

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

**EXTRATOS DE MORINGA NO TRATAMENTO DO CALDO
DE CANA E REFLEXOS SOBRE A FERMENTAÇÃO
ALCOÓLICA**

Rita de Cassia Vieira Macri
Bacharel em Química Industrial

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

**EXTRATOS DE MORINGA NO TRATAMENTO DO CALDO
DE CANA E REFLEXOS SOBRE A FERMENTAÇÃO
ALCOÓLICA**

Rita de Cassia Vieira Macri

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp,
Campus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Agronomia (Produção Vegetal)

2014

Macri, Rita de Cassia Vieira
M174e Extratos de moringa no tratamento do caldo de cana e reflexos
sobre a fermentação alcoólica / Rita de Cassia Vieira Macri. --
Jaboticabal, 2014
iv, 46 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014
Orientadora: Marcia Justino Rossini Mutton
Banca examinadora: Leonardo Lucas Madaleno , Luciana Maria
Saran
Bibliografia

1. Clarificação do caldo. 2.Moringa oleífera I. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 663.52

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

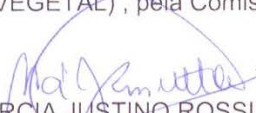
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EXTRATOS DE MORINGA NO TRATAMENTO DO CALDO DE CANA E REFLEXOS SOBRE A FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

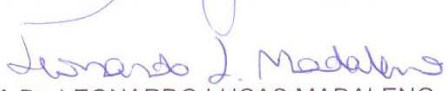
AUTORA: RITA DE CÁSSIA VIEIRA MACRI

ORIENTADORA: Profa. Dra. MARCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. MARCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON

Departamento de Tecnologia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. LEONARDO LUCAS MADALENO

FATEC / Jaboticabal/SP


Profa. Dra. LUCIANA MARIA SARAN

Departamento de Tecnologia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Data da realização: 02 de julho de 2014.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

RITA DE CASSIA VIEIRA MACRI - nasceu aos de julho 27 de 1963, na cidade de Jaboticabal, estado de São Paulo. Em 1984 concluiu o curso de graduação em Estudos Sociais na Faculdade de Educação São Luis de Jaboticabal SP. No ano de 1996 recebeu o Título de Graduação em Bacharelado em Química pela Faculdade de Ciências de Barretos (FEB). Concluiu o curso de Pós-Graduação em Didática: 'Prática Escolar nos Diferentes Níveis de Ensino, nível de Especialização Lato Sensu, na AJEC, Associação Jaboticabalense de Educação e Cultura. A partir de 1983 iniciou sua atividade profissional na USINA SANTA ADÉLIA S/A sendo a Química Responsável pela empresa até 2004. Em 2004 ingressa no setor acadêmico como Professora Especialista, na Faculdade Santa Giulia – FASG, Taquaritinga-SP. Atualmente é Professora Associada I na Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal (CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA “PAULA SOUZA”), no curso de Tecnologia em Biocombustíveis. Em março de 2012 ingressou no programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), em nível de mestrado da FCAV/UNESP de Jaboticabal-SP, obtendo o título de Mestre em Agronomia em julho de 2014.

Tudo parece impossível, até que seja feito.

(Nelson Mandela)

*A todos que colaboraram para que esta conquista fosse realizada, em especial
ao meu esposo Roney Amaro Macrí e a minha mãe Lourdes Calífre Vieira.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao complementar mais uma etapa em minha formação acadêmica, presto os meus sinceros agradecimentos aos que contribuíram para o alcance desta, especialmente a Deus, por ser fiel, justo, por realizar maravilhas em minha vida, por tudo que tenho recebido e pela força concedida para a realização dos meus sonhos.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, ao Programa de Produção Vegetal e aos professores do curso de pós-graduação pelo aperfeiçoamento profissional.

A Profa. Márcia Justino Rossini Mutton e ao Prof. Miguel Angelo Mutton pela oportunidade, confiança e ensinamentos ao longo do período da obtenção deste título.

A minha família, pelo incentivo e apoio durante o andamento do Curso, mesmo nos momentos de ausência.

Ao meu esposo Roney Amaro Macri, pelos momentos de compreensão e, principalmente, de incentivo para que eu buscasse mais esta conquista.

Ao grupo de Pesquisa do Laboratório de Açúcar e Alcool pelos trabalhos desenvolvidos e pela convivência neste período, em especial: Sérgio, Gustavo, Nayara Montijo, Aline, Lidyane, Juliana, Sílvia, Marcel, Osania, Vitor, Jorge, Cristhyane e Nayara Silvano, que não mediram esforços para me auxiliar durante os dias e noites em que o experimento foi realizado.

Aos professores e alunos do curso de Tecnologia em Biocombustíveis que sempre me incentivaram para a obtenção deste título.

A Usina Santa Adélia S/A pelo apoio no desenvolvimento deste estudo.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
1. INTRODUÇÃO	05
2. REVISÃO DE LITERATURA	07
2.1 Cana-de-açúcar	07
2.2 Extração e tratamento do caldo de cana.....	08
2.3 <i>Moringa oleífera</i> Lamarck.....	11
2.4 Preparo do mosto.....	12
2.5 Fermentação alcoólica.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Delineamento experimental.....	18
3.2 Características das variedades.....	18
3.3 Preparo e caracterização dos auxiliares de sedimentação.....	19
3.3.1 Extrato de folhas de moringa.....	19
3.3.2 Extrato de sementes de moringa.....	19
3.3.3 Polieletrólito sintético.....	19
3.3.4 Caracterização dos auxiliares de sedimentação.....	20
3.4 Determinação das dosagens dos auxiliares de sedimentação.....	20
3.5 Extração do caldo.....	20
3.6 Tratamento do caldo e preparo do mosto.....	20
3.7 Processo fermentativo e análise do vinho.....	21
3.7.1 Preparo do inóculo.....	22
3.7.2 Condução do processo fermentativo.....	21
3.8 Análise estatística.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 Caracterização dos auxiliares de sedimentação.....	23
4.2 Determinação das dosagens dos extratos de moringa.....	24
4.2.1 Extrato de folhas de moringa.....	24
4.2.2 Extrato de sementes de moringa.....	25
4.3 Caracterização do caldo extraído.....	26

4.4 Clarificação do caldo.....	28
4.5 Caracterização do mosto.....	31
4.6 Processo fermentativo.....	33
4.7 Caracterização dos vinhos.....	36
5. CONCLUSÕES.....	39
6. REFERÊNCIAS.....	40

EXTRATOS DE MORINGA NO TRATAMENTO DO CALDO DE CANA E REFLEXOS SOBRE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

RESUMO - Durante o processo de produção de etanol a partir de caldo de cana, realiza-se clarificação do caldo, objetivando remover compostos inibidores da levedura. Neste processo, utilizam-se polieletrólitos sintéticos a base de acrilamida, que auxiliam a sedimentação destes compostos. Contudo, a acrilamida apresenta ações neurotóxicas e cancerígena. Neste sentido deve-se buscar produtos, como extratos de moringa, para substituir os utilizados atualmente. Desta maneira, o objetivo do trabalho foi avaliar os reflexos do tratamento de caldo de cana, utilizando extratos de folhas e sementes de moringa, sobre a fermentação alcoólica. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em parcelas subdivididas, com quatro repetições. O tratamento primário foi constituído por três diferentes auxiliares de sedimentação (polieletrólito sintético, extrato de folhas e sementes de moringa) e um tratamento testemunha (sem adição de auxiliar de sedimentação), e o tratamento secundário por duas variedades de cana-de-açúcar (RB867515 e CTC4). Os colmos foram submetidos ao processo de extração e o caldo, clarificado por caleagem simples, com elevação do pH a 6,0. Os diferentes flocculantes foram adicionados no decantador previamente a adição do caldo caleado e aquecido. O caldo clarificado foi padronizado a 16°Brix e pH 4,5, originando o mosto, que foi inoculado com levedura FT858. Ao final da fermentação, o vinho foi obtido através de centrifugação. Em todas as etapas (caldo extraído, clarificado, mosto e vinho) foram realizadas análises tecnológicas e químicas. Observou-se maiores quantidades de açúcares no caldo extraído da variedade CTC4 em comparação a RB867515. Considerando-se o processo de clarificação do caldo, verificou-se valores de velocidade de sedimentação superiores quando utilizou-se polieletrólito sintético, porém todos flocculantes promoveram volume de lodo similar, com exceção do tratamento testemunha onde praticamente não houve sedimentação do lodo. A não precipitação dos fosfatos de cálcio, observado no tratamento testemunha, impactaram negativamente sobre a fisiologia da levedura em fermentação, porém não observou-se reflexos sobre a qualidade do vinho em comparação aos demais tratamentos. Conclui-se que a utilização de extratos de folhas e sementes de moringa, como auxiliares de sedimentação, promove maior compactação do lodo, é essencial para manutenção da quantidade de células e brotos vivos no início do processo fermentativo, e do índice de brotamento no final da fermentação, em comparação ao tratamento testemunha.

Palavras-chave: Clarificação do caldo, *Moringa oleífera* Lamarck, Caleagem simples, Polieletrólito, Etanol, *Saccharomyces cerevisiae*.

EXTRACTS OF MORINGA AT THE SUGAR CANE JUICE TREATMENT AND ITS REFLECTIONS ON ALCOHOLIC FERMENTATION

ABSTRACT- During the process of ethanol production from the sugar cane juice, it is taken clarifying of the juice, with the purpose of removing all the yeast inhibitors. In this process, it is used synthetic polyelectrolytes with acrylamide bases, and those help the subsidence of these compounds. However, the acrylamide can present neurotoxic and cancer damage. Because of these, it is necessary to look for another products, like extracts of *moringa*, in order to replace the extracts used now a days. In this way, the purpose of the project was to evaluate the reflections of the sugar cane juice treatment, using some leaves and seeds extracts from the *moringa*'s tree on alcoholic fermentations. The experimental lineation was totally randomized in split plots, with four repetitions. The primary treatment was constituted by three different sedimentation auxiliaries (synthetic polyelectrolyte, leaves and seeds extracts from *moringa*'s tree) and a control treatment (without sedimentation auxiliaries), and also a secondary treatment including two varieties of sugar cane (RB867515 and CTC4). The culms were submitted to the processo f extraction, and the juice was clarified by simple soaking, with a lifting at the pH to 6,0. The different flocculants were added to the decanter previously from the warmed and soaked sugar cane juice. This clarified juice was standardized to 16° Brix and pH 4,5, yielding the lushness, which was inoculated with the yeast FT858. In the end of the brewing, the wine was obtained through centrifugation. In all the process (juice extraction, clarification, lushness and wine), it was possible to do all the technological and chemical analysis. It was possible to note higher amounts of sugar inside the juice extracted from sugar cane type CTC4 compared to the other type RB867515. Considering the clarification process of the juice, it was possible to check the values of sedimentation speed in higher levels when it was used synthetic polyelectrolyte, but all the flocculants have promoted a similar Iodine content, but with the exception of the control treatment, which there was almost no sedimentation inside the Iodine. The non-precipitation of calcium phosphates, considered during the control treatment, had a negative impact over the yeast's physiology at the fermentation process, however, it was not observed any reflections about the quality of the wine when compared to the other treatments. It is possible to conclude that the use of leaves and seeds extract from *moringa*'s tree, as helpers at the sedimentation process, can promote higher rates of compression of Iodine, and this is essential to the maintenance of the amount of cells and live shoots since the beginning of the fermentation process and also the germinative indication at the end of the fermentation, compared to the control treatment.

Key words: Sugar cane juice clarification, *Moringa oleífera* Lamarck, Simple soaking, Polyelectrolyte, Ethanol, *Saccharomyces cerevisiae*.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente o etanol é um dos biocombustíveis mais produzidos no mundo, sendo os Estados Unidos e o Brasil os principais produtores. Estima-se que para a safra 2014/2015 serão produzidos aproximadamente 28,37 bilhões de litros de etanol somente no Brasil (CONAB, 2014).

No Brasil a matéria-prima utilizada é a cana-de-açúcar, que é processada em unidades industriais. Após extração, o caldo é submetido a tratamento para remoção de impurezas solúveis e insolúveis, sendo posteriormente adequado quanto as características químico-tecnológicas, resultando no mosto.

Entre as etapas de produção, deve-se ressaltar que o tratamento do caldo é fundamental para remoção de materiais e compostos inibidores da levedura em fermentação, tais como terra, bagacilhos, ácidos, compostos fenólicos, entre outros. Este processo inicia-se com a peneiragem do caldo extraído, seguido de tratamento químico, através da adição de hidróxido de cálcio, que resulta na formação de compostos insolúveis (fosfatos de cálcio) que precipitam e adsorvem biomoléculas tais como ácidos e compostos fenólicos.

A fim de acelerar a sedimentação destas partículas, são adicionados polieletrólitos a base de acrilamida, que agrupam estes elementos em flocos de peso e densidade maiores, que precipitam mais rapidamente.

Entretanto, a acrilamida apresenta ações cancerígena e neurotóxica em animais e humanos (OMS, 2002). Desta maneira, alguns países, como os Estados Unidos, limitaram a utilização em até 5 mg L⁻¹ destes polímeros no tratamento de caldo para produção de açúcar (FDA, 2012).

Deve-se considerar ainda, que o caldo clarificado pode apresentar resíduos de acrilamida, que pode ficar retida nas leveduras, as quais poderão ser comercializadas para produção de ração animal após processo de produção de etanol. Outro ponto a se considerar é o custo deste polieletrólito, o qual é comercializado no Brasil a preço médio de U\$6,00 kg⁻¹, sendo que utiliza-se aproximadamente 1 kg do produto para cada 250-500 toneladas de cana processada.

Considerando o exposto, buscam-se produtos que possam substituir estes polieletrólitos no tratamento de caldo. Dentre estes, destacam-se extratos de folhas e sementes de *Moringa oleífera* Lamarck, planta amplamente utilizada como floculante em tratamento de água, devido a presença de uma proteína que apresenta ação coagulante (GASSENSCHMIDT et al., 1995).

Neste contexto, o grupo de pesquisas “Processos Biotecnológicos Aplicados à Agroindústria”, visando a substituição do polieletrólito sintético, iniciou trabalhos utilizando folhas e sementes de moringa como auxiliar de sedimentação do processo de clarificação dos caldos destinados à produção de açúcar. Os resultados obtidos foram promissores e indicaram que a utilização deste bioextrato resultava em diversos efeitos positivos. Entretanto, ainda há poucas informações, quando considera-se a clarificação do caldo de cana para a produção de etanol.

Desta maneira, o objetivo do trabalho foi avaliar os reflexos do tratamento de caldo de cana, utilizando extratos de folhas e sementes de moringa, sobre a fermentação alcoólica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta de climas tropicais e subtropicais, utilizada pelo homem há milhares de anos como matéria-prima para a fabricação de açúcar e, mais recentemente, etanol, por apresentar elevada capacidade de armazenamento de sacarose em seus colmos. Tal eficácia deve-se a esta ser uma planta C4, que apresenta elevada taxa fotossintética na utilização e resgate do CO₂ da atmosfera (SEGATO et al., 2006).

Esta matéria-prima apresenta composição químico-tecnológica variada, em função da variedade, o local e o manejo utilizado. Em termos gerais, estima-se que a cana, em seu estágio de maturação, apresenta de 8-18% de fibras e de 86-92% de caldo. Por sua vez, o caldo é constituído basicamente por água (75-82%) e sólidos solúveis/Brix (18-25%). Dentro dos sólidos solúveis encontram-se 15,5-27% de açúcares, em especial a sacarose (12-18%), glicose (0,2-1%) e frutose (0,0-0,5%); e 1-2,5% de não-açúcares, tais como ácidos, aminoácidos, proteínas, ceras, gorduras, corantes, K₂O, P₂O₃, CaO, MgO, etc (DELGADO; CESAR, 1977).

Tais informações são referências para o planejamento da colheita da cana-de-açúcar. De modo semelhante Ripoli e Ripoli (2009) estabeleceram parâmetros indicadores para o período útil de industrialização desta matéria-prima (Quadro 1).

É imprescindível que a cana esteja dentro destes parâmetros para que se obtenha o máximo de rendimento em extração de caldo, fermentação e produção de açúcar. Uma matéria-prima comprometida pode afetar de várias formas a eficiência industrial (CLARKE; LEGENDRE, 1999).

A matéria-prima de baixa qualidade, seja esta decorrente de colheita de cana imatura, ataque de pragas e doenças no desenvolvimento da cultura, ou ainda resultante de colheita mecanizada mal operada, pode apresentar elevadas quantidade de compostos não-açúcares que afetam diretamente o processo industrial. Ravaneli et al. (2011) e Rossato Júnior (2012), demonstraram que o

ataque de cigarrinha-das-raízes e broca-da-cana aumenta a concentração de compostos fenólicos no caldo, os quais são inibidores da levedura em fermentação.

QUADRO 1 - Indicadores da qualidade da cana-de-açúcar e valores recomendados

Indicadores	Valores Recomendados
Pol	>14
Pureza (Pol/Brix)	>85%
ART (sacarose, glicose, frutose)	>15% (maior possível)
AR (glicose, frutose)	<0,8%
Fibra	11 a 13%
Tempo de queima/corte	<35 horas para cana com corte manual
Terra na cana (minerais)	<5 kg t ⁻¹ cana
Contaminação microbiológica	<5,0 x 10 ⁵ bastonetes mL ⁻¹ no caldo
Acidez Sulfúrica	<0,80 g L ⁻¹ H ₂ SO ₄
Dextrana	<500 ppm Brix ⁻¹
Amido da cana	<500 ppm Brix ⁻¹

Fonte: Ripoli e Ripoli, 2009

Desta forma o manejo da cultura deve ser realizado da melhor forma possível objetivando reduzir impactos que possam interferir negativamente sobre a qualidade da matéria-prima e, conseqüentemente, sobre o processo industrial.

2.2 Extração e tratamento do caldo de cana

Após colhidos, os colmos são carregados e transportados até as unidades industriais, onde são submetidas a processo de preparo e extração do caldo. O preparo da cana objetiva expor as partes internas dos tecidos onde os açúcares são armazenados, através de redução do tamanho das partículas pela ação de facas picadoras e do desfibrador. Tal procedimento facilita a ação dos equipamentos responsáveis por extrair o caldo (ALBUQUERQUE, 2011).

A extração do caldo pode ser realizada por dois diferentes equipamentos: moendas ou difusores. As moendas caracterizam-se por extrair caldo através de

pressão nas células da cana desfibrada, pela ação de um conjunto de três cilindros, denominados ternos. Uma moeda apresenta em sua constituição de 4 a 6 ternos consecutivos, o que implica na extração de 95-97% do caldo. Os difusores caracterizam-se por extrair caldo através de lixiviação dos açúcares presentes nos colmos, pela ação descendente de água quente (75°C), o que resulta na extração de 97-98% do caldo (REIN, 2012).

O caldo extraído da matéria-prima apresenta em sua constituição, além dos sólidos solúveis (Brix), também sólidos insolúveis, tais como bagacilhos e terra (ARMAS et al., 1999). Desta maneira, deve-se realizar um tratamento deste material, a fim de remover tais compostos. Caso o caldo seja destinado a produção de açúcar haverá um intenso tratamento, devido as impurezas não-açúcares reduzirem a qualidade do açúcar final produzido (EGGLESTON; MONGE; PEPPERMAN, 2002). Considerando-se o processamento para produção de etanol, há exigência de tratamento de caldo brando, devido a grande parte dos compostos não açúcares serem utilizados pela levedura como nutrientes durante a fermentação (AMORIM, 2005).

Para produção de açúcar ou etanol, o caldo extraído necessita primeiramente ser peneirado, através de peneiras rotativas, fixas ou vibratórias, que retém bagacilhos em suspensão. A seguir, o caldo peneirado é submetido a ação de hidrociclones ou turbo filtro, equipamentos responsáveis por eliminar areia/terra (REIN, 2012).

Após realização do tratamento físico, realiza-se processo químico visando complementar a remoção de compostos insolúveis, além de eliminar coloides. Esta etapa consiste na adição de cálcio ao caldo, o qual reage com fosfatos presentes na matéria-prima, formando fosfatos de cálcio que, por serem insolúveis, são separados por sedimentação (Figura 1). Durante este processo, os fosfatos de cálcio adsorvem e arrastam outros elementos, tais como ácidos e compostos fenólicos (ALBUQUERQUE, 2011).

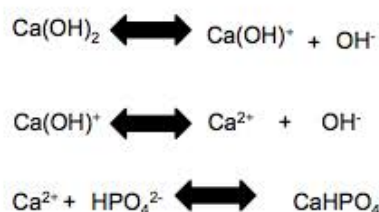


Figura 1. Reação química do hidróxido de cálcio com fosfatos presentes no caldo de cana.

Nas unidades produtoras de etanol, este processo é decorrente da elevação do pH do caldo até 6,0-7,0 através da adição de hidróxido de cálcio (leite de cal), seguido de aquecimento a 100-105°C para acelerar a reação entre o cálcio adicionado e os fosfatos, desnaturação de proteínas, eliminação de gases e eliminação parcial de micro-organismos (STEINDL, 2010).

Considerando-se a produção de açúcar, o caldo é caleado até pH entre 7,0-8,0, que irá promover maior formação de fosfatos de cálcio, os quais removem maior quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos do caldo, tais como ácidos, proteínas, aminoácidos, compostos fenólicos, fosfatos, entre outros. A seguir, realiza-se aquecimento até 100-105°C (ALBUQUERQUE, 2011).

Os caldos aquecidos de ambos tratamentos são transferidos para decantadores, onde permanecem em repouso de 60-180 minutos para sedimentação dos fosfatos de cálcio e aglomerado (REIN, 2012).

Objetivando acelerar a precipitação dos coágulos formados, são adicionados no decantador polieletrólitos sintéticos a base de acrilamida (acrilamidas parcialmente hidrolisadas), denominados polímeros, que agrupam estes compostos em flocos de peso e densidade maiores que, conseqüentemente, sedimentam rapidamente, diminuindo o tempo de retenção nestes equipamentos (PAYNE, 1989).

Deve-se ressaltar que estas moléculas, segundo a OMS (2002), apresentam ações neurotóxicas e cancerígenas ao ser humano. Fato que levou alguns países, como os Estados Unidos, a limitar a utilização deste insumo em até 5 mg L⁻¹ no processo de produção de açúcar (PAYNE, 1989).

Neste sentido, buscam-se novos produtos que possam substituir os polímeros sintéticos, tais como os taninos de *Acácia mearnsii* de Wild (OLIVEIRA; FINZER,

2012), extrato de folhas de *Hibiscus lunarifolius* (KHANDAGAVE; THANGAMUTHU, 2010), extratos de *Moringa oleífera* Lam. (COSTA et al., 2014), entre outros.

2.3 *Moringa oleífera* Lamarck

Moringa oleífera Lam. é uma planta arbórea e perene. Pertencente à família Moringaceae é natural do norte da Índia, sendo composta de um único gênero (moringa) com um total de 14 espécies conhecidas. Trata-se de um arbusto de porte pequeno, copa aberta, geralmente com apenas um tronco central, possui flores que emergem em panículas (SCHWARZ, 2000).

A moringa é uma planta que tem sido utilizada para vários fins. Suas vagens, folhas e sementes podem ser consumidas como vegetais que possuem ótimo valor nutritivo. O óleo extraído das sementes é aplicado no preparo de vários pratos voltados à gastronomia, na composição de azeites, além de ser empregado na produção de sabão, cosméticos, combustíveis e a madeira na produção de papel (SCHWARZ, 2000). A principal utilização industrial é como coagulante natural da água em países como o Sudão e Indonésia (JAHN; MUSNAD; BURGSTALLER, 1986).

O extrato de moringa apresenta baixo custo sendo de fácil obtenção. A eficiência de sua ação é independente do pH da água, sendo que o tratamento com extratos não modifica o pH do meio em que está agindo, não altera as características organolépticas (a menos que uma dose muito alta seja empregada) e ainda resulta em baixo volume de lodo precipitado, que é biodegradável (MADRONA, 2010).

O princípio ativo responsável pela coagulação destas partículas é uma proteína dimérica com massa molecular que varia de 6 a 30 kDa e ponto isoelétrico entre 10 e 11. É constituída preferencialmente pelos aminoácidos glutamato, arginina, prolina, glicina, valina, serina, dentre outros, originando uma proteína denominada de MO2.1 (GASSENSCHMIDT et al., 1995).

Embora o uso do extrato de moringa como clarificante de água seja conhecido, há poucos trabalhos na literatura que relacionem a utilização destes como clarificante de caldo de cana. Neste contexto, apenas Bidóia (2009) e Costa et

al. (2014) trabalharam visando o uso de moringa como auxiliar de sedimentação para produção de etanol e açúcar.

Bidoa (2009) em seus estudos verificou efeitos positivos quanto à aplicação de extrato de folhas de moringa na clarificação do caldo de cana para a produção de etanol. Observou que com emprego do extrato da planta houve geração mais pronunciada de lodo após coagulação/floculação no processo de clarificação; maior eficiência para remoção de impurezas (turbidez) e cor do caldo, elevando significativamente os ART do caldo clarificado, favorecendo o consumo de açúcares pelas leveduras e reduzindo os teores de ARRT presentes no vinho.

Costa et al. (2014) utilizando extrato de folhas de moringa como auxiliar de sedimentação do caldo de cana para produção de açúcar, observou menor velocidade de sedimentação das impurezas em relação ao polímero, contudo houve volume de lodo similar para ambos tratamentos. Os mesmos autores ainda afirmam que o açúcar produzido com moringa apresenta menor cor em relação ao produzido com polímero.

2.4 Preparo do mosto

Após clarificado, o caldo deve ser submetido a ajustes de concentração de açúcares, pH, temperatura, nutrientes e carga microbiana, afim de propiciar substrato ideal ao micro-organismo fermentador (levedura). Deve-se destacar ainda, que pode-se utilizar melaço residual da fabricação de açúcar como matéria-prima para a fermentação alcoólica (AMORIM, 2005)

Atualmente, nas destilarias do Brasil ajusta-se a concentração de açúcares, através da aferição do Brix, sendo que encontram-se mostos de teores de 16-26% de sólidos solúveis. Valores superiores a estes, podem resultar em estresse osmótico a levedura, reduzindo sua viabilidade celular (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001). Em contrapartida, concentrações inferiores, promovem gasto excessivo de água para diluição do caldo, baixo teor alcoólico do vinho e ainda favorece a via metabólica respiratória da levedura, a qual induz este micro-organismo a consumir açúcares para produção de biomassa e ATP ao invés de etanol (VENTURINI FILHO et al., 2013).

Para a fermentação alcoólica realizada por levedura do gênero *Saccharomyces cerevisiae* é imprescindível que o pH do mosto esteja entre 4,0-4,5, uma vez que este micro-organismo apresenta características acidófilas (SHANKAR et al., 2014). Neste sentido, esta faixa de pH contribui ainda para a redução da carga microbiana presente no substrato, pois grande percentual das bactérias providas do campo apresentam características neutrófilas. Deve-se destacar ainda, que o pH do caldo original varia entre 5,0-5,6, sendo que a diminuição destes valores ocorre com a adição de ácido sulfúrico (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

Outro ponto importante é o ajuste da temperatura entre 28-32°C, pois é nesta faixa que as enzimas invertases presentes na levedura atingem sua estabilidade e a máxima atividade (SHANKAR et al., 2014). Temperaturas superiores, além de promover perdas de etanol produzido por evaporação (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001), também afetam diretamente o micro-organismo fermentador, provocando desordens na membrana, desnaturação de proteínas, aumento no armazenamento de trealose, inibição da glicólise, resultando em mutação ou até mesmo em morte da levedura (BANAT et al., 1998).

Além dos açúcares é essencial que a levedura tenha à disposição no substrato nutrientes e outros compostos essenciais ao seu desenvolvimento, tais como nitrogênio, fósforo, zinco, magnésio, entre outros (FREITA et al., 2012; PAVANI et al., 2013). Da mesma maneira, alguns íons são prejudiciais, como por exemplo o cálcio e o alumínio, que promovem a diminuição da quantidade de trealose armazenada e ainda resulta na morte celular (WALKER, 1998).

Deve-se destacar ainda a presença de contaminantes, tais como bactérias e outras leveduras (leveduras selvagens), as quais consomem os açúcares presentes no mosto para reprodução e produção de compostos não etanol, tais como ácidos orgânicos (lático, acético, etc), diminuindo o rendimento industrial (CAMOLEZ; MUTTON, 2005). Contudo, a ação destes micro-organismos pode ainda resultar na floculação e morte das leveduras selecionadas utilizadas no processo fermentativo (NOBRE; HORII; ALCARDE, 2007).

2.5 Fermentação alcoólica

A fermentação etanólica é fenômeno no qual os açúcares são transformados em etanol e gás carbônico, por ação de leveduras da espécie *S. cerevisiae*. Esta caracteriza-se por ser um micro-organismo aeróbio facultativo, ou seja, apresenta capacidade de se ajustar metabolicamente, tanto em condições de aerobiose como de anaerobiose, vias metabólicas que irão produzir energia na forma de ATP, para manutenção celular da levedura (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

Em condições aeróbias, que podem ser fornecidas pela presença de oxigênio no meio, ou ainda pela baixa concentração de glicose do substrato, a levedura metaboliza os carboidratos para produção de ATP e biomassa. Neste processo uma molécula de glicose produz 38 ATP e 47g de biomassa (VENTURINI FILHO et al., 2013).

Sob condições anaeróbias, induzidas pela ausência de oxigênio, ou ainda por elevadas concentrações de açúcares no mosto (Efeito Crabtree), a levedura metaboliza uma molécula de glicose para a produção de 2 ATP, 1-5g de biomassa, além da produção de etanol (VENTURINI FILHO et al., 2013).

A metabolização do açúcar e transformação em etanol pela levedura ocorrem no citoplasma celular e envolvem 12 reações sequenciais e ordenadas, catalisadas, cada uma, por uma enzima específica (WALKER, 1998), conforma apresentado na Figura 2. Deve-se destacar que o etanol somente é produzido objetivando a regeneração do NAD, que será posteriormente utilizado na oxidação do gliceraldeído-3-fosfato na glicólise (BIOCONTAL, 2014). Contudo no processo fermentativo além da produção de etanol, há ainda a produção de CO₂, glicerol, ácidos orgânicos (succínico, pirúvico, acético, etc), álcoois superiores, acetaldeído, acetoína, butilenoglicol, entre outros. Estima-se que 5% dos açúcares consumidos pela levedura, sejam desviados para gerar tais produtos secundários da fermentação (ANDRIETTA; ANDRIETTA; BICUDO, 2012).

Merece destaque o glicerol, por ser considerado o composto mais importante do ponto de vista quantitativo depois do etanol. Este é produzido principalmente em condições de estresse da levedura, visando equilibrar o potencial redox celular, tais como elevadas concentrações de etanol no meio, pressão osmótica, pH, ácidos,

entre outros (GUTIERREZ, 1991). Por utilizar a mesma molécula de glicose para sua produção, admite-se que quanto maior a produção de glicerol, menor a produção de etanol. Entretanto, a levedura sempre produz glicerol visando a regeneração do NAD (REN et al., 2012).

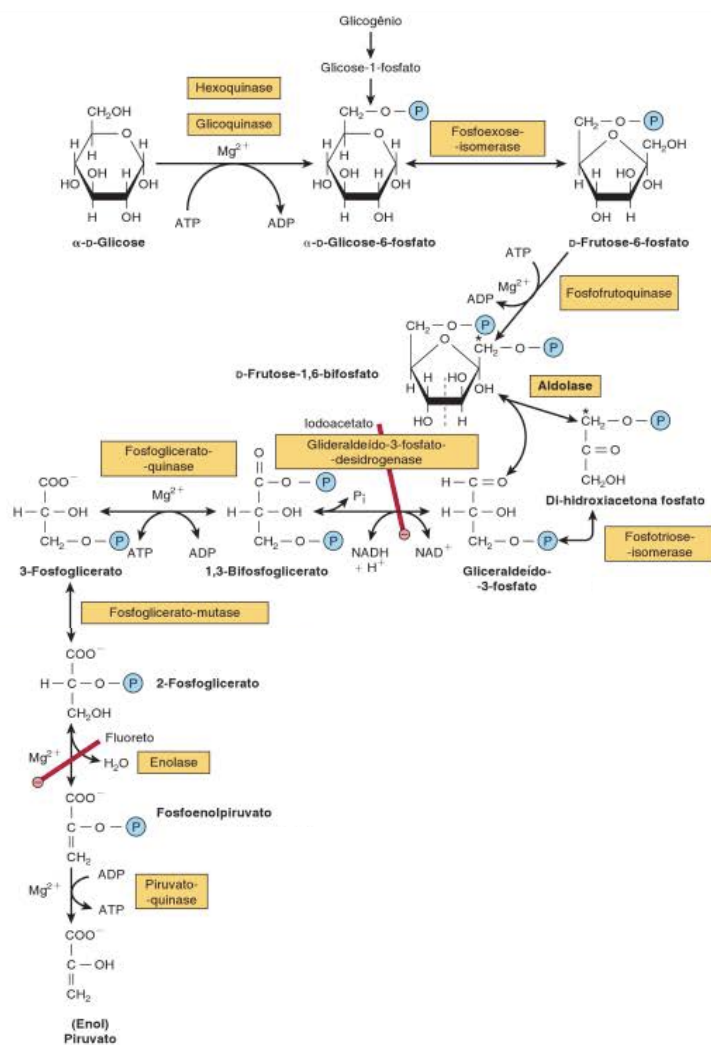


Figura 2. Representação da glicólise. Fonte: Murray et al. (2013).

Outro composto orgânico produzido em quantidades consideráveis é o ácido succínico, cuja a formação pode estar relacionada a um meio fermentativo inadequado, contendo, principalmente, bactérias contaminantes. Esta molécula em ação sinérgica com o etanol, resulta em atividade antimicrobiana, tornando a levedura mais competitiva e prolongando sua permanência no processo (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

Embora o etanol produzido seja necessário para a regeneração do NAD e produção de ATP pela levedura, conforme discutido anteriormente, elevadas concentrações desta molécula no meio, resultam em morte de células, por afetar mecanismos de regulação osmótica (modificações da composição da camada lipídica da membrana, modulação dos processos de troca iônica) (DORTA, 2006), induzindo ao estresse hídrico (HALLSWORTH, 1998).

Demais compostos podem afetar a viabilidade de células, de brotos, assim como do índice de brotamentos da levedura, dentre os quais merece, destaque elevadas concentrações de cálcio ($>120\text{mg L}^{-1}$), potássio ($>800\text{mg L}^{-1}$) e alumínio (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001); ácido láctico resultante do metabolismo de bactérias contaminantes e ácido acético produzido pela própria levedura, os quais resultam em aumento no consumo de ATP para manutenção do pH interno (NARENDRANATH; THOMAS; INGLEDEW, 2001); excesso de íons H^+ no meio (baixo pH que resulta em perda de nutrientes, sensibilidade ao etanol e ácidos orgânicos, além de morte celular e redução do índice de brotamentos) (DORTA, 2006).

Admite-se que a fermentação industrial apresente viabilidade de células de leveduras próximas a 90%, pois nestas condições há fermentações rápidas, completas e com elevado teor de etanol produzido (AMORIM, 2005). Entretanto, deve-se estar atento para o índice de brotamentos das leveduras, pois este parâmetro é um indicativo da renovação celular, sendo que maiores índices, resultarão em melhores condições metabólicas para este micro-organismo (DORTA, 2006).

Atualmente são utilizadas nas unidades industriais, leveduras selecionadas que apresentam elevada capacidade fermentativa e de permanência no processo ao longo da safra. Entre estas deve-se destacar as leveduras CAT-1 e PE-2, isoladas da Usina Catanduva e Usina da Pedra, respectivamente, na década de 90. Ambas estão presentes em grande parte das unidades alcooleiras brasileiras. Contudo, deve-se destacar a levedura FT-858, disponibilizada comercialmente apenas em 2011 pela Fermentec, que demonstra elevado potencial principalmente quando utiliza-se matéria-prima resultante de colheita de cana crua (AMORIM, 2011).

Após processo fermentativo, a levedura é separada do mosto fermentado (vinho) através da força da gravidade (leveduras sedimentam nas dornas) ou do uso de centrífugas. Estas são recuperadas, tratadas em cubas, e retornam ao processo para realização de nova fermentação. O vinho segue para recuperação do etanol através de processo de destilação em colunas (AMORIM, 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Tecnologia do Açúcar e Alcool do Departamento de Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Jaboticabal-SP, na safra 2013/2014.

3.1 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em parcelas subdivididas, com quatro repetições. O tratamento principal foi constituído por três diferentes auxiliares de sedimentação (extrato de folhas de moringa, extrato de sementes de moringa e polieletrólito sintético), além do tratamento testemunha (sem adição de auxiliar de sedimentação). O tratamento secundário correspondeu a duas variedades de cana-de-açúcar, RB867515 de 4º corte (colheita julho 2013) e CTC4 de 2º corte (colheita agosto 2013), colhidas no seu período útil de industrialização de áreas agroindustriais da região de Jaboticabal-SP.

3.2 Características das variedades

A variedade CTC4 apresenta maturação média, ou seja, entre os meses de julho e setembro, com valores médios de fibra da ordem de 10,7%, Pol 15,8% e produtividade média de 90 t/ha. Caracteriza-se por apresentar baixo tombamento e florescimento, bom perfilhamento e média exigência em fertilidade do solo (ASSOCICANA, 2014).

A variedade RB867515 uma das mais cultivada do Brasil, apresenta características de resistência hídrica. Esta também apresenta maturação de meio para final de safra (julho a setembro), com eventuais tombamentos e florescimentos. Em julho apresenta teor de Pol próximo a 13%, podendo chegar até 15% em agosto-setembro (PMGCA, 2008).

3.3 Preparo e caracterização dos auxiliares de sedimentação

3.3.1 Extrato de folhas de moringa

O extrato de folhas de moringa foi preparado de acordo com Ghasi, Nwobodo e Ofili (2000), a partir de folhas frescas colhidas de plantas adultas, em Jaboticabal-SP. Após a coleta separou-se galhos e talos, e realizou-se cocção por 10 minutos, utilizando-se a concentração de 200 g de folhas para 1L de água deionizada. Ao final deste processo, filtrou-se o material para separação de folhas. O extrato foi armazenado em frasco âmbar a 8°C.

3.3.2 Extrato de sementes de moringa

O extrato de sementes de moringa foi preparado de acordo com Bhatia, Othman e Ahmad (2007). As sementes foram coletadas de plantas adultas cultivadas em Jaboticabal-SP. A seguir, foram colocadas em estufa a 55°C por 24 horas. As sementes foram descascadas para retirada da parte alada, trituradas em moedor industrial, e submetidas a processo de extração com água, na concentração de 10 g de sementes secas para 1L de água deionizada, por 10 minutos sob agitação. Ao final, filtrou-se o material a vácuo para separação da fração sólida. O extrato foi armazenado em frasco âmbar a 8°C.

3.3.3 Polieletrólito sintético

O polieletrólito sintético utilizado foi o Flomex 9074, obtido na forma de pó em unidade produtora de açúcar e álcool. O preparo foi realizado dissolvendo-se 1 g de polímero para 1L de água deionizada, sob lenta agitação por 30 minutos, todas as vezes em que se empregava este auxiliar de sedimentação.

3.3.4 Caracterização dos auxiliares de sedimentação

Os 3 diferentes auxiliares de sedimentação foram caracterizados quanto ao Brix, pH, Cinzas Solúveis e Acidez Total (CTC, 2005).

3.4 Determinação das dosagens dos auxiliares de sedimentação

Para determinação das dosagens dos extratos de folhas e sementes de moringa a serem utilizadas no ensaio, utilizou-se caldo da variedade RB867515, colhida em seu período útil de industrialização, manualmente e sem queima prévia da palhada.

Após extraído, o caldo foi submetido a processo de clarificação por caleagem simples. As diferentes dosagens foram adicionadas no decantador, previamente a adição do caldo caleado e aquecido. As dosagens testadas foram: 5, 10, 15 e 20 e 25 mg L⁻¹ para o extrato de folhas; 100, 150, 200, 250 e 500 mg L⁻¹ para o extrato de sementes de moringa; e 1, 2, 3, 4 e 5 mg L⁻¹ para o polieletrólito sintético.

Deve-se ressaltar que para este ensaio, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizando-se 3 repetições para cada dosagem.

3.5 Extração do caldo

Os colmos foram colhidos manualmente, sem queima prévia da palha, sendo estes processados em moenda de laboratório para extração do caldo. Após extração, o caldo foi caracterizado quanto ao Brix, Pol, Pureza, Açúcares Redutores (AR), Açúcares Redutores Totais (ART), Fibra, pH, Acidez Total, Cinzas Solúveis (CTC, 2005) e Compostos Fenólicos Totais (CFT) (FOLIN; CIOCALTEU, 1927).

3.6 Tratamento do caldo e preparo do mosto

O caldo extraído foi filtrado em tela de 60 meshes e submetido a processo de clarificação por caleagem simples, através da adição de leite de cal 6^oBé até elevação do pH para 6,0, seguido de aquecimento até ebulição. A seguir, 1L de

caldo aquecido foi transferido, e mantido em repouso por 20 minutos, em sistema de decantação aquecido por lâmpadas, ao qual foram adicionados, previamente, diferentes auxiliares de sedimentação. Durante este processo determinou-se a velocidade de sedimentação dos colóides e o volume de lodo formado (CTC, 2005). O caldo clarificado foi obtido a partir da sifonação do sobrenadante.

Os auxiliares de sedimentação utilizados foram: polímero sintético convencional (Flomex 9034) na dosagem de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$, extrato de folhas de moringa na dosagem de 5 mg L^{-1} e extrato de sementes de moringa na dosagem de 100 mg L^{-1} .

O caldo clarificado foi padronizado a Brix 16° e pH 4,5, pela adição de H_2SO_4 5 mol/L, originando o mosto, que foi caracterizado quanto ao teor de ART, CFT e Acidez Total.

3.7 Processo fermentativo e análise do vinho

3.7.1 Preparo do inóculo

A levedura utilizada foi a FT858, obtida de centro comercial especializado na forma liofilizada. Disponibilizada comercialmente na safra 2011/2012 e destaca-se por apresentar elevado rendimento fermentativo, facilidade de implementação nos processos fermentativos industriais, tolerância ao tratamento ácido, fermentações completas (baixo ARRT). Adaptou-se a cana colhida mecanicamente, mantendo-se no processo durante a safra (AMORIM, 2011).

A levedura foi reativada primeiramente adicionando-se água por 1 hora, seguido de alimentação com mosto à 2°Brix , mantendo-se à proporção 30g de levedura para 1L de mosto. Quando a concentração de sólidos solúveis reduziu-se a metade, inoculou-se o dobro de mosto inicial até que atingisse valor de 4°Brix . Este procedimento foi repetido, porém sempre mantendo o Brix abaixo de 6° , teor máximo de açúcares em que a levedura metaboliza glicose pela via aeróbia, induzindo o crescimento celular. Quando a viabilidade de células do fermento foi superior a 85%, a viabilidade de brotos de 98% e o índice de brotamentos de 15%, além da obtenção

de quantidade de biomassa suficiente para realização do ensaio, encerrou-se o procedimento, recuperando-se a levedura por centrifugação.

3.7.2 Condução do processo fermentativo

Inoculou-se levedura FT858, na concentração de 10% (m v^{-1}) de células, em 250mL de mosto, sendo primeiramente adicionados 100mL desta solução e, após uma hora, os 150mL restantes. Após uma hora da última alimentação, foram quantificadas a percentagem de células vivas, brotos vivos e índice de brotamento (LEE; ROBINSON; WONG, 1981). Estas análises foram repetidas quando o Brix da fermentação foi ≤ 1 (final do processo fermentativo).

O vinho foi recuperado por centrifugação a 2500g/30°C e caracterizado quanto aos teores de Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT), Acidez Total (CTC, 2005), Glicerol (COPERSUCAR, 2001) e Teor Alcoólico (Ebuliômetro).

3.8 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo Teste F e a comparação entre médias realizada pelo teste de Tukey (5%) (BANZATO; KRONKA, 2006).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos auxiliares de sedimentação

Na Tabela 1 estão apresentados os valores médios obtidos para Brix, pH, Cinzas Solúveis e Acidez Total para os flocculantes estudados. Da sua análise pode-se observar que apenas os flocculantes extraídos de moringa apresentaram teor de sólidos solúveis diferentes da água (0°). Tais resultados são similares aos observados por Costa (2013), que verificou valores de Brix de 1,3 e 1,5 para extratos de sementes e folhas de moringa, respectivamente.

A presença de sólidos solúveis nos extratos é resultante de extração de ácidos e íons presentes nestas partes da planta, uma vez que foi detectado Acidez Total e Cinzas Solúveis para folhas e sementes. Entretanto, não se observou presença destes elementos para o polímero, fato esperado, pois trata-se de um produto puro.

Avaliando-se o pH dos três flocculantes, verificou-se valores 11% e 22% maiores para o polímero em relação aos extratos de semente e folhas de moringa, respectivamente. Tais resultados são diferentes aos constatados por Costa (2013), que observou valores de 3,3 para extrato de sementes e de 7,2 para o de folhas, realizando a mesma metodologia de preparo e coletando folhas e sementes de moringa obtidas em Jaboticabal-SP.

Tabela 1. Resultados obtidos para análise de Brix, pH Cinzas Solúveis e Acidez Total dos extratos de sementes de moringa, folhas de moringa e polímero sintéticos

Floculantes	Brix	pH	Cinzas Solúveis (%)	Acidez Total (g L ⁻¹ H ₂ SO ₄)
Sementes	1,5	5,8	0,09	0,17
Folha	1,9	5,1	0,43	0,89
Polímero	0,2	6,5	0,01	-

4.2 Determinação da dosagem dos extratos de moringa

4.2.1 Extrato de folhas de moringa

Na tabela 2 estão representados os valores médios obtidos para velocidade de sedimentação volume de lodo de caldo clarificado utilizando-se diferentes dosagens de extrato de folhas de moringa. Observou-se que o emprego de diferentes dosagens não resultou em variações da velocidade de sedimentação, porém a dosagem de 5 mg L⁻¹ resultou em menor volume de lodo formado. Neste sentido, verificou-se ainda que esta dosagem não promoveu aumentos nos teores de sólidos solúveis no caldo clarificado e, ao mesmo tempo, reduziu significativamente a quantidade de ácidos presentes em comparação com os demais tratamentos (Tabela 3).

Estes resultados também foram determinados por Bidóia (2009) e Costa (2013), que avaliando diferentes dosagens do extrato de folhas de moringa, verificaram que a menor dosagem deste produto resulta em melhores características tecnológicas do caldo clarificado, assim como proporciona menor volume de lodo.

Tabela 2 – Valores médios obtidos para Velocidade de Sedimentação e Volume de Lodo obtido na clarificação do caldo da variedade de cana RB867515, utilizando-se extrato de folhas de moringa em diferentes dosagens.

Extrato de Folhas	Velocidade de Sedimentação (cm min ⁻¹)	Volume de Lodo (mL)
5 mg L ⁻¹	4,90 A	26,66 B
10 mg L ⁻¹	4,84 A	36,66 AB
15 mg L ⁻¹	4,40 A	60,00 A
20 mg L ⁻¹	4,82 A	43,33 AB
25 mg L ⁻¹	4,54 A	60,00 A
DMS	0,66	24,06
Teste F	2,23ns	8,04**
CV	5,29	19,73

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade. ns - não significativo; * - significativo ao nível de 0,05 ** - significativo ao nível de 0,01. Letras maiúsculas comparam valores na coluna.

Tabela 3 – Valores médios obtidos para Brix e Acidez Total obtido do caldo clarificado da variedade de cana RB867515, utilizando-se extrato de folhas de moringa em diferentes dosagens..

Extrato de Folhas	Brix	Acidez Total (g L ⁻¹ H ₂ SO ₄)
5 mg L ⁻¹	18,0 C	0,63 B
10 mg L ⁻¹	18,9 BC	0,63 B
15 mg L ⁻¹	20,4 AB	0,75 A
20 mg L ⁻¹	19,6 ABC	0,75 A
25 mg L ⁻¹	21,2 A	0,73 A
DMS	1,88	0,06
Teste F	9,53**	19,82**
CV	3,57	3,37

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade. ns - não significativo; * - significativo ao nível de 0,05 ** - significativo ao nível de 0,01. Letras maiúsculas comparam valores na coluna.

4.2.2 Extrato de sementes de moringa

Na tabela 4 estão apresentados os valores médios obtidos para velocidade de sedimentação e volume de lodo obtido de clarificação de caldo de cana com diferentes dosagens de extrato de sementes de moringa. Assim como observado para o extrato de folhas, verificou-se que a menor dosagem de extrato de sementes de moringa proporcionou menor volume de lodo formado e velocidade de sedimentação igual as demais dosagens. Neste contexto, deve-se destacar ainda os resultados obtidos para o caldo clarificado, o qual na dosagem de 100 mg L⁻¹, apresentou valores de Brix similares as outras concentrações (Tabela 5).

Estes valores também foram obtidos por Costa (2013), que trabalhando com extrato de sementes de moringa nestas mesmas condições, verificou que a dosagem de 100 mg L⁻¹ foi a que apresentou os melhores resultados.

Tabela 4 – Valores médios obtidos para Velocidade de Sedimentação e Volume de Lodo obtido para clarificação do caldo da variedade de cana RB867515, utilizando-se extrato de sementes de moringa em diferentes dosagens.

Extrato de Sementes	Velocidade de Sedimentação (cm min ⁻¹)	Volume de Lodo (mL)
100 mg L ⁻¹	4,69 A	36,66 B
150 mg L ⁻¹	4,56 A	66,66 A
200 mg L ⁻¹	4,51 A	53,33 AB
250 mg L ⁻¹	4,39 A	66,66 A
500 mg L ⁻¹	4,36 A	56,66 AB
DMS	0,87	23,03
Teste F	0,51ns	6,22**
CV	7,19	15,29

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade. ns - não significativo; * - significativo ao nível de 0,05 ** - significativo ao nível de 0,01. Letras maiúsculas comparam valores na coluna.

Tabela 5 – Valores médios obtidos para Brix e Acidez Total do caldo clarificado da variedade de cana RB867515, utilizando-se extrato de sementes de moringa em diferentes dosagens.

Extrato de Sementes	Brix	Acidez Total (g L ⁻¹ H ₂ SO ₄)
100 mg L ⁻¹	18,1 A	0,78 A
150 mg L ⁻¹	18,7 A	0,65 A
200 mg L ⁻¹	19,6 A	0,63 A
250 mg L ⁻¹	19,5 A	0,70 A
500 mg L ⁻¹	18,5 A	0,71 A
DMS	3,10	0,15
Teste F	0,97ns	2,83ns
CV	6,10	8,51

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade. ns - não significativo; * - significativo ao nível de 0,05 ** - significativo ao nível de 0,01. Letras maiúsculas comparam valores na coluna.

4.3 Caracterização do caldo extraído

Na Tabela 6 estão representados os valores obtidos para Brix, Pol, Pureza, Açúcares Redutores (AR) e Açúcares Redutores Totais (ART) para o caldo extraído das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e CTC4. Considerando-se as recomendações de maturação da cana propostas por Ripoli e Ripoli (2009),

verificou-se que somente a variedade CTC4 estava em seu período útil de industrialização, por apresentar valores de Pol superiores a 14%, AR menor que 0,8% e ART maior que 14%. A variedade RB867515 estava próxima a maturação, pois apresentou pureza inferior a 85% e AR superior a 0,8%. Entretanto, para ambas variedades, os valores obtidos são superiores aos exposto pelo ASSOCICANA (2014) e PMGCA (2008), que determinam que, entre julho e agosto, a RB867515 apresenta Pol de 13% e a CTC4 Pol de 15,8%.

Tabela 6. Valores médios observados para Brix, Pol, Pureza, Açúcares Redutores (AR) e Açúcares Redutores Totais (ART) do caldo extraído das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e CTC4. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014.

Variedades (V)	Brix	Pol	Pureza (%)	AR (%)	ART (%)
RB867515	18,3	15,22	83,16	0,84	15,30
CTC4	21,1	18,74	88,82	0,29	18,80

Neste contexto, deve-se destacar ainda que a variedade RB867515 apresentou concentração de ácidos totais acima dos recomendados por Ripoli e Ripoli (2009), indicando a condição imatura da cana (Tabela 7). Entretanto, ambas variedades continham teores de fibra próximos a 11,3%, pH de 5,0 e Cinzas Solúveis entre 0,42-0,60% (Tabela 7).

Outro ponto que merece destaque é a quantidade de CFT, que foi 16% maior para a CTC4 em relação a RB867515. Tais valores foram superiores aos determinados por Costa et al. (2014), que observaram valores de CFT para a variedade RB867515 da ordem de 460 mg L⁻¹. Contudo, estes resultados foram semelhantes aos verificados por Masson (2013), que estudando o caldo extraído da variedade RB966928, obteve valores próximos a 600 mg L⁻¹.

Tabela 7. Valores médios observados para Fibra da cana e Acidez Total, Cinzas Solúveis, Turbidez e Compostos Fenólicos Totais (CFT) do caldo extraído das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e CTC4. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014.

Variedades (V)	Fibra (%)	pH	Acidez (g L ⁻¹ H ₂ SO ₄)	Cinzas Solúveis (%)	CFT (mg L ⁻¹)
RB867515	11,53	5,0	0,98	0,60	553B
CTC4	11,14	5,0	0,77	0,42	658A

4.4 Clarificação do caldo

Na Figura 3 estão representados os valores médios obtidos para velocidade de sedimentação (Figura 3A) e volume de lodo (Figura 3B) formado.

De um modo geral, verificou-se que a utilização de polieletrólito sintético promoveu as maiores velocidades de sedimentação dos flocos formados, para as duas variedades estudadas. Tais resultados são similares aos obtidos por Costa et al. (2014), que avaliando a clarificação do caldo de cana para produção de açúcar, em pH 7,0, utilizando extrato de folhas de moringa e polímero, observaram valores próximos a 0,5 cm/min para o primeiro e 3,5 cm/min para o segundo floculante, respectivamente.

Embora a velocidade de sedimentação tenha sido maior para o tratamento em que se utilizou polímero, o volume de lodo formado ao final dos 20 minutos de repouso, foi similar para todos os tratamentos em que se utilizaram auxiliares de sedimentação, especialmente para a variedade RB867515 (Figura 3B). Tais valores foram menores do que os determinados por Thai, Bakir e Doherty (2012), os quais estudando clarificação de caldo de cana para a produção de açúcar, utilizando polímero como floculante, verificaram valores próximos a 200mL de lodo. Contudo, deve-se destacar que quando não se utilizaram estes insumos no caldo proveniente da variedade RB867515, houve baixa precipitação de impurezas, resultando em elevado volume de lodo final (Figura 3B), fato também observado por Costa et al. (2014). Provavelmente a não sedimentação de impurezas do caldo da RB867515 pode estar relacionada a condição imatura da variedade, fato este também verificado por Madaleno (2010).

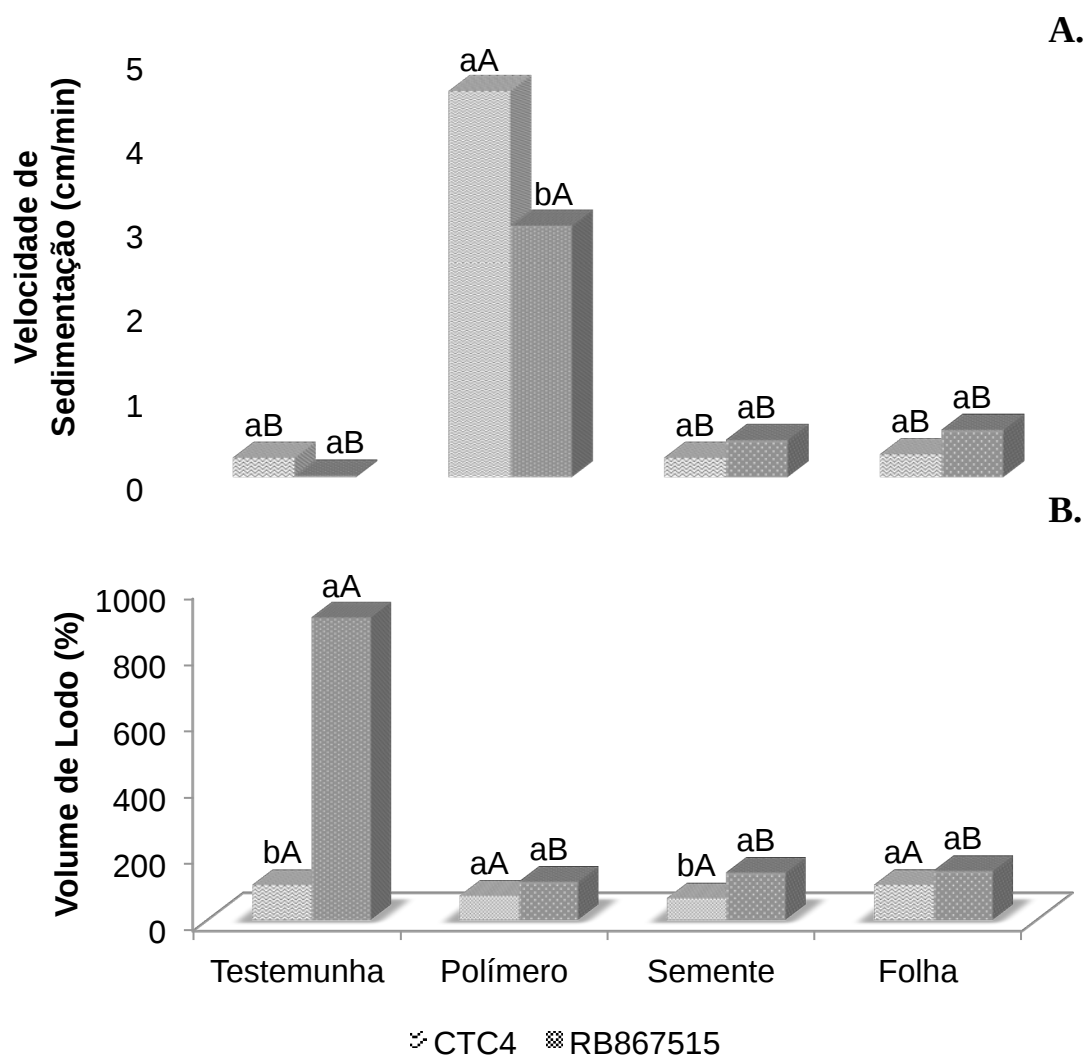


Figura 3. Efeito dos floculantes e das variedades de cana-de-açúcar para os parâmetros velocidade de sedimentação de flocos (A) e volume de lodo (B) durante a clarificação do caldo. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014. Letras minúsculas comparam variedades e letras maiúsculas comparam floculantes.

Considerando que após a decantação, o lodo é filtrado para recuperação de caldo e separação da matéria insolúvel, resultando na produção de torta-de-filtro que é amplamente utilizada como adubo nos campos de cultivo (REIN, 2012); deve-se destacar a constatação da capacidade destes extratos em produzir volume de lodo igual ao tratamento convencional, principalmente do ponto de vista industrial, onde haverá menos desgaste do equipamento e de energia para filtração.

Na tabela 8 estão apresentados os valores médios obtidos para o Brix do caldo clarificado com diferentes auxiliares de sedimentação. Verificou-se que a utilização de flocculantes não alterou este parâmetro. Tais resultados merecem destaque, uma vez que os extratos de folhas e sementes de moringa apresentavam elevado Brix. Provavelmente estes compostos auxiliaram o processo de sedimentação das impurezas do caldo e foram removidos junto com o lodo. Deve-se destacar ainda, que estas informações também foram relatados por Bidóia (2009) e Costa et al. (2014).

Neste contexto, observou-se que o Brix do caldo clarificado da variedade CTC4 foi maior do que o da RB867515, fato também observado para o caldo extraído.

Tabela 8 – Valores médios observados para o Brix dos caldos clarificados com 4 diferentes flocculantes, originados de duas variedades de cana-de-açúcar. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014.

Flocculantes (F)	Brix
Testemunha	21,11A
Polímero	21,13A
Semente	21,40A
Folha	21,13A
DMS	0,75
Teste F	0,51ns
CV	2,52
Variedades (V)	
RB867515	19,35B
CTC4	23,04A
DMS	0,80
Teste F	125,41**
CV	4,40
Inter C x V	1,04ns

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0.05 de probabilidade. ns - não significativo; * - significativo ao nível de 0.05 ** - significativo ao nível de 0.01. Letras maiúsculas comparam valores nas colunas.

4.5 Caracterização do mosto

Avaliando-se o teor de açúcares presentes no mosto (Tabela 9), verificou-se que os diferentes floculantes não promoveram reduções significativas de ART durante o processo de clarificação. Este comportamento também foi observado quando comparou-se os mostos preparados a partir de diferentes variedades de cana. Deve-se ressaltar que no processo industrial de clarificação do caldo, deseja-se a não eliminação de açúcares presentes no mesmo (REIN, 2012).

Analisando-se a quantidade de CFT presentes nos mostos resultantes de caldos clarificados com diferentes floculantes (Tabela 9), observou-se que a utilização de auxiliares de sedimentação não apresentaram efeito sobre a redução destes compostos. Entretanto, houve redução significativa destas biomoléculas em relação ao caldo extraído, resultado este também observado por Costa et al. (2014). Deve-se ressaltar que remoções de CFT são importantes para a indústria alcooleira, uma vez que estes compostos são inibidores de leveduras no processo fermentativo, acarretando queda de viabilidade celular e teor alcoólico do vinho (RAVANELI et al., 2011).

Deve-se destacar ainda que os mostos preparados a partir de caldos da variedade RB867515, apresentaram maiores quantidades de CFT em relação aos preparados a partir da CTC4. Estes valores foram diferentes dos obtidos para o caldo extraído (Tabela 7). Considerando-se que o índice de maturação da cana-de-açúcar reflete diretamente sobre o processo de clarificação do caldo (RIPOLI; RIPOLI, 2009), provavelmente, a qualidade da matéria-prima superior apresentada pela variedade CTC4, permitiu maiores remoções de CFT neste tratamento, uma vez que esta apresenta influencia direta sobre o processo de clarificação (MUTTON et al., 2010).

Considerando-se o efeito dos floculantes sobre a quantidade de ácidos presentes no mosto, verificou-se que somente a utilização de polímero resultou em diminuição significativas da concentração destas moléculas em comparação com o tratamento testemunha (Tabela 9). Deve-se destacar que os ácidos podem inibir a levedura em fermentação (CAMOLEZ; MUTTON, 2005). Comparando-se a quantidade destes compostos nos mostos originados de diferentes variedades de

cana, observou-se que a CTC4 apresentou, assim como no caldo extraído, os menores valores. A maior quantidade de ácidos presentes no mosto da variedade RB867515 pode estar relacionado ao início do estágio de maturação da mesma. Entretanto houve aumento de acidez em relação ao caldo extraído, decorrente da correção do pH do mosto a 4,5 com ácido sulfúrico.

Tabela 9 – Valores médios observados para Açúcares Redutores Totais (ART), Compostos Fenólicos Totais (CFT) e Acidez Total de mostos preparados a partir de caldos clarificados com 4 diferentes flocculantes, originados de duas variedades de cana-de-açúcar. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014.

Floculantes (F)	ART (%)	CFT (mg L ⁻¹)	Acidez Total (g L ⁻¹ H ₂ SO ₄)
Testemunha	13,35A	377A	1,16A
Polímero	13,29A	368A	1,08B
Semente	13,72A	401A	1,10AB
Folha	12,85A	385A	1,15AB
DMS	1,39	45,01	0,07
Teste F	0,84ns	1,48ns	4,28*
CV	7,54	8,31	4,45
Variedades (V)			
RB867515	13,09A	504A	1,35A
CTC 4	13,00A	262B	0,89B
DMS	1,13	33,76	0,11
Teste F	0,03ns	308,61**	101,12**
CV	10,07	10,19	11,48
Inter F x V	0,29ns	4,02ns	4,77ns

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade. ns - não significativo; * - significativo ao nível de 0,05 ** - significativo ao nível de 0,01. Letras maiúsculas comparam valores na coluna. Inter. FxV - interação entre flocculantes (tratamentos principais) e as variedades de cana (tratamentos secundários).

4.6 Processo fermentativo

Na Figura 4 estão apresentados os valores observados para viabilidade celular e viabilidade de brotos do início da fermentação. Verificou-se que somente o tratamento em que não se utilizou auxiliar de floculação durante a clarificação, da variedade RB867515, resultou em decréscimo de 15% da viabilidade celular, em relação aos demais, que mantiveram este parâmetro entre 85-90% (Figura 4A). Este comportamento também foi verificado para a viabilidade de brotos, em que somente o tratamento testemunha da variedade RB867515, resultou em decréscimo deste parâmetro, em relação aos demais, que mantiveram valores similares aos do inoculo (Figura 4B).

A não utilização de auxiliar de sedimentação na clarificação do caldo de cana (tratamento testemunha), provavelmente deixou resíduos no caldo, tais como fosfatos de cálcio não sedimentados, os quais são inibidores da levedura em fermentação, por diminuir a viabilidade celular e a quantidade de trealose armazenada (WALKER, 1998; STEINDL, 2010).

Entretanto não foi observado impacto negativo destes tratamentos sobre o índice de brotamentos da levedura, os quais permaneceram entre 10,3 e 13,4% (Tabela 10).

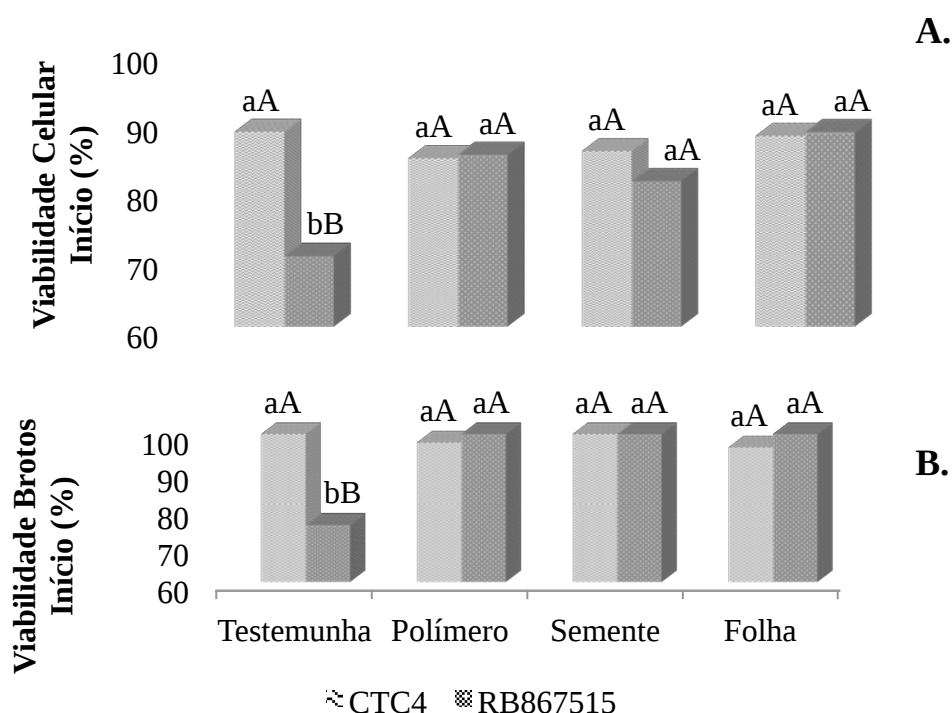


Figura 4. Efeito dos floclulantes e das variedades de cana-de-açúcar para os parâmetros viabilidade celular (A) e viabilidade de brotos (B) da levedura FT858 no início da fermentação. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014. Letras minúsculas comparam variedades e letras maiúsculas comparam floclulantes.

Na Tabela 10 estão apresentados os valores médios obtidos para viabilidade celular e viabilidade de brotos no final do processo fermentativo. Analisando-se a viabilidade celular, verificou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos, fato este também constatado para a viabilidade de brotos, onde observaram-se valores superiores a 96% (Tabela 10). Estes resultados demonstram que a levedura FT858 estava adaptada ao substrato, possibilitando a elevação destes parâmetros ao final do processo fermentativo, principalmente no tratamento testemunha da variedade RB867515, que se igualou aos demais.

Tabela 10 – Valores médios observados para Índice de Brotamento no início e Viabilidade Celular e Viabilidade de Brotos no final da fermentação de mostos preparados a partir de caldos clarificados com 4 diferentes flocculantes, originados de duas variedades de cana-de-açúcar. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014.

Flocculantes (F)	Início da Fermentação	Final da Fermentação	
	Brotamento (%)	Viabilidade Celular (%)	Viabilidade Brotos (%)
Testemunha	13,09A	86,80A	98,87A
Polímero	13,43A	88,04A	98,46A
Semente	11,48A	83,70A	97,78A
Folha	10,32A	88,24A	96,78A
DMS	5,63	6,22	3,52
Teste F	1,05ns	1,80ns	1,08ns
CV (%)	32,98	5,08	2,54
Variedades (V)			
RB867515	11,10A	85,31A	96,82A
CTC 4	13,06A	88,08A	99,12A
DMS	3,88	4,10	4,29
Teste F	1,51ns	2,71ns	1,71ns
CV (%)	37,19	5,47	5,07
Inter F x V	1,68ns	0,26ns	0,67ns

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade. ns - não significativo; * - significativo ao nível de 0,05 ** - significativo ao nível de 0,01. Letras maiúsculas comparam valores na coluna. Inter. FxV - interação entre flocculantes (tratamentos principais) e as variedades de cana (tratamentos secundários).

Considerando-se o índice de brotamentos (Figura 5), observou-se que somente o tratamento testemunha (variedade RB867515) apresentou valores 50% menores em relação aos demais, que tiveram média de 30% de brotamento. Estes índices foram o triplo dos obtidos no início do processo fermentativo, porém este comportamento já era esperado, pois ao final da fermentação há baixa concentração de açúcares no meio, o que favorece a via metabólica respiratória da levedura, a

qual possibilita a elevada produção de energia (ATP) e biomassa (VENTURINI FILHO et al., 2013).

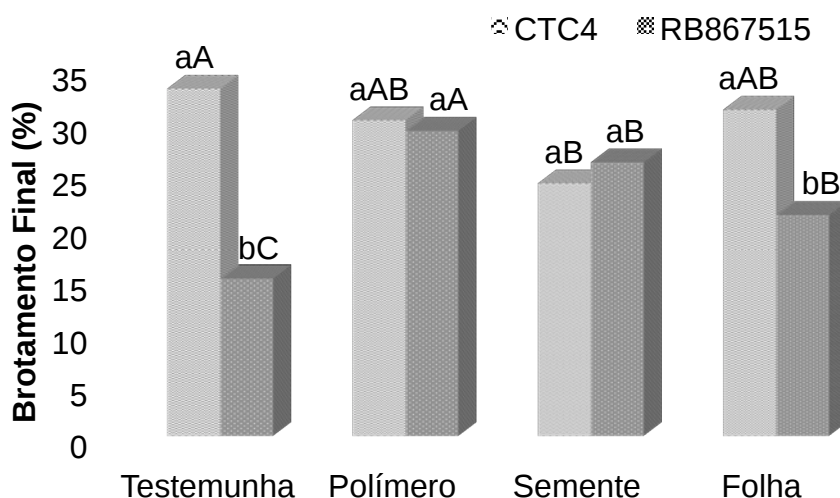


Figura 5. Interação entre floculantes de variedades de cana-de-açúcar para o Brotamento da levedura FT858 no final da fermentação. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014. Letras minúsculas comparam variedades e letras maiúsculas comparam floculantes.

4.7 Caracterização dos vinhos

Na Tabela 11 estão apresentados os valores médios observados para Brix, Acidez Total, Glicerol e Teor Alcoólico dos vinhos.

Observou-se que, para todos parâmetros avaliados, a utilização de diferentes auxiliares de sedimentação não refletiram diretamente sobre as características do vinho, que apresentaram valores similares para todos os tratamentos estudados.

Entretanto, comparando-se os vinhos obtidos de diferentes variedades de cana-de-açúcar, verificou-se que o material proveniente de processamento da variedade CTC4 apresentou os menores valores para Acidez Total e ARRT. Estes resultados são similares aos obtidos por Moreira et al. (2013), que avaliando a fermentação de caldo de cana por levedura CAT-1, determinou valores de 2,02 g L⁻¹ de Ácidos Totais e 0,04% de ARRT. Deve-se ressaltar que a formação de ácidos

pela levedura durante processo fermentativo é indesejável para a indústria, uma vez que este micro-organismo transforma açúcar em outros metabólitos não etanol (CAMOLEZ; MUTTON, 2005). Neste sentido, cabe destacar ainda a importância de baixos índices de ARRT, pois são indicativos de assimilação destes carboidratos pela levedura.

Considerando-se a produção de etanol e glicerol pela levedura FT858, constatou-se maiores valores para os vinhos provenientes da variedade CTC4. Estes resultados foram maiores que os determinados por Ferrari (2013), que avaliando produção de etanol e glicerol pela levedura CAT-1, observou valores variando de 6,8 a 7,8% para a primeira molécula e 0,23 a 0,40% para a segunda. Por utilizar a mesma molécula de glicose para sua produção, admite-se que quanto maior a produção de glicerol, menor o teor alcoólico do vinho (NEVOIGT; STAHL, 1997; WANG et al., 2001; FERRARI, 2013). Contudo, neste ensaio verificou-se condições inversas, pois a variedade CTC4 apresentou maiores valores para estes dois parâmetros. Provavelmente esta diferença está relacionada com a sobra de açúcares no vinho, que foi maior para a variedade RB867515. Deve-se destacar ainda que a levedura sempre produz glicerol, pois esta biomolécula é fundamental para regeneração do NAD e para manter o equilíbrio metabólico, sendo que em condições de estresse, como provocado por bactérias ou mesmo osmótico, ela pode aumentar a produção desta molécula (REN et al., 2012).

Neste sentido, a elevada produção de glicerol pela levedura FT-858 pode ter proporcionado maior adaptação da mesma, principalmente, no substrato que continha elevado teor de cálcio (testemunha da variedade RB867515), resultando em teor alcoólico similar ao do tratamento em que utilizou-se auxiliar de sedimentação.

De modo geral, verificou-se que os extratos não demonstraram efeitos inibitórios sobre a levedura em fermentação, proporcionando vinhos de qualidade similar ao do polieletrólito sintético e ao da testemunha.

Tabela 11 – Valores médios observados para Acidez Total, Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT), Glicerol e Teor Alcoólico de vinhos obtidos de fermentação de mostos preparados a partir de caldos clarificados com 4 diferentes flocculantes, originados de duas variedades de cana-de-açúcar. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014.

Floculantes (F)	Acidez Total (g L ⁻¹ H ₂ SO ₄)	ARRT (%)	Glicerol (%)	Teor Alcoólico (%)
Testemunha	2,37A	0,12A	1,95A	8,6A
Polímero	2,20A	0,10A	1,98A	8,7A
Semente	2,31A	0,16A	2,03A	8,8A
Folha	2,26A	0,14A	1,94A	8,9A
DMS	0,24	0,08	0,26	0,64
Teste F	1,29ns	1,32ns	0,40ns	0,75ns
CV	7,71	42,87	9,32	5,23
Variedades (V)				
RB867515	2,46A	0,22A	1,81B	8,5B
CTC4	2,11B	0,04B	2,14A	9,0A
DMS	0,23	0,07	0,21	0,28
Teste F	13,02*	36,18**	13,70*	13,80**
CV	12,11	64,20	12,79	3,74
Inter F x V	1,74ns	1,98ns	0,82ns	1,24ns

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade. ns - não significativo; * - significativo ao nível de 0,05 ** - significativo ao nível de 0,01. Letras maiúsculas comparam valores na coluna. Inter. FxV - interação entre flocculantes (tratamentos principais) e as variedades de cana (tratamentos secundários).

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no desenvolvimento deste estudo permite concluir:

- A utilização dos extratos promovem maior compactação do lodo em relação a tratamento testemunha, para a variedade de cana RB867515 (início de maturação).
- As quantidades de células e brotos vivos, e do índice de brotamento da fermentação não foram alterados quando se utilizou a variedade RB867515 (início de maturação).
- A utilização de floculantes no tratamento de caldo não afeta a qualidade do vinho e a quantidade de etanol produzido.

6. REFERÊNCIAS

ALBURQUERQUE, F. M. **Processo de fabricação do açúcar**. 3. ed. Recife: Editora Universitária UFPE, 2011.

AMORIM, H. V. **Quanto custa selecionar uma levedura industrial?**. V Semana de Fermentação Alcoólica “Jayme Rocha de Almeida”. 2011. Disponível em: <<http://stab.org.br/fermentacao/Amorim%20.pdf>>. Acesso em: 17/06/2014.

AMORIM, H. V. **Fermentação alcoólica, ciência & tecnologia**. Piracicaba: Fermentec, 2005.

ANDRIETTA, S. R.; ANDRIETTA, M. G. S.; BICUDO, M. H. P. Comparação do rendimento fermentativo utilizando diferentes metodologias de cálculo para avaliação do desempenho de um processo industrial. . **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 30, n. 4, p. 41-49, 2012.

ARMAS, R.; MARTINEZ, M.; VICENTE, C.; LEGAZ, M. E. Free and Conjugation Polyamines and Phenols in Raw and Alkaline-Clarified Sugarcane Juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, p. 3086-3092, 1999.

ASSOCICANA – Associação dos Plantadores de Cana da região de Jaú. **CTC4**. Disponível em: <<http://www.associcana.com.br/adm/conteudo/956.pdf>>. Acesso em: 17/06/2014.

BANAT, I. M.; NIGAM, P.; SINGH, D.; MARCHANT, R.; McHALE, A. P. Review: Ethanol production at elevated temperatures and alcohol concentrations: Part I ± Yeasts in general. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Aarhus, v. 14, p. 809-821, 1998.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006, 237 p.

BHATIA, S.; OTHMAN, Z.; AHMAD, A. L. Pretreatment of palm oil mill effluent (POME) using *Moringa oleifera* seeds as natural coagulant. **Journal of Hazard Materials**, v. 145, p. 120–126, 2007.

BIDÓIA, V. S. **Emprego de extrato de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) na clarificação e fermentação do caldo de cana**. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.

BIOCONTAL. **Membrana celular, acetaldeído, etanol e rendimento fermentativo**. Disponível em: <<http://www.biocontal.com.br/informativos/06>>. Acesso em: 17/06/2014.

CAMOLEZ, M. A.; MUTTON, M. J. R. Influência de microrganismos contaminantes sobre o processo fermentativo. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 23, n. 5, p. 6-9, 2005.

CLARKE, M. A.; LEGENDRE, B. R. Qualidade da cana-de-açúcar: impactos no rendimento do açúcar e fatores de qualidade. **STAB: açúcar, álcool e subprodutos**, Piracicaba, v.17, n.6, 1999.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Cana-de-Açúcar - Primeiro Levantamento Safra 2014/2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_04_15_15_44_37_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_14.pdf>. Acesso em: 28/02/2014.

COPERSUCAR. **Manual de controle químico da fabricação de açúcar**. Piracicaba: COPERSUCAR, 2001.

COSTA, G. H. G. **Emprego do extrato de moringa (*Moringa oleífera* Lamarck) na clarificação do caldo de cana para produção de açúcar**. 2013. 115 f. Dissertação (mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2013.

COSTA, G. H. G.; MASSON, I. S.; FREITA, L. A.; ROVIERO, J. P.; MUTTON, M. J. R. Use of *Moringa oleífera* Lamarck leaf extract as sugarcane juice clarifier: Effects on clarified juice and sugar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 34, n. 1, p. 204-209, 2014.

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

DELGADO, A. A.; CESAR, M. A. A. **Elementos de tecnologia e engenharia do açúcar de cana**. v. 2. Sertãozinho: Zanini, 1977.

DOHERTY, W. O. S. Some aspects of calcium phosphate chemistry in sugarcane clarification. **International Sugar Journal**, Glamorgan, v. 111, n. 1327, p. 448-455, 2009.

DORTA, C. **Sinergismo entre sulfito, ácido láctico, pH e etanol na fermentação alcoólica de *Saccharomyces cerevisiae* PE-2 e M-26**. 2006. 135 f. Tese (doutorado em Ciências Biológicas - Microbiologia Aplicada) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro, 2006.

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

FDA (Foods and Drugs Administration of United States of America). Government Printing Office. Disponível em: <<http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2012-title21-vol3/pdf/CFR-2012-title21-vol3-sec173-10.pdf>>. Acesso em 08/01/2014.

FERRARI, F. C. **Fatores operacionais e cinética do processo fermentativo para a otimização do processo de produção de etanol em escala industrial**. 2013. 70 f. Dissertação (mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2013.

FOLIN, O.; CIOCALTEU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **The Journal of biological chemistry**, Bethesda, v. 73, n. 2, p. 627-50, 1927.

FREITA, L.A.; COSTA, G.H.G.; MASSON, I.S.; ROVIERO, J.P.; STROPPIA, K.; MUTTON, M.J.R. Efeito de nutrientes na fisiologia da levedura em processo fermentativo. 2013. Congresso Latinoamericano de Microbiologia, 21, 2012, Santos. **Anais...** Santos: SBM, 2012.

GASSENSCHMIDT, U.; JANY, K. D.; TAUSCHER, B.; NIEBERGALL, H. Isolation and characterization of a flocculating protein from *Moringa oleifera* Lam. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1243, n. 3, p. 477-481, 1995.

GHASI, S.; NWOBODO, E.; OFILI, J. O. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Philadelphia, v. 69, p. 21-25, 2000.

GUTIERREZ, L. E. Produção de glicerol por linhagens *Saccharomyces* durante fermentação alcoólica. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz**, Piracicaba, v. 48, p. 55-69, 1991.

HALLSWORTH J.E., Ethanol-induced water stress in yeast. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, Amsterdam, v., 85, n. 2, p. 125-137, 1998.

JAHN, S. A. A.; MUSNAD, H. A. BURGSTALLER, H. The tree that purifies water: cultivating multipurpose Moringaceae in the Sudan. **Unasyiva**, Sterling, v. 38, n. 152, p. 23-29, 1986.

KHANDAGAVE, R. B., THANGAMUTHU, P. A vegetable clarifying agent for cane juice clarification. In: ISSCT, 27., 2010, Vera Cruz-México. **Anais...** Vera Cruz: ISSCT, 2010.

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

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. **Produção de etanol**. In: LIMA, U.A. *Biotecnologia*, v. 3. São Paulo: E. Blucher, 2001.

MADALENO, L. L. **Cigarrinha-das-raízes na cana-de-açúcar e qualidade do açúcar produzido**. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal. Junho de 2010.

MADRONA, G. S. **Extração/purificação do composto ativo da semente da *moringa oleífera* Lam e sua utilização no tratamento de água para consumo humano**. 2010. 197 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

MASSON, I. S. **Produção de bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar**. 2013. 49 f. Dissertação (mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

MOREIRA, B. L. D.; PARAZZI, C.; PAPIN, L. F.; LOPES, J. J. C. Estudo de linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* oriundas da biodiversidade

ambiental na fermentação alcoólica. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, supl. 1, p. 1672-1677, 2013.

MURRAY, R. K.; BENDER, D. A.; BOTHAM, K. M.; KENNELLY, P. J.; RODWELL, V. W.; WEIL, P. A. **Bioquímica Ilustrada de Harper (Lange)**. 29. ed. Rio de Janeiro: Artmed, 2013.

MUTTON, M. J. R.; MADALENO, L. L.; RAVANELI, G. C.; GARCIA, D. B.; MUTTON, M. A. Spittlebugs injury on sugarcane increased sugar colour. In: ISSCT, 27., 2010, Vera Cruz-México. **Anais...** Vera Cruz: ISSCT, 2010.

NARENDRANATH, N. V.; THOMAS, K. C; INGLEDEW, W. M. Effects of acetic acid and lactic acid on growth of *Saccharomyces cerevisiae* in minimal medium. **Journal of Industrial Microbiology**, New York, v.26, p.171-177, 2001.

NEVOIGHT, E.; STAHL, U. Osmoregulation and glycerol metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **FEMS Microbiology Reviews**, Malden, v. 21, p. 231-241, 1997.

NOBRE, T. P.; HORII, J.; ALCARDE, A. R. Viabilidade celular de *Saccharomyces cerevisiae* cultivada em associação com bactérias contaminantes da fermentação alcoólica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 20-25, 2007.

OLIVEIRA, E. V.; FINZER, J. R. D. Clarificação do caldo de cana-de-açúcar usando taninos. In: Seminário de Iniciação Científica, 8., 2012, Uberaba. **Anais...** Uberaba: Uniube, 2012.

OMS – Organização Mundial da Saúde. **Consecuencias sanitarias de las presencia de acrilamida en los alimentos**. Switzerland: OMS, 2002.

PAVANI, C. D.; ROVIERO, J. P.; FREITA, L. A.; COSTA, G. H. G.; MUTTON, M. J. R. Efeito da concentração de N, P, Mg, Mn e Zn sobre a fisiologia da levedura em fermentação. **Revista Ciência & Tecnologia**, Jaboticabal, v.5, 2013.

PAYNE, J. H. **Operações Unitárias na Produção de Açúcar de Cana**. São Paulo: Nobel/STAB, 1989.

PMGCA – Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar. **Variedades RB**. Disponível em: <http://pmgca.dbv.cca.ufscar.br/dow/VariedadesRB_2008.pdf>. Acesso em: 17/06/2014.

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

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

REN, H.; WANG, X.; LIU, D.; WANG, B. A glimpse of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* responses to NaCl stress. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 4, p. 713-718, 2012.

RIPOLI, T. C. C.; RIPOLI, M. L. C. **Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente**. 2. ed. Piracicaba: Edição dos autores, 2009.

ROSSATO JÚNIOR, J. A. S. **Diatraea saccharalis (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) e Mahanarva fimbriolata (Stal) (Hemiptera: Cercopidae) em cana-de-açúcar :impacto na qualidade da matéria-prima, açúcar e etanol**. 2012. 96 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2012.

SCHWARZ, D. Water Clarification using *Moringa oleifera*. Eschborn, Germany: GIZ - Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit, 2000. (Technical Information). Disponível em: <http://www.gate-international.org/documents/techbriefs/webdocs/pdfs/w1e_2000.pdf>. Acesso em: 16 ago. 2013.

SEGATO, S. V., PINTO, A. S., JENDIROBA, E., NÓBREGA, J. C. M. **Atualização em produção de Cana-de-Açúcar**. ESALQ/USP. 2006.

SHANKAR, T.; THANGAMATHI, P.; RAMA, R.; SIVAKUMAR, T. Characterization of invertase from *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 170. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8, n. 13, p. 1386-1393, 2014.

STEINDL, R. J. Clarification of cane juice for fermentation. In: ISSCT, 27., 2010, Vera Cruz-México. **Anais...** Vera Cruz: ISSCT, 2010.

THAI, C. C. D.; BAKIR, H.; DOHERTY, W. O. S. Insights to the clarification of sugar cane juice expressed from sugar cane stalk and trash. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, p. 2916-2923, 2012.

VENTURINI FILHO, W.G.; BRUNELLI, L. T.; TONIATO, J.; NOJIMOTO, T.; NOVAES, F.V. Método simples para quantificar o metabolismo aeróbio e anaeróbio de levedura alcóolica. **Boletim do Centro de Pesquisas e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 31, n. 2, p. 227-236, 2013.

WALKER, G. M. **Yeast Physiology and Biotechnology**. 1. ed. USA: Wiley, 1998.

WANG, Z.; ZHUGE, J.; FANG, H.; PRIOR, B. A. Glycerol production by microbial fermentation: A review. **Biotechnology Advances**, Philadelphia, v. 19, n.3, p. 201-223, 2001.