and reduced irrigation. **Field Crops Research**. v. 120, 38–46, 2011.

VEIGA, A. C. Aspectos econômicos da cultura do sorgo. **Informe Agropecuário: Sorgo: uma opção agrícola**, Belo Horizonte, vol. 12, p. 3-5, 1986.

VIÉGAS, M. C. **Otimização de Sistema de Fermentação Alcoólica Contínua Utilizando Reatores Tipo Torre e Leveduras com Características Floculantes**. 135 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP. 2003.

VENENDAAL, R; JORGENSEN, U.; FOSTERS, C.A. European energy crops: a synthesis. **Biomass Bioenerg.** v.13, 147-155, 1997.

VIEIRA M. R. **Produtividade, análises químico-bromatológicas e nutrição mineral de plantas de sorgo forrageiro irrigadas com águas salinas**. 97f. Dissertação (mestrado em Irrigação e Drenagem. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

VRIES, S. C.; VAN DE VEN, G. W. J.; VAN ITTERSUM, M. K.; GILLER, K. E. Resource use efficiency and environmental performance of nine major biofuel crops, processed by first-generation conversion techniques. **Biomass Bioenergy.** v. 34, 588–601, 2010.

WANG, M. L.; ZHU, C.; BARKLEY, N. A.; CHEN, Z.; ERPELDING, J. E.; MURRAY, S. C.; TUINSTRA, M. R.; TESSO, T.; PEDERSON, G. A.; YU, J. Genetic diversity and population structure analysis of accessions in the US historic sweet sorghum collection. **Theoretical and applied genetics**, v.120, p. 13-23, 2009.

WEBSTER, J.E.; BENEFIELD, D.; DAVIES, F. Yield and composition of sorghum juice in relation to time of harvest in Oklahoma. **Agronomy Journal**, v.46, p.157-160, 1984.

WHITE, J.S.; BOLSEN, K.K.; POSLER, G. Forage sorghum dry matter disappearance as influenced by plant part proportion. **Animal Feed Science and Technology**, v.33, p.313-322, 1991.

WHITFIELD, B. W.; CHINN, M. S.; VEAL, M. W. Processing of materials derived from sweet sorghum for biobased products. **Industrial Crops and Products**, 37, 362-375, 2012.

WILKIE, A. C.; RIEDESEL, K. J.; OWEND, J. M. Silage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feed stocks. **Biomass Bioenergy**, v.19, p.63-102, 2000.

WORLEY, J. W.; CUNDIFF, J. S.; VAUGHAN, D. H. Potential economic return from fiber residues produced as by-products of juice expression from sweet sorghum. **Bioresource Technology**, v. 41, p.153–159, 1992.

WORTMANN, C. S.; LISKA, A.J.; FERGUSON, R. B.; LYON, D. J.; KLEIN, R.M.; DWEIKAT, I. Dryland performance of sweet sorghum and grain crops for biofuel. **Agronomy Journal**, v. 102, p. 319–326, 2010.

WU, L.; LI, Y.; ARAKANE, M.; IKE, M.; WADA, M.; TERAJIMA, Y.; ISHIKAWA, S.; TOKUYASU, K. Efficient conversion of sugarcane stalks into ethanol employing low temperature alkali pretreatment method. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 11183–11188, 2011.

WU, X.; STAGGENBORG, S.; PROPHTER, J. L.; ROONEY, W. L. Features of sweet sorghum juice and their performance in ethanol fermentation. **Industrial Crops and Products**, v. 31, p. 164-170, 2010.

YING, G.; HU, S.; LI, Y.; CHEN, D.; ZHU, B.; SMITH, K. M. Optimization and analysis of a bioethanol agro-industrial system from sweet sorghum. **Renewable Energy**, v. 35, p. 2902-2909, 2010.

YU, J.; ZHANG, X.; TAN, T. Optimization of media conditions for the production of ethanol from sweet sorghum juice by immobilized *Saccharomyces cerevisiae*. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, p. 5210-526, 2009.

ZEGADA-LIZARAZU, W.; MONTI, A. Are we ready to cultivate sweet sorghum as a bioenergy feedstock? A review on field management practices. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 40, p. 1-12, 2012.

ZHANG, C. X.; XIE, G.D.; LI, S. M.; GE, L. Q.; HE, T. T. The productive potentials of sweet sorghum ethanol in China. **Applied Energy**, v. 87, p. 2360–2368, 2010.

ZHANG, X.; SHEN, Y.; SHI, W.; BAO, X. Ethanol cofermentation with glucose and xylose by the recombinant industrial strain *Saccharomyces cerevisiae*. NAN-127 and the effect of furfural on xylitol production. **Bioresource Technology**, v.18, p.7104 – 7110, 2010.

ZHAO, Y. L.; DOLAT, A.; STEINBERGER, Y.; WANG, X.; AMARJAN, O.; XIE, G.H. Biomass yield and changes in chemical composition of sweet sorghum cultivars grown for biofuel. **Field Crops Research**, v. 111, p. 55–64, 2009.

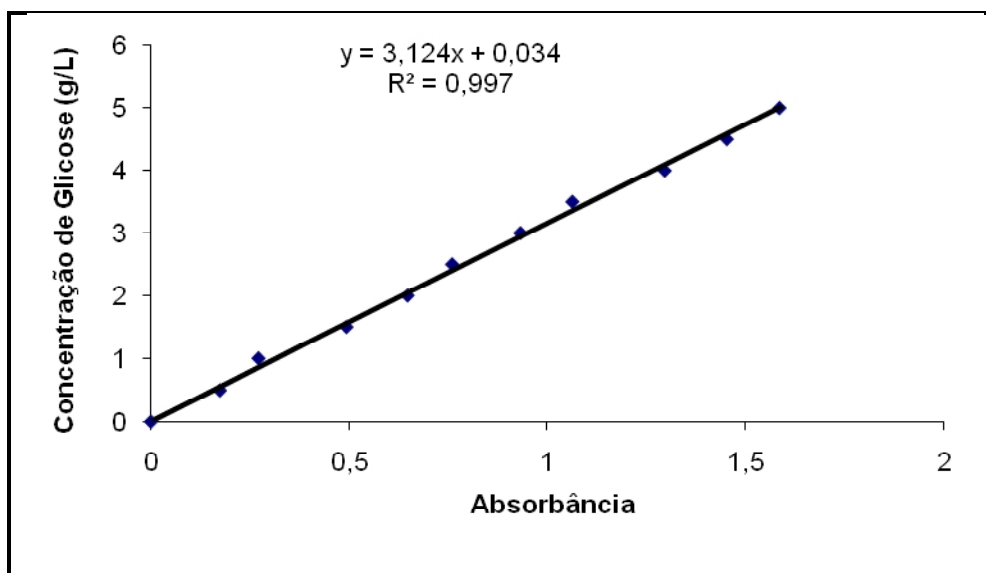
CAPITULO 7

ANEXO A

A1 - CURVA PADRÃO DE GLICOSE

Abaixo, os dados utilizados para determinação da curva padrão de glicose, bem como o gráfico e a equação da curva padrão

Absorbância (λ)	Concentração de glicose (g/L)
0	0
0,174	0,5
0,2715	1
0,4935	1,5
0,648	2
0,7605	2,5
0,933	3
1,064	3,5
1,297	4
1,454	4,5
1,587	5



A2 - DETERMINAÇÃO DE FIBRA - METODOLOGIA FERMENTEC

a) Preparo da amostra

- Homogeneizar em betoneira equipada com protetor contra perda de umidade da amostra desintegrada, a amostra retirada da sonda, e retirar e pesar 500 g desta amostra de sorgo em balança eletrônica de prato externo.
- Prensar a amostra a 250 Kg/cm^2 durante 1 minuto, em prensa hidráulica automática de onde se recolherá o caldo (o bagaço proveniente desta prensagem é chamado de “Bolo Úmido” - PBU)
- Obter o peso do bolo úmido em balança eletrônica.

b) Cálculos

Os cálculos do teor de fibra podem ser calculados utilizando a seguinte equação

$$F (\%) = (PBU \times 0,08) + 0,8760$$

A3 - DETERMINAÇÃO DE AMIDO

A concentração de amido em caldo de cana-de-açúcar foi determinada pelo método adotado oficialmente na indústria açucareira da Austrália (2001) e usado no Centro de Tecnologia Canavieira da Coopersucar (2005).

Para a determinação de amido em caldo de cana-de-açúcar, uma amostra de 50 mL de caldo de cana foi filtrada em algodão, desprezando-se os primeiros 10 mL do filtrado. Amostras de 3,6g foram pesadas em dois balões volumétricos de 50 mL identificados como balão 1 (prova em branco) e balão 2 (amostra).

Foi adicionado em cada balão 15mL da solução de cloreto de cálcio (solução 40% de cloreto de cálcio ajustada o para pH 3,0 com ácido acético à 0,033 mol/L) e em seguida a mistura foi homogeneizada. Os balões foram fechados e colocados em banho de água em ebulição por 15 min. Os balões foram removidos do banho, resfriados em água corrente até a

temperatura ambiente. Em seguida foi adicionado em cada balão 15 mL de solução de ácido acético 0,033 mol/L.

No balão 1 (prova em branco) foi adicionado água deionizada até completar o volume. No balão 2 (amostra) foi adicionado 10 mL da solução de Iodeto/Iodato de potássio (ver preparo no final) e o volume de 50 mL completado com água deionizada. A solução foi homogeneizada. Após homogeneização, e repouso de 10 minutos as soluções foram medidas a 540 nm. (obs: primeiro a leitura com o branco para zerar o espectro, depois fazer a leitura da amostra).

Construção da Curva de calibração

Para a preparação da curva de calibração foi adicionado 3,60 g de sacarose PA em balões volumétricos de 50 mL (os que serão utilizadas para fazer as diluições). Também foram preparadas uma solução padrão de amido contendo 20 g/L de amido e a partir desta solução padrão preparou-se diferentes soluções de diferentes concentrações de amido. Adicionou-se em cada balão de 50 mL (juntamente com a sacarose) volumes de 2,5; 5; 7,5; 10 mL da solução de amido na concentração de 0; 1; 2; 3 e 4 g/L de amido. Os balões foram agitados para dissolução da sacarose.

Em seguida foi adicionado 15 mL de solução de cloreto de cálcio (solução 40% de cloreto de cálcio ajustada o para pH 3,0 com ácido acético à 0,033 mol/L) em cada balão. Os balões tampados foram colocados em banho-maria em ebulição. Após 15 minutos os balões foram retirados do banho e resfriados em água corrente até a temperatura ambiente.

Então, adicionou-se 15 mL de solução de ácido acético a 0,033 mol/L e em seguida foi adicionou-se 10 mL de solução de Iodeto/Iodato de Potássio em cada balão e o volume foi completado com água deionizada.

Após homogeneização, e repouso de 10 minutos as soluções foram medidas a 700 nm, utilizando água destilada como branco.

Preparo da Solução Iodeto/Iodato de Potássio:

Colocou-se 10,0 mL de solução a 10% de iodeto de potássio em 90,0 mL de água deionizada juntamente com 100,0 mL de solução de iodato de potássio a 0,0017 mol/L).

A4 - DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO.

O método baseia-se na formação de um composto amarelo do sistema vanadomolibdo fosfórico em acidez de 0,2 a 1,6:

**a) - Reagentes**

- Solução aquosa de molibdato de amônio a 5% $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$: em becker de 1.000 mL colocar cerca de 400 mL de água destilada quente. A seguir, acrescentar aos poucos e agitando até dissolver 25 g de molibdato de amônio. Esperar esfriar e passar para balão volumétrico de 500 mL, lavando o becker com porções de água destilada fria até completar o volume do balão e homogeneizar. Guardar esse reativo em frasco âmbar.
- Solução de metavanato de amônio a 0,25% (NH_4VO_3) : em becker de 1.000 mL contendo cerca de 400 mL de água destilada quente adicionar 1,25 g de NH_4VO_3 e agitar até dissolver. Acrescentar 175 mL de HNO_3 concentrado e esfriar. Passar para balão volumétrico de 500 mL, lavando o becker com porções de água destilada fria até completar o volume do balão e homogeneizar. Guardar esse reativo em frasco âmbar.
- Reativo misturado: misturar partes iguais de molibdato de amônio 5% com metavanadato de amônio a 0,25%, homogeneizar e guardar em refrigerador.

OBSERVAÇÃO: De preferência deve-se misturar o reativo um pouco antes de utilizá-lo, pois em refrigerador tem a duração aproximada de uma semana.

SUGESTÃO: Preparar a quantidade de reativo em função do número de amostras. Exemplo: 50 amostras = 2 mL reativo/amostra = 100 mL do reativo.

- Solução-estoque de fósforo (80 ppm de P): em balão volumétrico de 1.000 mL contendo cerca de 300 mL de água destilada e 10,0 mL de H_2SO_4 10 N (280 mL H_2SO_4 concentrado/l) adicionar 0,3509 g de KH_2PO_4 (fosfato monobásico ou biácido de potássio) seco em estufa por 2 horas a 70-80°C e resfriado em dessecador. Agitar e completar o volume com água destilada.

- **Soluções-padrão de fósforo:** em balões volumétricos de 100 ml adicionar através de uma bureta: 0,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0 e 25,0 ml da solução estoque de P (80 ppm), 4,0 ml de H_2SO_4 10 N, completar o volume com água destilada e homogeneizar. Essas soluções contem, respectivamente, 0,0, 4,0, 8,0, 12,0, 16,0 e 20,0 ppm de P.

b) Procedimento analítico

- Obtenção da curva-padrão

- 1- Pipetar 5,0 mL dos padrões para tubo de colorímetro;
- 2 - Adicionar 2,0 mL do reativo misturado e homogeneizar;
- 3 - Deixar em repouso por 5 minutos e ler em colorímetro utilizando filtro azul, ou seja, $\lambda = 420$ nm, sendo que essa leitura pode ser feita até 30 horas após adição do reativo colorido;
- 4 - Colocar em eixos coordenados, sendo as concentrações de fósforo na abscissa (0, 20, 40, 60, 80 e 100 mg P/5 mL) e na ordenada as leituras obtidas (absorbância = A).

- No extrato vegetal

- 1 - Pipetar 1,0 ou 2,0 mL do extrato nítrico-perclórico (Extrato B) para tubo de colorímetro;
- 2 - Adicionar 4,0 ou 3,0 ml de água destilada, 2,0 mL do reativo colorido e homogeneizar;
- 3 - Daqui por diante prosseguir conforme o descrito para a curva-padrão.

c) Cálculos

- 1 - Quantidade de caldo (MS) utilizado, supondo ter-se utilizado 1,0 mL do extrato nítrico-perclórico (0,5 g MS/50 mL).

$$0,5 \text{ g MS} \text{ ————— } 50 \text{ ml}$$

$$X \text{ ————— } 1 \text{ ml}$$

$$\text{onde: } X = 0,01 \text{ g MS}$$

2 -

0,01 g MS ————— C (µg P/5 ml)

100 g MS ————— % P

$$\% P = \frac{10^2 \times C \times 10^{-6}}{10^{-2}} = 0,01 \times C$$

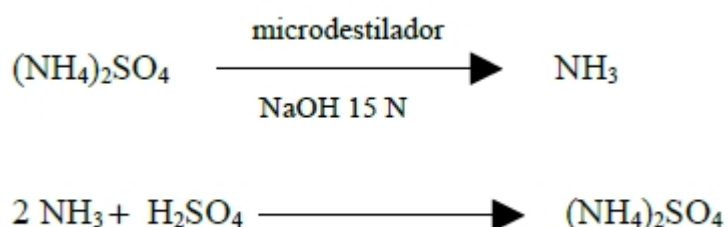
C = Concentração de fósforo no extrato (µg P/5 mL) determinada através de curva padrão.

A5 - DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO

Método - Semi-micro-Kjeldahl

a) Princípio do método

Transformação do nitrogênio amoniacal $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ em amônia (NH_3), a qual é fixada pelo ácido bórico e posteriormente titulada com, H_2SO_4 até nova formação de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ na presença de indicador de ácido/base.



b) Reagentes

- Solução de NaOH 18 N (aproximadamente): pesar 18 vezes o equivalente da soda (40 g) = 720 g e passar para becker de 500 mL contendo 200 mL de água destilada. Agitar e dissolver completamente, adicionando mais água destilada. Deixar esfriar, passar o conteúdo para balão volumétrico de 1.000 mL; esfriar e completar o volume do balão. Transferir para frasco com tampa plástica.
- Solução de H_2SO_4 0,02N: preparar a partir de H_2SO_4 mais diluído, como por exemplo H_2SO_4 1,0 N (28 mL de H_2SO_4 concentrado/l), a partir deste preparar H_2SO_4 0,1N (100 ml H_2SO_4 0,1N/l) e finalmente 200 ml de H_2SO_4 0,1N/l. Padronizar com NaOH 0,1 N, titrisol, ou por outro método indicado.

- Solução de ácido bórico e indicadores: dissolver 20 g de ácido bórico em 1 litro de água destilada, juntar 15 mL de uma solução alcoólica de verde de bromocresol a 0,1 % e 6 mL de uma solução alcoólica de vermelho de metila a 0,1 %.

c) Metodologia analítica

- Transferir para o micro-destilador o caldo de sorgo após digestão, usando pequenas porções de água destilada para lavagem;
- Começar o aquecimento da água do micro-destilador;
- Colocar 10 mL da solução de ácido bórico com indicador em erlenmeyer de 50 mL e fazer com que a saída do micro-destilador mergulhe na solução;
- Graduar o copo de entrada do micro-destilador aos volumes de 10 e 15 mL;
- Fechar a torneira superior e medir, diretamente no copo da entrada do aparelho, 10 a 15 mL de NaOH 18 N. Em seguida, abrir a torneira, admitindo a soda.
- Lavar rapidamente o copo com água destilada;
- Fechar ambas as torneiras e elevar a temperatura do micro-destilador. Deixar destilando até o volume da solução de ácido bórico com indicador passe a aproximadamente o dobro do volume original;
- Titular a amônia destilada com H_2SO_4 0,02 N até que o indicador vire de verde para azul-cinza. Anotar o volume de ácido gasto.

d) Cálculos

$$\begin{array}{ccc} \text{a. } 1 \text{ mL } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ 0,02 N} & \xrightarrow{\text{reage}} & 0,02 \text{ meq N} \\ & \xrightarrow{\quad V \quad} & X \quad \text{onde: } X = 0,02 V \text{ meq N} \end{array}$$

$$\text{b. } n^\circ \text{ meq N} = \frac{\text{mg N}}{\text{Eq N}}$$

$$\text{Eq N} = \frac{14}{1} = 14$$

$$0,02 \text{ V meq N} = \frac{\text{mg N}}{14} \quad \text{onde: mg N} = 0,28 \text{ V}$$

$$\text{c. } 0,28 \text{ mg N} \rightarrow 100 \text{ mg amostra}$$

$$\therefore \% \text{ N} = 0,28 \text{ V ou g.kg}^{-1} \text{ N} = 2,8 \text{ V}$$

V= Volume de H₂SO₄ 0,02 N gasto na titulação da amostra.

OBSERVAÇÃO : Fazer prova em branco (sem adição do caldo de sorgo).

A6 - CÁLCIO E MAGNÉSIO

Espectrofotometria de absorção atômica para cálcio e magnésio

a) Princípio do método

Mesmo princípio resumido na quantificação do potássio, utilizando-se, porém lâmpada de arco de descarga (ou de cátodo oco) de cálcio-magnésio ou individuais, sendo que para a determinação desses dois elementos é necessária a adição de lantânio ou estrôncio para prevenir interferências ocasionadas pela presença de fosfatos e de alumínio. Assim, o lantânio ou o estrôncio evitam a formação de compostos termicamente estáveis entre magnésio ou cálcio com fosfatos e alumínio.

b) Reagentes

Solução-estoque de cálcio ou de magnésio

- Solução-estoque de cálcio contendo 500 ppm de Ca: em becker de 250 mL acrescentar aproximadamente 100 mL de água deionizada, 30 mL de HNO₃, 1,250g de CaCO₃ seco em estufa por 2 horas a 100°C. Agitar cuidadosamente até dissolver e passar o conteúdo do beker para balão volumétrico de 1000 mL, completando o volume com água deionizada.
- Solução-estoque de magnésio contendo 100 ppm de Mg: em balão volumétrico de 1.000 mL contendo aproximadamente 500 mL de água deionizada adicionar 1,014 g de MgSO₄.7H₂O e completar o volume com água deionizada após a dissolução do sal.

Devido ao elevado número de moléculas de água de hidratação desse sal é conveniente substituir o mesmo por magnésio metálico (100 mg de magnésio metálico + 2 mL HCl a 50% e completar o volume a 1000 mL), ou mesmo por padrão tritisol.

- Solução-padrão múltipla (100 ppm de Ca): colocar 10 ppm de magnésio e 50ppm de potássio em balão volumétrico de 100mL, acrescentar 10 mL da solução estoque de cálcio (500 ppm), 10 mL da solução-estoque de magnésio (100 ppm) e 10 mL da solução-estoque de potássio (550 ppm), caso também se determine o teor desse elemento no substrato.
- Solução de trabalho de cálcio, magnésio e potássio: em balões volumétricos de 50 mL adicionar as quantidades da solução-padrão múltipla, conforme apresentado na tabela A1.

Tabela A1- Quantidade e concentrações da solução-padrão e da solução de trabalho¹.

Balão de 50 ml (n°)	Solução-padrão Ca-Mg-K (ml)	Solução de trabalho		
		Ca	Mg (ppm)	K
0	0	0	0,0	0
1	1	2	0,2	1
2	2	4	0,4	2
3	3	6	0,6	3
4	4	8	0,8	4
5	5	10	1,0	5
6	6	12	1,2	6
7	7	14	1,4	7
8	8	16	1,6	8

¹ Adicionar 5 mL da solução de lantânio a 5% ou de estrôncio a 5% e completar o volume com água deionizada.

- Solução de lantânio a 5% ou de estrôncio a 5%: em balão volumétrico de 1.000mL acrescentar cerca de 250 mL de água deionizada, 58,5 g de La₂O₃ ou 76,072 g de SrCl₂.6H₂O, 125 mL de HCl concentrado e completar o volume a 1000 mL com água deionizada.

c) Procedimento analítico

Proceder às leituras das soluções-padrão ou do extrato nítrico-perclórico (Extrato B:

0,5 g MS/50 mL), transferindo 0,5 mL desse extrato para copo plástico, acrescentando 22,0 mL de água deionizada e 2,5 mL da solução de lantânio ou estrôncio a 5% e homogeneizando. Obter as leituras ajustando o aparelho às condições de trabalho.

d) Cálculos

Assim, tem-se que a porcentagem desses elementos pode ser expressa por: % E= C x 0,50 (C= Concentração (ppm) do extrato diluído, determinada através das curvas-padrão com as soluções de leitura.

A7 - CALCULO DO VOLUME DE ETANOL POR HECTARE DE SORGO SACARINO (L. etanol/ha):

$$\frac{L_{etanol}}{ha} = \frac{L_{caldo}}{ton_{coimo}} \times \frac{g_{açucar}}{L_{caldo}} \times \frac{ton_{coimo}}{ha} \times Y_{P/AT} \times \frac{1}{densidade_{etanol}} \times \frac{1 L}{1000 ml}$$

Onde:

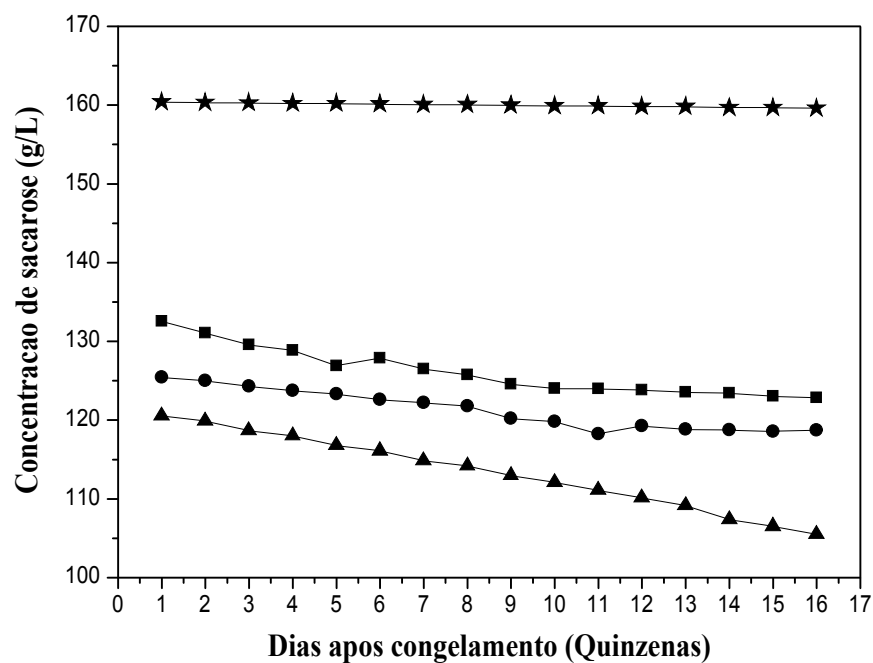
Densidade do etanol = 0,789 g/mL

$Y_{P/AT}$ = Calculado utilizando Tabela 4.1 e equação 3.1 para cada cultivar.

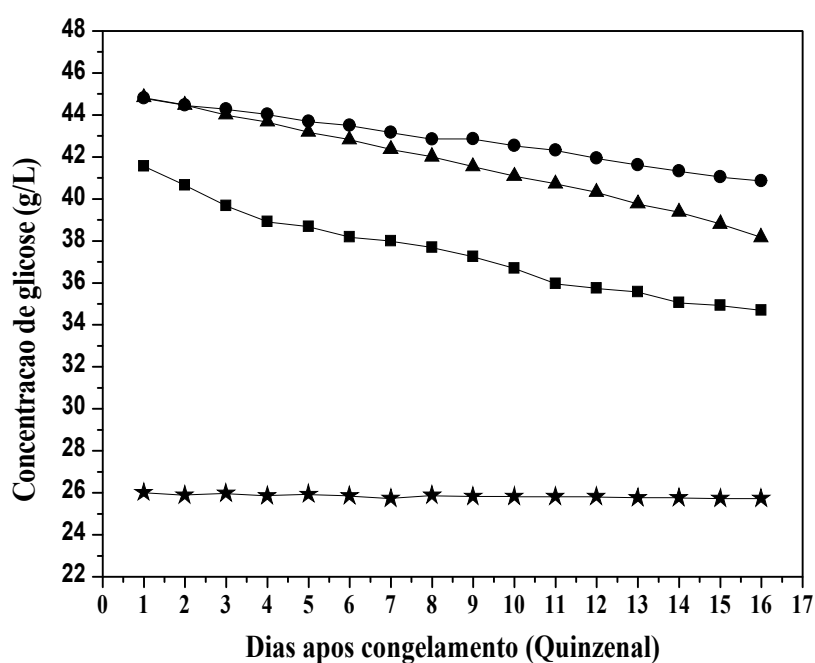
CAPITULO 8

APÊNDICE

Apêndice (A1): Acompanhamento de sacarose presente no caldo do sorgo sacarino da cultivar BRS 508 (■), BRS 509 (●), BRS 509 com podridão vermelha (▲) e cana-de-açúcar (★) em função do tempo de congelamento



Apêndice (A2): Acompanhamento de glicose presente no caldo do sorgo sacarino da cultivar BRS 508 (■), BRS 509 (●), BRS 509 com podridão vermelha (▲) e cana-de-açúcar (★) em função do tempo de congelamento



Apêndice (A2): Acompanhamento de frutose presente no caldo do sorgo sacarino da cultivar BRS 508 (■), BRS 509 (●), BRS 509 com podridão vermelha (▲) e cana-de-açúcar (★) em função do tempo de congelamento

