

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**INFLUÊNCIA DO DESPONTE DE PANÍCULAS DE SORGO
SACARINO SOBRE A QUALIDADE DA MATÉRIA-PRIMA E
PRODUÇÃO DE BIOETANOL**

Aline Ferreira Silva

Bióloga

2014

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

**INFLUÊNCIA DO DESPONTE DE PANÍCULAS DE SORGO
SACARINO SOBRE A QUALIDADE DA MATÉRIA-PRIMA E
PRODUÇÃO DE BIOETANOL**

Aline Ferreira Silva

**Orientadora: Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton
Co-orientador: Prof. Dr. Miguel Angelo Mutton**

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

2014

S586i Silva, Aline Ferreira
Influência do desponte de panículas de sorgo sacarino sobre a
qualidade da matéria-prima e produção de bioetanol / Aline Ferreira
Silva. -- Jaboticabal, 2014
iii, 57 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014
Orientadora: Márcia Justino Rossini Mutton
Co-orientador: Miguel Angelo Mutton
Banca examinadora: Raúl Andres Martinez Uribe, Leonardo Lucas
Madaleno
Bibliografia

1. Sorghum bicolor. 2. Bioenergia. 3. Fermentação. 4. Enzimas. I.
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 664.111

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

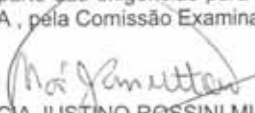
TÍTULO: INFLUÊNCIA DO DESPONTE DE PANÍCULAS DE SORGO SACARINO SOBRE A QUALIDADE DA MATÉRIA-PRIMA E PRODUÇÃO DE BIOETANOL

AUTORA: ALINE FERREIRA SILVA

ORIENTADORA: Profa. Dra. MARCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. MIGUEL ANGELO MUTTON

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. MARCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON

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


Prof. Dr. RAUL ANDRES MARTINEZ URIBE
Universidade do Sagrado Coração / Bauru/SP


Prof. Dr. LEONARDO LUCAS MADALENO
Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal / Jaboticabal/SP

Data da realização: 16 de dezembro de 2014.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

ALINE FERREIRA SILVA – Nasceu aos 10 de julho de 1988, na cidade de Porecatu, estado do Paraná. Em março de 2008 ingressou no curso de Ciências Biológicas na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, câmpus de Jaboticabal, recebendo o título de Bióloga em Janeiro de 2012. Durante o curso de Graduação foi bolsista do programa PIBIC/Cnpq. A partir de março de 2012 passou a integrar os grupos de pesquisa “Processos Biotecnológicos Aplicados à Agroindústria” e “Fisiologia e Manejo Sustentável da Cana-de-açúcar”, participando de diversos projetos. Em agosto de 2012 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária da FCAV- UNESP Jaboticabal, SP, obtendo o título de Mestre em dezembro de 2014.

Epígrafe

A mente que se abre a uma nova ideia
jamais volta a seu tamanho original.

Albert Einstein

Aos meus pais, Edimilson e Rose, pelo incentivo, conselhos, compreensão e amor incondicional.

Ao meu irmão Giovanni, pela amizade, carinho, e união todos os momentos.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me concedeu o privilégio de nascer e viver entre pessoas sensacionais que são o alicerce desta conquista.

Aos meus pais e irmão pelo carinho, incentivo, credibilidade e compreensão nas horas mais difíceis;

À prof. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton, orientadora desta dissertação, pela confiança em meu trabalho, pela acolhida, por todo o conhecimento transferido, pela sabedoria e amizade.

Ao Prof.Dr. Miguel Angelo Mutton, pela co-orientação, disponibilidade, empenho, paciência, estímulo e dedicação.

Aos membros da banca examinadora pela participação e considerações

Ao Programa de Microbiologia Agropecuária- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV/UNESP) pela oportunidade de realização do curso e aprimoramento profissional;

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo;

Aos funcionários do departamento de Produção Vegetal

A todos do Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Alcool, pelos bons momentos de aprendizado, de alegria e pela colaboração: Adriana, Cristhyane, Francieli, Gustavo, Igor, Jorge, Juliana Roviero, Juliana Stracieri, Larissa, Letícia, Lidyane, Marcel, Marcelo, Mateus, Nayara Abrão, Nayara Silvano, Natieli, Osania, Rita, Sílvia, Sérgio Filho, Sérgio Luís Nobukuni, Vitor;

As amigas que sempre estiveram presente ao meu lado, compartilhando bons momentos e alegrias: Camila, Luriany, Nayara, Rosmeriana e Raissa.

A todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para a concretização desse estudo.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
1. REVISÃO DE LITERATURA	3
1.1. Bioetanol: Panorama e Perspectivas.....	3
1.2. Sorgo Sacarino	4
1.3. Fermentação Etanólica.....	7
1.4. Enzimas.....	10
2. MATERIAL E MÉTODOS	15
2.1. Condições Experimentais	15
2.2. Delineamento Experimental.....	15
2.3. Amostragem e Obtenção do Caldo.....	16
2.4. Preparo do mosto	16
2.5. Análises químico-tecnológicas.....	17
2.6. Condução do processo fermentativo	17
2.7. Avaliação microbiológica das leveduras	18
2.8. Rendimento e eficiência fermentativa.....	19
2.9. Análise Estatística	19
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	20
3.1. Caracterização do caldo extraído	20
3.2. Tratamento do Caldo	27
3.3. Fermentação Alcólica	34
4.4 Produtividade.....	46
5. CONCLUSÃO.....	50
6. REFERÊNCIAS	51

INFLUÊNCIA DO DESPONTE DE PANÍCULAS DE SORGO SACARINO SOBRE A QUALIDADE DA MATÉRIA-PRIMA E PRODUÇÃO DE BIOETANOL

RESUMO - Em meio a diferentes matérias-primas renováveis disponíveis para a produção de etanol, o sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é uma das culturas mais promissoras devido ao grande acúmulo de açúcares presente em seus colmos e à sua ampla adaptabilidade em diferentes climas e solos. A viabilidade de seu uso em larga escala para a produção de etanol depende de práticas que otimizem o seu rendimento energético. Neste trabalho foram avaliados efeitos do desponte prévio a emergência das panículas e das épocas de colheita do sorgo sacarino na qualidade tecnológica dos colmos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com parcelas sub-subdividas e quatro repetições, em que os tratamentos primários corresponderam às cultivares de sorgo sacarino (CV147, CV198 e BRS508), os secundários, ao manejo dos colmos (com desponte prévio à emergência das panículas e colmos integrais, sem desponte) e os terciários às épocas de colheita (102 “fase de grão leitoso” e 116 “fase de grão pastoso” dias após semeadura). A qualidade dos colmos foi avaliada por meio da determinação dos seguintes parâmetros: Teor de sólidos solúveis (Brix), pH, Acidez, Açúcares Redutores (AR), Açúcares Redutores Totais (ART), Amido e Compostos Fenólicos. No processo fermentativo foi utilizada a levedura PE-2 e avaliados a viabilidade celular, viabilidade de brotos e índices de brotamento. As enzimas α -amilase e glucoamilase foram utilizadas no processo de clarificação do caldo e no processo fermentativo, respectivamente. Foram realizadas análises do vinho delevurado (Amido, Acidez Sulfúrica, Glicerol, Teor Alcoólico) e também a eficiência fermentativa e a produtividade. O desponte das panículas promoveu menores teores de amido e de compostos fenólicos no caldo, porém para as outras características o desponte afetou negativamente a qualidade tecnológica do sorgo sacarino. A época de colheita que proporcionou matéria-prima de melhor qualidade para a produção de etanol foi aos 102 dias após a semeadura. As enzimas α -amilase e glucoamilase foram eficientes na quebra e conversão do amido.

Palavras- Chave: *Sorghum bicolor*, Bioenergia, Fermentação, Enzimas.

INFLUENCE OF TOP REMOVED SWEET SORGHUM PANICLES ON THE QUALITY OF RAW MATERIALS AND BIOETHANOL PRODUCTION

ABSTRACT: Among the different renewable raw materials available for ethanol production, the Sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) is a potential crop to ethanol production, because its large adaptability in different soil and climates. This use viability in industrial scale depends of several practices to optimize its energetic yield. The effects of top removal in the anthesis stage and harvest times on sweet sorghum technological quality were evaluated in this research. The experiment was arranged in a split-split-plot as a completely randomized statistical design, with four replications. Main treatments corresponded to sweet sorghum cultivars (CV147, CV198 and BRS508), secondary were the stalks management (whole and topped stalks) and tertiary were the harvest times (102 “soft grain stage” and 116 “hard grain stage” days after sowing). The quality was evaluated by the parameters: Total Soluble Solids Content (Brix), pH, Acidity, Reducing Sugars (RS), Total Reducing Sugars (TRS), Starch and Phenolic Compounds. In fermentative process was used PE-2 yeast and was evaluated the cell viability, viability and budding of the yeasts. The α -amylase and glucoamylase were used in the clarification of the broth in the fermentation process, respectively. The delevurado wine analysis (Starch, Acidity sulfuric, Glycerol, Alcohol) and also the fermentation efficiency and productivity. The panicle removed promoted lower starch content, and the phenolic compounds in the juice, but for the other features top removed, affected negatively the technological quality of sweet sorghum. The harvest season, which provided the better raw material of quality for ethanol production, was at 102 days after sowing. The α -amylase and glucoamylase were effective in breaking, converting starch.

Keywords: *Sorghum bicolor*, Bioenergy, Fermentation, Enzymes.

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por fontes renováveis de energia, intensificou a busca por biomassas alternativas para a produção de combustíveis, como o etanol. Devido aos baixos índices de emissão de gás carbônico. Este biocombustível é atualmente uma das alternativas viáveis a substituição da gasolina.

As três culturas de maior potencial energético como fontes renováveis de energia são a cana-de-açúcar, a beterraba açucareira e o sorgo sacarino. A cana-de-açúcar e o sorgo sacarino destacam-se por serem culturas tropicais que apresentam colmos ricos em açúcares fermentáveis, além do resíduo sólido (bagaço), ser utilizado para produzir energia (queima em caldeiras), combustível (etanol de segunda geração), ração animal ou como adubo orgânico.

O sorgo sacarino é cultura C4 com alta eficiência fotossintética, que possui um ciclo vegetativo curto (90 a 120 dias), grande acúmulo de açúcar em seus colmos, elevado rendimento de biomassa, além de ser tolerante à seca e possuir capacidade de desenvolvimento em ampla gama de condições ambientais. No Brasil, destaca-se devido a possibilidade do cultivo ser realizado em áreas de replantio de cana-de-açúcar, aumentando a produção de combustível por área. Além disso, o maquinário utilizado para a colheita, carregamento e transporte de sorgo é o mesmo usado na indústria de cana-de-açúcar.

Entretanto, diferentemente da cana-de-açúcar, o final do ciclo vegetativo do sorgo sacarino caracteriza-se pela translocação da sacarose presente no colmo para os grãos da panícula. Neste processo, a molécula de sacarose é transformada em amido, açúcar este fermentescível pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Neste sentido, a remoção do topo de emersão das panículas antes enchimento dos grãos pode afetar positivamente o rendimento de açúcar do sorgo, pois os fotossintatos que seriam utilizados para a formação dos grãos podem ser armazenados como açúcares nos colmos da planta.

Inúmeras são as vantagens da utilização do sorgo sacarino, porém há uma limitação de experiência na produção de etanol. A viabilidade do seu uso depende de

práticas que otimizem o seu rendimento energético. Assim, o conhecimento das características químico-tecnológicas de sorgo sacarino e sua adequação ao processo de fermentação são de extrema importância.

Diante disto, no presente trabalho avaliou-se influência do desponte prévio à emergência das panículas e das épocas de colheita do sorgo sacarino sobre a qualidade tecnológica dos colmos para a produção de etanol.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Bioetanol: Panorama e Perspectivas

O etanol tem sido considerado uma alternativa para diminuir problemas ambientais e energéticos no mundo, em razão da escassez e alta dos preços dos combustíveis fósseis e da poluição causada por estes. Comparado com combustíveis fósseis, o etanol apresenta as vantagens de ser fonte renovável de energia, que contribui com a redução das emissões de dióxido de carbono (PACHECO, 2010).

O setor sucroenergético responde por 18% da matriz energética brasileira, apresentou um Produto Interno Bruto (PIB) de US\$ 48 bilhões, em 2011, obteve receitas de US\$ 15 bilhões com as exportações, emprega 1,2 milhões de pessoas e é abastecido por 70 mil produtores de cana (UNICA, 2012).

O Brasil é o segundo maior produtor de etanol, o maior exportador mundial, e é considerado o líder internacional em matéria de biocombustíveis e a primeira economia em ter atingido um uso sustentável dos biocombustíveis e deve aumentar em 90% a produção deste biocombustível na próxima década. O principal motivo para isto é atender à crescente demanda interna por combustíveis com maior mistura de etanol.

No que se refere ao etanol, o Brasil tem papel de destaque. A produção de etanol total fechou em 23,64 bilhões de litros na safra 2012/13 e é estimada em 27,17 bilhões de litros para 2013/14, um incremento de 3,53 bilhões de litros, alta de 14,94% (UNICA, 2014).

As projeções do etanol, referentes à produção, consumo e exportação no Brasil refletem grande dinamismo desse produto devido especialmente ao crescimento do consumo interno e as exportações de etanol. Segundo projeções, a produção global de etanol deve aumentar 40% na próxima década, aumentando também a demanda por matéria-prima.

Especificamente em relação ao volume comercializado de etanol hidratado no mercado doméstico, este somou 609,97 milhões de litros na primeira metade de novembro, frente a 564,80 milhões de litros registrados nos primeiros quinze dias de novembro em 2013. As vendas internas de etanol anidro, por sua vez, totalizaram

390,90 milhões de litros na primeira quinzena de novembro, contra 368,56 milhões de litros apurados no mesmo período de 2013 (UNICA, 2014).

No acumulado de abril até 15 de novembro, as vendas de etanol alcançaram 15,34 bilhões de litros. Deste montante, 14,45 bilhões de litros direcionaram-se ao abastecimento do mercado interno e apenas 891,17 milhões de litros à exportação.

Nesse cenário, tecnologias capazes de melhorar o desempenho da produção do setor ganham importância fundamental no país. O setor sucroalcooleiro brasileiro acredita que será um dos supridores mundiais de álcool combustível e de tecnologias modernas para montagem de destilarias em outros países do mundo. Especialistas alertam que ganhos de eficiência na produção do etanol são fatores preponderantes para competitividade em mercados mundiais (SOUSA, 2012).

De todo modo, ainda que de maneira muito otimista, estima-se a necessidade de incremento da produção em mais de 200 milhões de toneladas de cana nos próximos 8 anos. Significa um incremento superior a 50%, que exige não apenas a elaboração de um plano de expansão da produção. Devido a isso, busca-se alternativas em biomassas ricas em açúcares, que venham a complementar a safra da cana-de-açúcar. Conforme relata o Centro de Pesquisas da Petrobras (CENPES), uma opção no setor seria utilizar o sorgo sacarino.

O sorgo sacarino tem ganhado destaque devido a rapidez do ciclo de produção (90 a 120 dias), total mecanização da cultura (plantio por sementes, tratos culturais e colheita), alto teor de açúcares fermentescíveis, biomassa verde (60 a 80 t ha⁻¹), e rendimentos de etanol (3.000 a 6.000 L ha⁻¹) (CUNHA e SEVERO FILHO, 2010).

1.2. Sorgo Sacarino

O sorgo é uma planta originária da África, da família *gramineae*, do gênero *Sorghum*, e da espécie *Sorghum bicolor* L. Moench. É cultivado em muitos países da Ásia, África e Américas. O Brasil é o maior produtor na América do Sul, sendo o oitavo no ranking mundial (FAO, 2009). Quarto cereal mais produzido no mundo e quinto em área plantada, ficando atrás do trigo, arroz, milho e cevada. É cultivado principalmente nos trópicos semi-áridos do mundo, onde o sistema de produção é limitado por solos

pobres, baixa precipitação com chuvas irregulares com baixa quantidade de insumos, podendo resultar em baixa produtividade (SRINIVASA et al., 2009).

Segundo Ribas (2008), o sorgo é classificado em: granífero, forrageiro, sacarino, vassoura e biomassa. Os diferentes genótipos de sorgo compartilham a elevada taxa fotossintética, a sensibilidade ao fotoperíodo e a temperatura (QUILHÓ, 2011).

O sorgo, caracteriza-se como planta C4 com elevada atividade fotossintética, caracteriza-se pelo elevado rendimento de biomassa, grande quantidade de açúcares nos colmos e eficiência no uso da radiação (AUDILAKSHMI, et al., 2010), além de apresentar elevada adaptação a diferentes ambientes, com grande potencial para converter o CO₂ atmosférico em açúcares e biomassa (PIN, et al., 2011). Requer um quarto da quantidade de água que a cana-de-açúcar necessita. Possui quantidade de açúcares totais (redutores e não redutores) no caldo extraído similares à da cana.

Atualmente, o sorgo sacarino surge como cultura energética promissora, possuindo na constituição três grupos de materiais susceptíveis a fermentação etanólica, os açúcares presentes nos colmos, o amido dos grãos, e os materiais lenho-celulósicos como seu bagaço.

É cultivado, geralmente, onde a precipitação anual se situa entre 375 e 625 mm ou sob irrigação suplementar (RIBAS, 2008). A temperatura ótima varia entre 16 °C e 38°C conforme a cultivar, temperaturas noturnas 5°C acima do valor ótimo podem reduzir em até 33% a produtividade (EMBRAPA, 2011). Devido às características xerofíticas, o sorgo mantém-se dormente durante o período de seca, retomando o crescimento assim que as condições sejam favoráveis (LANDAU e SANS, 2009). Com relação à nutrição da planta a exigência nutricional está diretamente relacionada com a produtividade. Por sua vez, verifica-se que a produção apresenta exigências por nutrientes, em ordem decrescente para o nitrogênio e potássio, seguido de cálcio, magnésio e fósforo (EMBRAPA, 2010).

Várias vantagens tornam o cultivo comercial do sorgo sacarino viável, dentre estas o fato de possuir ciclo vegetativo bem mais curto quando comparado com a cana de açúcar, de 120 a 130 dias podendo ser alternativa para a entressafra da cana, e adicionalmente produz grãos que também podem ser processados na indústria ou utilizados como opção econômica para elaboração de ração animal como também na

alimentação humana (SOUZA et al., 2005). O bagaço pode ser utilizado para produção de energia na indústria, para a adubação orgânica, fabricação de papel (WANG et al., 2012; WHITFIELD et al., 2012) e produção de etanol de segunda geração através da conversão bioquímica (SALVI et al., 2010; LI et al., 2010).

No processamento industrial do sorgo sacarino a extração é realizada de forma muito similar ao da cana-de-açúcar, sendo necessários pequenos ajustes operacionais. O etanol também é produzido por meio de tecnologia de fermentação, modo semelhante a cana, podendo utilizar mesma infra-estrutura e maquinário da indústria canavieira (SRINIVASA et al., 2009).

Vários insetos e patógenos podem atacar a cultura de sorgo. Dentre as pragas destacam-se as de solo (lagarta elasmô, lagarta rosca e as formigas), duas espécies de pulgão (pulgão de trigo e o pulgão de milho), além da broca da cana-de-açúcar. Dentre as doenças, a podridão das sementes pode afetar a germinação e o desenvolvimento vegetativo da cultura; doenças foliares tais como a antracnose, ferrugem, vírus do mosaico da cana-de-açúcar e o milídio do sorgo; doenças do colmo, como a podridão de *Macrophomina* e a podridão vermelha do colmo, e a doença açucarada do sorgo “ergot” (*Sphacelia sorghi*) merecem destaque no cultivo de sorgo (EMBRAPA, 2009).

Assim como a cana-de-açúcar, o colmo de sorgo é dividido em nós, entrenós e folhas ao longo de toda a planta. Porém, possui uma inflorescência, a panícula, e seu fruto é uma cariopse ou grão seco. A planta pode atingir de 1 a 4 metros de altura, tendo vários colmos por pé (afilhamento), em que cada um dos quais tem uma influência terminal do tipo paniculado. Uma espiga séssil, fértil, acompanhada por duas espiguetas estéreis pedunculadas, caracteriza o gênero (DINIZ, 2010).

Durante a fase de instalação da cultura, é importante que a germinação, emergência e crescimento inicial da plântula, ocorram em menor tempo possível garantindo estande ideal de plantas, bem como, ocorra um controle eficiente das plantas daninhas até a fase de indução floral, para que a produtividade não seja reduzida significativamente (DINIZ, 2010).

O momento em que as plantas de sorgo passam da fase vegetativa para a reprodutiva auxilia no entendimento das variações na produção. Após finalizar o estágio de juvenilidade, quando a planta é insensível ao fotoperíodo, inicia-se a fase

indutiva ao florescimento, na qual ela é sensível a esse fator climático. Nesta fase, sob fotoperíodos indutivos, as plantas de sorgo passam por mudanças fisiológicas no meristema apical, caracterizada pela iniciação do meristema floral (DINIZ, 2010).

O estágio de desenvolvimento da planta vai da indução floral até o florescimento. Os processos fisiológicos, se afetados, poderão comprometer o rendimento da cultura, dentre estes a área foliar, o desenvolvimento do sistema radicular, o acúmulo de matéria seca e o estabelecimento de um número potencial de sementes (DINIZ, 2010). Já no terceiro estágio de crescimento que vai da floração a maturação fisiológica das sementes, os fatores considerados mais importantes são aqueles relacionados ao enchimento de grãos (DINIZ, 2010).

Considerando-se o sorgo sacarino e o forrageiro, a produção de grãos é um aspecto secundário, destacando-se os processos fisiológicos que proporcionam maior produção de biomassa total, e no caso do sorgo sacarino, que também resultem maior acúmulo e armazenamento de açúcares nos colmos. O chamado sorgo biomassa tem sido pesquisado e apresenta qualidade para gerar energia com poder calorífico similar ao da cana, do eucalipto e do capim-elefante.

1.3. Fermentação Etanólica

A fermentação alcoólica é utilizada desde a antiguidade. Os registros comprovam que os sumérios, egípcios e babilônios já conheciam e produziam alimentos e bebidas fermentadas. A produção de bebidas fermentadas de grão de cereais já era realizada antes do ano 6.000 a.C. (VILLEN, 2009). O primeiro a realizar um estudo quantitativo da fermentação alcoólica foi Lavoisier em 1789. Porém, foi Pasteur, a partir de 1857, que explicou a natureza da fermentação alcoólica, atribuindo-a a seres vivos, as leveduras (MENEZES, 1980).

As leveduras são os micro-organismo mais importantes na obtenção do álcool por via fermentativa. O gênero *Saccharomyces* é um dos grupos de micro-organismos mais estudados, devido a ampla aplicação na indústria de biotecnologia (PACHECO, 2010).

Definidas como fungos especializados, unicelulares e aclorofilados, as leveduras são os agentes biológicos ativos responsáveis pela fermentação alcoólica

e, por isso, é de extrema importância a escolha da linhagem apropriada para o êxito da fermentação. Como aspectos nutricionais, as leveduras se desenvolvem em substratos simples, constituídos por fontes de carbono e sais minerais (MENEZES, 1980).

A fermentação alcoólica é, portanto, processo biológico conduzido pela levedura, normalmente *Saccharomyces cerevisiae*. Trata-se de organismos com múltiplas habilidades metabólicas, podendo alterar a estequiometria da fermentação em resposta a alterações no meio, com grande impacto no rendimento do processo (LIMA et al., 2001). Estas se reproduzem por brotamento (gemação), em que a célula mãe, após um período de união entre os citoplasmas, dá origem a uma nova célula (STECKELBERG, 2001).

Para a condução de uma boa fermentação alcoólica alguns requisitos devem ser considerados:

- Velocidade de fermentação: a quantidade de açúcar transformado em álcool e de massa de levedura por unidade de tempo devem ser elevadas;
- A obtenção de leveduras que resistam a altas concentrações de etanol são de grande interesse, pois isso possibilita a obtenção de vinhos com maior teor alcoólico reduzindo os custos com a destilação.
- A levedura deve ter uma boa eficiência de conversão, ou seja, deve possuir uma boa capacidade de converter o açúcar em álcool.
- Além da resistência ao álcool, a levedura precisa tolerar o baixo pH do meio e antissépticos, uma vez que um dos recursos usados para combater as infecções do mosto e do vinho é baixar o pH ou adicionar antisséptico.

A estabilidade genética deve ser mantida nas gerações subsequentes da linhagem genitora, ou seja, as transferências contínuas e sucessivas em meios de cultura não devem alterar suas propriedades fermentativas desejáveis (LIMA et al., 2001).

A fermentação alcoólica é a ação de leveduras sobre açúcares fermentescíveis contidos em uma solução. É um processo biológico no qual a energia fornecida por reações de oxidação parcial pode ser utilizada para o crescimento de leveduras e a oxidação parcial anaeróbia da hexose na produção de álcool e CO₂ (LIMA e MARCONDES, 2002).

De acordo com Angelis (1992), a concentração de açúcares afeta tanto a produção da biomassa celular da levedura como o processo fermentativo. Segundo Stupiello e Horii (1981) as células de leveduras em substratos com teores elevados de açúcares, mesmo na presença de oxigênio, têm a respiração reprimida e tendem a fermentar pela inibição da síntese de enzimas respiratórias e consequente inatividade das mitocôndrias, através do chamado Efeito Crabtree.

Altas concentrações de açúcares promovem elevados teores alcoólicos, podendo comprometer a viabilidade das células ou ainda resultar em fermentações lentas e incompletas, com formação de subprodutos. Como consequência, tem-se menores rendimentos alcoólicos e a diminuição da viabilidade celular da levedura, favorecendo o desenvolvimento de contaminantes (ANGELIS, 1992). Desta forma, no preparo do mosto, a concentração de açúcar total deve ser compatível com a natureza e composição da matéria-prima, com o tipo de levedura empregada e com o processo de condução da fermentação (STUPIELLO e HORII, 1981).

As leveduras são micro-organismos aeróbios facultativos, que na presença de O_2 (aerobiose) respiram, a cada molécula de glicose produzem 38 moléculas de ATP e, na ausência de O_2 (anaerobiose) ocorre à fermentação alcoólica, no qual a cada molécula de glicose produz duas de ATP. Os substratos podem ser exógenos, como dissacarídeos (sacarose), monossacarídeos (glicose e frutose) e polissacarídeos (lignocelulose, entre outros) que são oferecidos à levedura e, podem ser endógenos, constituintes da levedura (glicogênio e trealose). Na ausência de substrato, a levedura consome a própria reserva de nutrientes (AMORIM, 2005).

A rota metabólica principal envolvida na fermentação alcoólica é a glicólise, na qual uma molécula de glicose é metabolizada e duas moléculas de piruvato são produzidas. Sob condições anaeróbias, o piruvato é convertido a etanol com desprendimento de CO_2 . Dois ATPs produzidos na glicólise são usados na condução da biossíntese das leveduras, que envolve diversas biorreações que requerem energia. Sem o consumo contínuo de ATP pelo crescimento celular, o metabolismo glicolítico seria interrompido imediatamente, em razão do acúmulo intracelular de ATP, que inibe a fosfofrutoquinase, uma das mais importantes enzimas reguladoras da glicólise (BAI et al., 2008).

Ao metabolizar anaerobiamente o açúcar, a levedura tem como objetivo gerar uma forma de energia (ATP) que será empregada na realização de diversas funções fisiológicas e biossíntese necessárias à manutenção da vida, crescimento e multiplicação. O etanol e CO₂ são resultantes dos produtos de excreção, sem utilidade metabólica para a célula em anaerobiose (LIMA et al., 2001).

Fatores físicos (temperatura, pressão osmótica), químicos (pH, oxigenação, nutrientes minerais e orgânicos inibidores) e microbiológicos (espécie, linhagem e concentração da levedura, contaminação bacteriana), afetam o rendimento da fermentação e a eficiência da conversão de açúcar em etanol (LIMA et al., 2001).

As leveduras são mesófilas. Temperaturas acima de 35°C favorecem a multiplicação de bactérias, reduz a viabilidade do fermento e aumenta a acidez. De acordo com Menezes (1980), a faixa de temperatura recomendada está entre 25 e 36°C. Temperaturas inferiores retardam a fermentação e temperaturas superiores ocasionam a evaporação do álcool e favorecem o aparecimento de contaminações.

O pH ideal para favorecer a levedura e inibir o desenvolvimento de muitos tipos de bactérias está entre 4,0 e 5,0 (MENEZES, 1980). Em mostos industriais, os valores de pH geralmente se encontram na faixa de 4,5 a 5,5 (LIMA et al., 2001).

Durante o processo fermentativo, podem participar outros microrganismos que são introduzidos involuntariamente no sistema, como as bactérias. Tais microrganismos são indesejáveis e responsáveis pela redução do rendimento alcoólico e depreciação na qualidade do produto final.

1.4. Enzimas

As enzimas são substâncias orgânicas, conhecidas como biocatalisadores, compostas por polímeros de aminoácidos, que atuam acelerando a velocidade das reações químicas que ocorrem dentro de células vivas, sem sofrer qualquer alteração geral dos agentes envolvidos (ROSAS, 2003).

De acordo com Harger (1982), enzimas são biocatalisadores de estrutura proteica globular terciária ou quaternária, termolábeis e não dialisáveis, que aumentam muito a velocidade de uma reação química, atuam reduzindo a barreira energética destas reações. As enzimas efetuam processos metabólicos na célula viva.

Ocorrem em todos os organismos vivos sejam plantas ou animais, desde os mais simples, como formas unicelulares de vida, aos mais desenvolvidos. Conforme Leadlay (1993), as enzimas são de especial importância em fermentações industriais, uma vez que todos os processos de fermentação resultam da atividade enzimática de microrganismos.

As enzimas são classificadas pelos substratos com que reagem e por sua especificidade de reação (LAIDLER, 1954). São obtidas de três fontes diferentes: vegetais superiores (papaína do mamão, bromelina do abacaxi, ficina do figo); animais superiores (enzimas pancreáticas, pepsina, catalase, renina) e microrganismos (como por exemplo, as amilases, proteases, pectinases, invertases, glicose-oxidases, celulasas, fitases, glicose-isomerases), de origem fúngica ou bacteriana (HARGER, 1982).

As enzimas microbianas podem ser extracelulares (enzimas eliminadas ao meio) ou intracelulares (enzimas retidas no interior das células microbianas). Grande parte das enzimas utilizadas nas indústrias são enzimas extracelulares de origem microbiana. As principais aplicações das enzimas extracelulares que degradam o amido consistem na conversão do amido em monossacarídeos como a glucose, em dissacarídeos como a maltose e em oligossacarídeos como as dextrinas. As enzimas que degradam o amido também são empregadas na obtenção de açúcares fermentescíveis utilizados nas indústrias cervejeiras e na produção de bebidas alcoólicas.

1.4.1. Enzimas Amilolíticas

As enzimas são denominadas de acordo com o substrato sobre o qual atuam, portanto, o termo amilase indica a ação sobre o amido (amilo), que contém dois tipos de polissacarídeos: a amilose (15-20%) e a amilopectina (80-85%) (HARGER, 1982).

Gupta et al. (2003) e Pandey et al. (2005) citam que as amilases hidrolisam moléculas de amido liberando diversos produtos, incluindo dextrinas e progressivamente pequenos polímeros compostos de unidades de glicose. Estas enzimas apresentam grande importância em biotecnologia com aplicações desde alimentos, fermentação, têxtil e indústrias de papel. Atualmente grandes quantidades

de amilases microbianas estão disponíveis comercialmente e têm aplicação quase completa na hidrólise do amido em indústrias de processamento do amido.

Conforme conceituadas por Reed (1975), as enzimas responsáveis pela degradação de amido estão amplamente distribuídas na natureza. Entre estas estão as amilases, que atuam sobre o amido, glicogênio e polissacarídeos para hidrolisar as ligações glicosídicas α -1,4.

As amilases podem ser divididas em três grupos: as α -amilases, as quais rompem as ligações no interior do substrato (endoamilases); as β -amilases, que hidrolisam unidades das extremidades não redutoras do substrato (exoamilases); e as glucoamilases (amiloglucosidases), as quais liberam unidades de glicose do terminal não-redutor das moléculas do substrato.

Atualmente, são conhecidas várias enzimas que hidrolisam a molécula de amido em diferentes produtos e a ação combinada de várias enzimas é necessária para a completa hidrólise do amido. A amilose, um dos componentes do amido e fécula, é formada por unidades de D-glucose unidas linearmente por ligações α -1,4. Segundo os autores, possui uma extremidade redutora e uma não-redutora. A α -amilase hidrolisa a cadeia linear da amilose, atacando ao acaso as ligações α -1,4 por toda a cadeia, produzindo uma mistura de maltose e glucose. A β -amilase, ataca a extremidade não redutora da amilose, dando sucessivas unidades de maltose. A amilopectina é um polissacarídeo ramificado; na sua molécula, cadeias mais curtas de glucose unidas por ligações α -1,4 são também unidas entre si por ligações α -1,6 (das quais se podem obter a isomaltose) (CONN e STUMPF, 1975).

A amilopectina também pode ser atacada por α -amilase e β -amilase, mas as ligações α -1,4 próximas das ramificações da amilopectina, e as ligações α -1,6 não são hidrolisadas por essas enzimas. Desse modo, um núcleo condensado e ramificado, obtido da amilopectina original – denominado dextrina limite – é o produto dessas enzimas. Uma outra enzima, a α -1,6 glucosidase irá hidrolisar a amilopectina até uma mistura de glucose e maltose (CONN e STUMPF, 1975).

1.4.2. α -Amilase

Em meio a diferentes enzimas amilolíticas, a α -amilase é uma das mais importantes, pois desempenha papel fundamental na conversão do amido em

produtos de baixa massa molecular, que podem ser utilizados por outras enzimas do mesmo grupo. A α -amilase (1,4- α -glucan-4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1.) é uma enzima que quebra as ligações $\alpha(1,4)$ dos polissacarídeos que possuem três ou mais unidades de D-glucose em união $\alpha-1,4$. O ataque ocorre na forma não seletiva (tipo endoenzima) sobre vários pontos da cadeia simultaneamente, sendo que os primeiros produtos da hidrólise são sempre oligossacarídeos de 5 a 7 unidades de glicose. Após a ação, liberam unidades de glicose, oligossacarídeos de diferentes pesos moleculares e dextrinas. Atua, isolada ou simultaneamente, com outras enzimas amilolíticas, apresentando importantes aplicações como na indústria de alimentos, bebidas e na obtenção de produtos têxteis e farmacêuticos. As α -amilases endógenas de sementes de cereais são utilizadas na indústria de panificação e cervejarias, enquanto as de origem microbiana são empregadas em processos onde é necessária a sacarificação e a liquefação do amido (PANDEY et al., 2005).

O peso molecular da α -amilase varia de 10 a 210 KDa, dependendo da sua origem. As α -amilases microbianas apresentam peso molecular entre 50 e 60 KDa (GUPTA et al., 2003), sendo que as α -amilases bacterianas apresentam variação de 28 a 78 KDa e as α -amilases fúngicas (41 a 69 KDa) de acordo com os resultados de diferentes autores citados por Pandey et al. (2005). A ação da α -amilase sobre a amilose conduz a 87% de maltose e 13% de glicose; e sobre a amilopectina 73% de maltose, 8% de isomaltose e 19% de glicose.

Para a atividade da α -amilase é necessária a presença de Ca^{+2} como cofator; as amilases de origem diferentes se diferenciam pela força de ligação com o cálcio.

O pH ótimo para a α -amilase fúngica está entre 5,0 e 6,0. Possui caráter ácido e é solúvel em água. Sua atividade diminui rapidamente acima de 50°C, mas na presença de um excesso de íons cálcio a desativação pode ser diminuída. Íons de metais pesados, como o mercúrio, a prata e o chumbo inibem a α -amilase (HARGER, 1982).

A faixa ótima de temperatura para sua atividade é de 55 a 75°C, que varia dependendo da fonte. A atividade aumenta consideravelmente de 0° a 40°C, entretanto, as amilases bacterianas apresentam maior estabilidade frente às temperaturas superiores a 40°C, com atividade ótima ao redor de 70°C (REED, 1975).

1.4.3. Amiloglucosidase (Glucoamilase)

A amiloglucosidase, ou glucoamilase, ou glicoamilase, (1,4) (1,6)- α -D-glucan glucanohidrolase, EC 3.2.1.3, é uma enzima extracelular que rompe as ligações α -1,4 e α -1,6 do amido a partir da extremidade não redutora até glicose (LIN et al, 1993; PANDEY et al, 2005). Além das frações amilose e amilopectina do amido, outras moléculas como maltose, dextrinas e glicogênio são hidrolisados pela enzima, que atua também sobre as ligações α -1,3. A amiloglucosidase é uma enzima de indução, sendo importante a presença de maltose ou amido no meio para elevada produção.

A enzima é encontrada no sangue, em meios de crescimento de bactérias e no malte de cevada; porém são produzidas por fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Rhizopus*, assumindo importância industrial devido à habilidade de formar menos produtos de reversão que a hidrólise ácida (PARK e SANTI, 1977), bem como à sua alta taxa de conversão do polissacarídeo em glicose. Assim, a amiloglucosidase é usada em amidos liquefeitos com α -amilase para chegar a produtos que serão usados como substratos para fermentações, ou para a obtenção biotecnológica de glicose e dextrinas.

A principal utilização da glucoamilase está na indústria de processamento de alimentos para produzir açúcares solúveis do amido (MACKENZIE et al., 2000). A glucoamilase produz xaropes com alto teor de glicose, em torno de 96 a 98% (CEPEDA et al., 2001). Os mesmos autores complementam que vários micro-organismos e plantas produzem a glucoamilase, das quais a maior parte disponibilizada comercialmente é produzida por linhagens dos fungos *Aspergillus* e *Rhizopus sp.* sendo a enzima produzida por *Aspergillus* mais termoestável, apresentando a máxima atividade em torno do pH 4,5, em temperaturas de 50-55°C sendo, entretanto, rapidamente inativada em temperaturas próximas a 60°C. Esta termoestabilidade limitada afeta seu uso no processo industrial, onde a atuação prolongada em altas temperaturas é necessária.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Condições Experimentais

O sorgo sacarino foi cultivado na área experimental do departamento de Produção Vegetal da FCAV- Jaboticabal – SP (21°14'05" S e 48°17'09"W), na safra 2012/2013. O espaçamento utilizado para a semeadura foi de 45 cm entre linhas. A adubação de plantio foi de 36-126-72 kg ha⁻¹ de N-P₂O₅-K₂O.

O plantio foi feito em 03 de Janeiro de 2013, com distribuição manual no sulco de plantio, de 15 sementes por metro, as quais foram, cobertas com camada de solo de 2 a 3 cm. Aos 15 dias após semeadura (d.a.s.), realizou-se o desbaste, mantendo-se 6 plantas por metro, para se obter estande final de 120.000 plantas ha⁻¹. Durante o período de plantio da cultura não foram realizadas irrigações, visto que o período

Durante o período experimental o tratamento fitossanitário foi priorizado, para garantir a manutenção da sanidade da cultura. Para controle da lagarta do cartucho aos 22 d.a.s. aplicou-se 250 mL ha⁻¹ de Engeo Pleno® (Tiametoxam / Lambda cialotrina). Não foram necessárias aplicações de fungicidas e herbicidas na cultura durante o período experimental.

Aos 70 d.a.s, estágio de desenvolvimento das panículas, quando a folha bandeira estava visível, foram realizadas as remoções manuais com uso de tesouras de poda, do último entrenó do sorgo nas parcelas apropriadas, inibindo assim o desenvolvimento das panículas. Nas parcelas controles as panículas foram mantidas intactas.

2.2. Delineamento Experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em parcelas sub-subdivididas, com quatro repetições. Os tratamentos principais foram três cultivares de sorgo sacarino (CV147, CV198 e BRS508), os secundários os sistemas de manejo dos colmos: com desponete prévio à emissão das panículas e

colmos integrais. Os tratamentos terciários corresponderam às duas épocas de colheita (102 “grão leitoso” e 116 “grão pastoso” dias após a semeadura).

Cada parcela experimental foi constituída por 12 linhas de 11 metros cada, com 59,4 m² de área total. Para área útil, foram consideradas as 8 linhas centrais, com 9 metros de comprimento, totalizando 32,4 m².

A cultivar CV147 apresenta como principais características uma maior sanidade e tolerância, e sua colheita é tardia. Em ambientes favoráveis, a melhor época de colheita ocorre dos 110 aos 115 d.a.s. Em ambientes desfavoráveis, este período de colheita muda para 105 até 110 d.a.s. (MONSANTO, 2012).

A cultivar CV198 apresenta como características um alto potencial produtivo, riqueza e precocidade. Indicado para ambientes de maior fertilidade. Em ambientes favoráveis, a melhor época de colheita ocorre dos 90 aos 100 d.a.s. (MONSANTO, 2012).

A cultivar BRS508 apresenta estabilidade de produção e altos teores de açúcares fermentescíveis no caldo (média de 22º Brix), com ótimo padrão de fermentação, associados ao baixo custo de produção e alto potencial de produção de colmos (média de 50 t ha⁻¹). Possui características importantes como a resistência ao acamamento e a alta sanidade foliar. O ponto de colheita ideal varia dos 100 ao 120 d.a.s. (EMBRAPA, 2011).

2.3. Amostragem e Obtenção do Caldo

Durante cada época de colheita, 15 colmos inteiros (com panículas e folhas) e 15 colmos despontados foram colhidos, para garantir a quantidade de caldo para a realização de todas as análises. O caldo foi extraído segundo método da prensa hidráulica (TANIMOTO, 1964), empregando-se colmos previamente desintegrados e homogeneizados. Após extração, os caldos, devidamente acondicionados, foram encaminhados ao Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Alcool e Microbiologia das Fermentações do Departamento de Tecnologia da FCAV/UNESP, para determinação das características químico-tecnológicas.

2.4. Preparo do mosto

O caldo extraído de sorgo sacarino foi submetido à clarificação pelo processo de defecação simples, para remoção de impurezas. Este processo consistiu na adição de 300 mg/L de ácido fosfórico, com correção do pH para $6,0 \pm 0,1$ através de adição de hidróxido de cálcio a 6º Bé. A seguir procedeu-se ao aquecimento desta mistura até fervura e reação com polímero (Mafloc) na concentração de 2mg/L, enzima α -amilase Termamyl 2x - Novozymes na concentração de 1mg/L. dispendo-se em provetas, permanecendo em repouso por 60 minutos no decantador aquecido por lâmpadas. Após esse período, o caldo foi sifonado, para separação de impurezas sedimentadas, resultando no caldo clarificado.

O caldo clarificado foi padronizado para valores próximos à 16 Brix, o pH corrigido com Ácido Sulfúrico até 4,5 ($\pm 0,3$) e a temperatura ajustada a 30°C, resultando no mosto.

2.5. Análises químico-tecnológicas

Avaliou-se a qualidade dos caldos, extraído e clarificado, e mosto pela determinação das características químico-tecnológicas:

- a) Brix (ICUMSA, 2011);
- b) pH (leitura direta em medidor digital com correção de temperatura);
- c) Açúcares redutores (AR) (MILLER, 1959);
- d) Açúcares redutores totais (ART) (LANE e EYNON, 1934);
- e) Compostos fenólicos totais (FOLIN e CIOCALTEAU, 1927);
- f) Acidez Total e Amido (CTC, 2005).

2.6. Condução do processo fermentativo

A linhagem de levedura utilizada para a fermentação foi a estirpe de *S. cerevisiae* PE-2. Suas principais características são a alta resistência aos choques de pH e longas paradas na fermentação e ao processo de reciclo. Também apresenta

baixa formação de espuma, alta capacidade de implantação e predominância com elevado rendimento fermentativo (LNF, 2013).

Para o preparo do pé-de-cuba, a levedura foi noculada com solução de glicose a 5%. Posteriormente alíquotas de 250 mL de mosto foram inoculadas com a levedura fermentadora, em concentração de 30 g L⁻¹, juntamente com a enzima amiloglucosidade (Novozymes) na concentração de 2mg L⁻¹. sendo os frascos inoculados mantidos a 32^o±1^oC durante todo o processo.

A condução da fermentação foi realizada pelo processo em bateladas com recuperação do fermento por centrifugação. O processo fermentativo foi monitorado pela redução do Brix, com auxílio de densímetro, a cada 4 horas. No início da fermentação (1 hora após inoculação) e ao final do processo, quando o Brix apresentava valores inferiores a 2 ou próximos de zero em intervalos de 30 minutos, ou quando os valores de brix permaneciam estáveis durante 1 hora, foram retiradas alíquotas do fermentado para realização das análises microbiológicas.

Ao término de cada fermentação, que duravam em média de 8 a 10 horas, os vinhos foram centrifugados a 1650g, 25 °C, por 5 minutos (centrífuga HIMAC CR 21G) para separação do fermento e do vinho.

Nas amostras de vinho delevurado, foram quantificados: Acidez Sulfúrica e Glicerol (COPERSUCAR, 2001); pH (medidor digital). O Teor Alcoólico foi determinado através de leitura em densímetro digital Anton- Paar®.

2.7. Avaliação microbiológica das leveduras

Em três etapas do processo fermentativo (Pé-de-Cuba, Início e Final) foram realizadas contagens de células de leveduras em Câmara de Neubauer (LEE et al., 1981). Os parâmetros microbiológicos avaliados foram: viabilidade celular das leveduras, viabilidade de brotos, índice de brotamentos, que foram calculados através das seguintes fórmulas:

a) Viabilidade Celular % = células vivas x 100/células vivas + mortas

b) Viabilidade de Brotos % = brotos vivos x 100/ brotos vivos + mortos

c) Índice de Brotamentos % = brotos vivos x 100/ células vivas + mortas

2.8. Rendimento e eficiência fermentativa

O Rendimento Teórico foi calculado considerando-se que 1g de ART produz 0,6475 mL de etanol (reação estequiométrica). O rendimento prático (considerando-se o teor alcoólico do vinho), eficiência fermentativa e produtividade de etanol (L/ha), (L/t) e (L/ha/mês) foram calculados segundo Fernandes (2000).

2.9. Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância pelo teste F, e as médias analisadas segundo teste de Tukey (5%).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Caracterização do caldo extraído

Nas tabelas 1, 2 e 3 estão apresentados os resultados médios obtidos para Brix do caldo extraído de diferentes cultivares, em diferentes sistemas de manejo e em duas épocas de colheita. Observou-se que, de modo geral, a cultivar BRS508 apresentou os maiores valores em relação aos demais, exceto CV198 (integral). As concentrações de sólidos solúveis foram da faixa de 13,8 a 17,0, valores estes semelhantes com os resultados obtidos por Rutto et al. (2013), que verificaram teores entre 13,8 a 18,7%.

Neste sentido, observou-se ainda que a realização do desponte do sorgo sacarino promoveu decréscimo do teor de Brix para as cultivares CV147 e CV198 (Tabela 2). Rajendran et al. (2000) ao realizarem a remoção antecipada da panícula do sorgo, também observaram diminuição deste parâmetro. Esse efeito foi atribuído à utilização dos açúcares no metabolismo da planta, pois em condições normais, ocorre translocação dos açúcares do colmo para a panícula, onde são armazenados nos grãos em forma de amido. A realização do prévio desponte impossibilitou este metabolismo da planta, sendo observado o desenvolvimento de brotações laterais no colmo e formação de novas panículas, que provavelmente resultaram no consumo destes carboidratos.

Erickson et al. (2012) e Broadhead (1973) observaram que a remoção do topo dos colmos de cultivares de sorgo sacarino resultavam em aumento do Brix. Segundo estes autores, o maior acúmulo de açúcares nos colmos tem sido atribuído as mudanças de padrões na distribuição dos açúcares, ou seja, a partir da remoção das panículas o colmo se torna via alternativa predominante. Entretanto, não descrevem se houve nos tratamentos a ocorrência de brotações laterais e emissão de novas panículas. Neste sentido, pode-se inferir que o comportamento do Brix é diretamente relacionado à cultivar processada.

Tabela 1. Valores médios obtidos para Brix, pH, Acidez Total, Açúcares Redutores (AR), Açúcares Redutores Totais (ART) e Amido do caldo extraído de três cultivares de sorgo sacarino (CV147, CV198 e BRS508), em dois sistemas de manejo (Integral e Despontado) e em duas épocas de amostragem (102 e 116 d.a.s.) Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014.

Tratamentos	Brix	pH	Acidez Total	AR	ART	Amido
Cultivares (A)			g L ⁻¹	%	%	mg L ⁻¹
CV147	14,5B	4,96A	1,42B	3,59A	11,61A	415,2A
CV198	15,2B	4,88B	1,57AB	2,52B	11,23A	360,2A
BRS508	16,9A	4,86B	1,83A	1,85B	12,18A	515,9A
Teste F	19,3**	38,08**	7,43*	28,14**	1,43ns	0,28ns
DMS	1,17	0,03	0,33	0,718	1,72	578
C.V	6,97	0,71	18,90	24,94	13,64	32,77
Manejo (B)						
Integral	15,8A	4,95A	1,70A	2,73A	11,74A	487,8A
Despontado	15,2B	4,84B	1,50B	2,57A	11,61A	373,1B
Teste F	10,59**	43,17**	8,61*	0,59ns	0,17ns	6,27*
DMS	0,41	0,03	0,15	0,44	0,71	107,9
C.V	4,13	1,20	14,25	25,48	9,36	12,12
Épocas - d.a.s (C)						
102	15,2B	4,95A	1,47B	3,02A	11,49A	335,3A
116	15,9A	4,85B	1,73A	2,27B	11,86A	525,6A
Teste F	6,03*	9,47**	17,96**	13,23**	1,52ns	0,32
DMS	0,53	0,07	0,131	0,433	0,63	321
C.V	5,70	2,38	13,50	26,92	8,91	25,59
Teste F AxB	7,99*	6,30*	0,93ns	0,76	1,81ns	1,7 ns
Teste F Inter Ax C	2,12ns	0,80ns	1,53ns	0,69ns	5,97*	0,20ns
Teste F Inter Bx C	21,2**	0,02ns	1,61ns	0,42ns	1,77ns	0,15ns
Teste F Ax B x C	2,48ns	0,16ns	0,675ns	0,35ns	1,87ns	0,29ns

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns - não significativo ($p \geq 0,05$). Letras maiúsculas comparam médias na coluna. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. D.M.S = Desvio Mínimo Significativo. C.V = Coeficiente de Variação.

Considerando-se o efeito das épocas x o sistema de manejo dos colmos sobre o Brix (Tabela 3), verificou-se que aos 102 d.a.s., os colmos colhidos com desponte prévio ou integral, apresentaram os mesmos teores de sólidos solúveis. Entretanto, 14 dias decorridos da primeira avaliação, observou-se que os colmos não despaniculados continuaram a acumular tais moléculas, aumentando os valores de

Brix em 12%, diferentemente dos colmos despontados, que apresentaram decréscimo à primeira época. Provavelmente, nesta época as brotações laterais e a emissão das novas panículas estavam em pleno crescimento, consumindo intensamente fotossintatos armazenados nos colmos.

Tabela 2. Desdobramento da interação entre cultivares de sorgo sacarino CV147, CV198 e BRS508 e os manejos dos colmos (Integral e Despontado) para Brix do caldo. Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014.

Brix (%)	Manejo	
Cultivares	Integral	Despontado
CV147	15,2Ba	13,8Bb
CV198	15,7ABa	14,8Bb
BRS508	16,6Aa	17,0Aa

Letras maiúsculas comparam médias na coluna; letras minúsculas comparam médias na linha. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Desdobramento da interação entre os manejos dos colmos (Integral e Despontado) e as épocas de colheita (102 e 116 dias após a semeadura) para Brix do caldo. Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014.

Brix	Épocas (d.a.s.)	
Manejo	102	116
Integral	14,9Ab	16,7Aa
Despontado	15,5Aa	14,9Ba

Letras maiúsculas comparam médias na coluna; letras minúsculas comparam médias na linha. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Avaliando-se o pH de diferentes cultivares de sorgo sob dois sistemas de manejo (Tabela 4), observou-se que para os colmos colhidos integrais houve diferença neste parâmetro, de acordo com a cultivar processada. Sendo os maiores valores obtidos para a CV147, seguidos da CV198 e BRS508. Quando se realizou o desponte prévio, verificou-se queda significativa do pH, principalmente para as cultivares CV147 e CV198. Este fato pode estar associado às condições de maior atividade metabólica apresentadas pela planta (emissão de brotos e panículas). Neste caso, o pH é menor, decorrente da condição ideal para a ação de ácidos e enzimas reguladoras do crescimento, tais como o ácido indol acético (AIA) (TAIZ e ZEIGER,

2010) e a invertase ácida, que apresenta papel decisivo na regulação do acúmulo de sacarose (YANG et al., 2013).

Considerando-se as épocas de colheita, observou-se que para todas as cultivares, colhidas com ou sem desponte prévio, houve decréscimo de 0,1 ponto de pH ao decorrer de 14 dias. Resultados semelhantes foram encontrados por Lingle et al. (2013), que também observaram queda do pH ao longo das épocas de colheitas (90, 115 e 140 d.a.s.) (Tabela 1).

Tabela 4. Desdobramento da interação entre as cultivares de sorgo sacarino CV147, CV198 e BRS508e os manejos dos colmos (Integral e Despontado) para pH do caldo. Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014.

pH	Manejo	
Cultivares	Integral	Despontado
CV147	5,05Aa	4,87Ab
CV198	4,95Ba	4,82Ab
BRS508	4,87Ca	4,84Aa

Letras maiúsculas comparam médias na coluna; letras minúsculas comparam médias na linha. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Analisando-se a acidez total do caldo (Tabela 1), verificou-se que a cultivar BRS508 apresentou os maiores teores de ácidos em relação às demais. Neste sentido, pode-se observar ainda que o processamento dos colmos 116 d.a.s resultou em maior quantidade destas moléculas em relação a 102 d.a.s. Tais resultados são diretamente relacionados aos determinados para o pH, pois nestas condições verificou-se valores de pH inversamente proporcionais aos de Ácidos Totais. Lingle et al. (2013) também observaram esta relação de queda do pH e aumento de acidez ao longo das épocas de colheita. A queda do pH e o aumento do teor de acidez com a maior maturidade do sorgo podem ser prejudicial para a fermentação pois, para elevar o pH para 6 (condição necessária para a clarificação do caldo e neutralização de ácidos orgânicos) necessita-se de maiores concentrações de leite de cal (CaCO_3), e o aumento de cálcio pode diminuir a eficiência de fermentação da levedura (LINGLE et al., 2013).

O manejo de colmos despontados previamente resultou em menor acidez total em relação aos colmos integrais. O teor de ácidos do caldo pode ser influenciado

pelas condições de manejo, condições ambientais, idade da cultura e o estágio de maturação, bem como pela contaminação causada pelo metabolismo de bactérias (YOKOIA, 1991). Valores elevados de acidez estão relacionados a fatores prejudiciais à qualidade da matéria-prima, que irão refletir no processo fermentativo e na produção de etanol (STUPIELLO, 2006). Os valores de acidez foram bem superiores a 0,8 mg L⁻¹ de H₂SO₄, valor este considerado como máximo adequado para o caldo da cana-de-açúcar (RIPOLI e RIPOLI, 2004).

A quantidade de ácidos presentes no sorgo é bem superior aos da cana-de-açúcar, e quando processa-se cana com estas quantidades de ácidos ocorre queda significativa de rendimento fermentativo. Contudo, não há resultados disponíveis na literatura indicando que o processamento do sorgo com esta quantidade de ácidos possa influenciar o rendimento da levedura em fermentação. Sendo assim, experimentos futuros são necessários para esclarecer esta hipótese.

Com relação aos teores de açúcares redutores (AR) nos caldos extraídos de diferentes cultivares (Tabela 1), verificou-se que a CV147 apresentou os maiores valores em relação as demais. Tais resultados são condizentes com os obtidos por Nan et al. (1994), que determinaram concentrações entre 1,8 a 10,2 %, sendo esta função do processamento de diferentes cultivares e épocas de colheita. Deve-se destacar ainda que estes valores são superiores aos obtidos em processamento de caldo de cana, uma vez que cultivares em estágio de maturação apresentam teores máximos de 1% de AR. Ressalta-se que a concentração de açúcares redutores (glicose e frutose) no caldo de sorgo sacarino é elevada em comparação com a cana-de-açúcar (GOMES et al., 2011).

Os açúcares redutores presentes no sorgo ocorrem em ampla faixa de variação considerando-se o genótipo e a fase de desenvolvimento da planta. Estes são utilizados em várias reações metabólicas e também como fonte de energia. Considerando-se o sistema de manejo, não foi observado diferença entre os teores destas moléculas. Entretanto, a colheita aos 116 d.a.s. resultou em decréscimo de AR para todas as cultivares avaliadas, processadas com ou sem panícula, em comparação aos 102 d.a.s. Este fato pode estar associado a translocação dos metabólitos para a panícula, no caso dos colmos integrais. Para os colmos despaniculados, a queda de AR pode estar associado a emissão de brotos laterais e

novas panículas, conforme descrito anteriormente. Durante os estágios de desenvolvimento de sorgo há relatos de pequena queda nos teores de açúcares redutores quando próximos ao estágio da maturação fisiológica (CHANNAPPAGOUDAR et al., 2007).

Avaliando-se o teor de açúcares totais (ART) de diferentes cultivares de sorgo sacarino, sob dois sistemas de manejo, colhidos em épocas distintas, observou-se valores médios de 11,67% (Tabela 1). Contudo, tais concentrações atingiram picos de 13,05%, no caso do BRS508 colhido aos 116 d.a.s. (Tabela 5). Esses resultados foram inferiores aos encontrados por Masson (2013), que foram da ordem de 15% McBee e Miller (1993) observaram que a concentração total de açúcares no caldo de sorgo colhido na fase inicial de crescimento foi menor, e após a extensão da panícula houve um aumento rápido desses valores. Considerando-se o processamento industrial, sabe-se que os ART são determinantes para a obtenção de elevados rendimentos e produtividade industrial.

Tabela 5. Desdobramento da interação entre as cultivares CV147, CV198 e BRS508 e as épocas de colheita (102 e 116 dias após a semeadura) para os Açúcares Redutores Totais (ART) do caldo. Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014

ART (%)	Épocas (d.a.s.)	
Genótipos	102	116
CV147	11,55Aa	11,67ABa
CV198	11,61Aa	10,85Ba
BRS508	11,31Ba	13,05Aa

Letras maiúsculas comparam médias na coluna; letras minúsculas comparam médias na linha. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Considerando-se que o amido é uma biomolécula que é produzida tenuamente no caldo e intensamente nos grãos das panículas, caracterizou-se a presença deste no caldo extraído de diferentes cultivares de sorgo sacarino, submetidos a dois sistemas de manejo e colhidos em duas épocas (Tabela 1). Verificou-se valores médios de 430 mg L⁻¹ para as cultivares, valores estes menores do que os encontrados por Andrzejewski et al. (2013) que ficaram na média de 1476 mg L⁻¹. Entretanto, o processamento de colmos sem panículas, promoveu decréscimo de 23,5% do teor desta molécula no caldo extraído. Este fato é decorrente da emasculação, pois quando no estágio de maturação, ocorre a translocação dos açúcares armazenados no colmo para os grãos da panícula, convertendo-os em

amido (açúcar de reserva) (ALMODARES e HADI, 2009). Deve-se destacar ainda que a diminuição de amido no caldo pode ser benéfica ao processamento industrial, pois além de ser fermentescível, este aumenta a viscosidade do caldo, afetando a etapa de clarificação (COSTA et al., 2014).

. De modo geral, o sorgo sacarino apresentou valores médios de 434 mg L^{-1} de compostos fenólicos, sendo que somente as cultivares CV147 despontada e BRS508 integral, apresentaram decréscimo significativo do teor destas biomoléculas dos 102 para os 116 d.a.s. (Figura 1). Sabe-se que os teores de compostos fenólicos variam de acordo com o genótipo avaliado, sendo que na literatura há resultados que indicam variações de 100 mg L^{-1} até 6000 mg L^{-1} (DICKO et al., 2006).

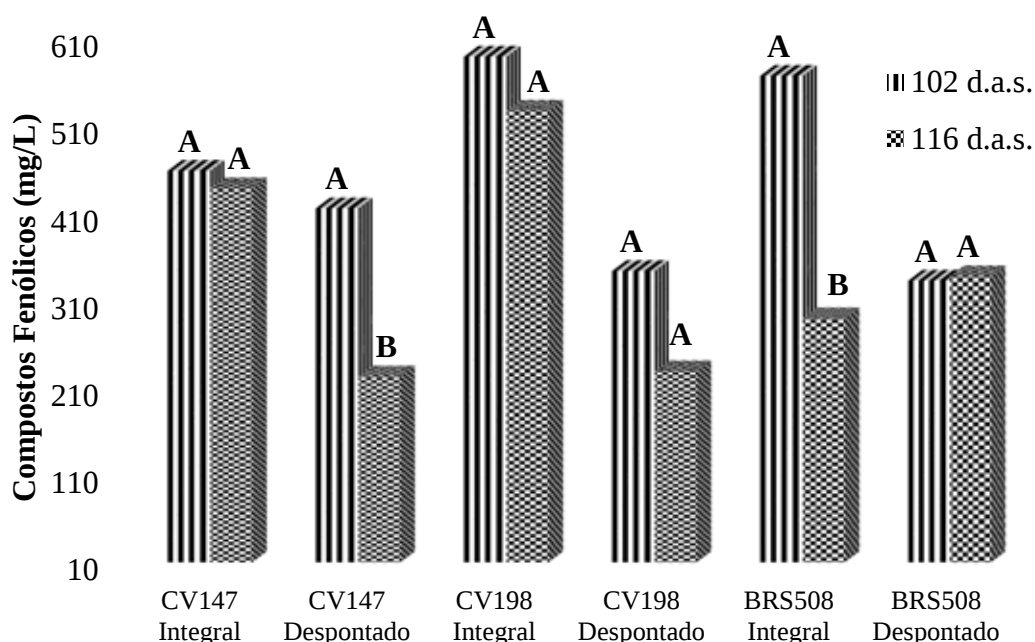


Figura 1. Representação gráfica para os compostos fenólicos (mg L^{-1}) do caldo para os genótipos CV147, CV198 e BRS508, em função do manejo de colmos (Integral e Despontado) e das épocas de amostragem (102 e 116 d.a.s.). Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014.

De acordo com Billa et al. (1997), os principais compostos fenólicos detectados em sorgo sacarino são p-cumárico e ácidos ferúlicos, cujo principal objetivo é contribuir para a ligação da célula na parede de lignina e hemicelulose através de

ligações éter e éster. Estes compostos fenólicos são prejudiciais durante a fermentação, porque tendem a formar complexos com proteínas, tais como proteases e glucosidases, necessários para a hidrólise (SALUNKE et al., 1982).

Os compostos fenólicos são biomoléculas que atuam negativamente no processo de fabricação de etanol uma vez que são inibidores do metabolismo da levedura em fermentação, resultando em significativas perdas no rendimento alcoólico, além de alterações na composição do destilado (RAVANELI et.al., 2011).

3.2. Tratamento do Caldo

Analizando os resultados do caldo clarificado para Brix (Tabela 6) verificou-se que o genótipo BRS508 obteve maiores valores de sólidos solúveis, do que os genótipos CV147 e CV198, que não diferiram entre si. Este comportamento era esperado uma vez que no caldo extraído esta cultivar também apresentou os maiores valores, além de ser uma cultivar que apresenta como característica o seu alto teor de açúcar fermentável no caldo, podendo atingir valores de 18 a 22,9 °Brix (EMBRAPA, 2012). A dinâmica de acumulação de sólidos solúveis varia entre as cultivares, assim, programas de melhoramento têm selecionado um conjunto de materiais que possibilitam a ocorrência de matéria-prima com Brix adequado durante o decorrer da entressafra (WACLAWOVSKY *et al.*, 2010).

Na tabela 7 está representado a interação obtida entre os diferentes manejos em duas épocas de colheita. Verificou-se que aos 102 d.a.s., os colmos colhidos com desponte ou integral, apresentaram os mesmos teores de sólidos solúveis. Os colmos integrais continuaram a acumular açúcares, aumentando os valores de brix, diferentemente dos colmos despontados, que apresentaram decréscimo à primeira época. O aumento do brix entre as diferentes épocas também foi observado por Freitas (2013). Este comportamento de queda do brix da primeira para a segunda época nos colmos despontados pode ser explicado devido ao crescimento de brotações laterais que podem ter consumido estes açúcares para armazenar nas novas panículas.

A clarificação do caldo é uma etapa importante no processamento industrial para produção de bioetanol. O tratamento do caldo bruto objetiva remover impurezas e partículas em suspensão que prejudiquem a fermentação (ANDRZEJEWSKI et al.,

2013). A clarificação adequada do caldo de sorgo sacarino depende da necessidade de macro e micronutrientes e outros compostos presentes que interferem no processo fermentativo (ANDRZEJEWSKI et al., 2013).

Para os resultados obtidos para a composição do mosto (Tabela 8) não foram observadas diferenças significativas para o Brix em nenhum dos tratamentos, visto que os valores de brix foram ajustados para valores próximos a 16° Brix para os três genótipos.

Tabela 6. Valores médios obtidos para Brix, pH, Acidez Total, Açúcares Redutores Totais (ART), Fenol e Amido do caldo clarificado de três cultivares de sorgo sacarino (CV147, CV198 e BRS508), em dois sistemas de manejo (Integral e Despontado) e em duas épocas de colheita (102 e 116 d.a.s). Jaboticabal-SP.

Tratamentos	Brix	pH	Acidez Total	ART	Fenol	Amido
Cultivares (A)			g L ⁻¹	%	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹
CV147	15,7B	5,76A	1,36A	10,8A	381,5A	136,05A
CV198	16,39B	5,77A	1,38A	11,6A	451A	111,20A
BRS508	17,3A	5,71A	1,32A	11,4A	497,8A	170,69A
Teste F	28,03**	1,37ns	0,40ns	4,32ns	3,61ns	3,49ns
DMS	0,67	0,11	0,19	0,79	133,64	69,39
C.V	3,79	1,86	12,87	6,45	27,77	45,91
Manejo (B)						
Integral	16,5A	5,73A	1,47A	11,3A	473,9A	152,16A
Despontado	16,41A	5,76A	1,23B	11,3A	413A	126,46A
Teste F	0,20ns	0,63ns	16,6**	0,01ns	3,67ns	0,97ns
DMS	0,83	0,1	0,13	0,32	71,86	59,02
C.V	7,74	2,69	15,23	4,43	24,81	64,86
Épocas - d.a.s (C)						
102	16,1A	5,61B	1,29A	11,5A	460,5A	35,93B
116	16,8A	5,88A	1,41A	11,1A	426A	242,69A
Teste F	3,69ns	28,14**	3,34ns	2,24ns	0,39ns	63,97**
DMS	0,82	0,1	0,14	0,61	113,7	54,28
C.V	8,28	3,01	17,15	8,93	42,29	64,28
Teste F AxB	1,92ns	0,64ns	1,45ns	1,41ns	4,38*	1,82ns
Teste F Inter Ax C	0,55ns	0,77ns	1,42ns	0,82ns	0,51ns	1,19ns
Teste F Inter Bx C	6,64*	0,03ns	0,11ns	0,01ns	0,84ns	0,007ns
Teste F Ax Bx C	2,94ns	0,29ns	0,63ns	0,3ns	0,14ns	4,68ns

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns - não significativo ($p \geq 0,05$). Letras maiúsculas comparam médias na coluna. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. D.M.S = Desvio Mínimo Significativo. C.V = Coeficiente de Variação.

Tabela 7. Desdobramento da interação entre os manejos dos colmos (Integral e Despontado) e as épocas de colheita (102 e 116 dias após a semeadura) para Brix do caldo clarificado. Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014.

Brix	Épocas (d.a.s.)	
	102	116
Manejo		
Integral	15,7Ab	17,4Aa
Despontado	16,5Aa	16,3Ba

Letras maiúsculas comparam médias na coluna; letras minúsculas comparam médias na linha. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

A concentração do mosto é determinada de acordo com a produção pretendida, capacidade de produção e o modelo de fermentação utilizado. Esta concentração, geralmente, é entre 15 e 22 °Brix. Maiores perdas de açúcares são observadas em mostos contendo elevada concentração de substrato, que não são fermentados devido ao estresse osmótico causado nas leveduras. Nesta situação ocorre inibição pelo substrato, que extrapola a região de saturação (CARVALHO e MONTEIRO, 2012; RIBEIRO, 2010).

Para o parâmetro pH, não foram observadas diferenças significativas para os genótipos estudados e para os sistemas de manejo, tanto para o caldo clarificado (Tabela 6) quanto para o mosto (Tabela 8). Em relação as épocas de colheita do caldo clarificado (Tabela 6), observou-se aumento dos valores aos 116 d.a.s. Um aumento nestes parâmetros também foi relatado por Andrzejewski *et al.* (2013) em estudos de clarificação de caldo de cana e sorgo sacarino. Freita (2013), estudando a caracterização do caldo de sorgo sacarino em diferentes épocas, observou queda do pH dos 100 aos 160 d.a.s., diferentemente dos resultados encontrados nesta pesquisa.

Masson (2013) ao caracterizar o mosto do genótipo CVSW80007 obteve valores superiores de pH aos encontrados neste estudo, na faixa de 5,5. Entretanto, deve-se destacar que os valores de pH observados nestas épocas de colheita, podem ser considerados adequados ao processo fermentativo, pois valores entre 4,5 a 6,5 favorecem o crescimento e desenvolvimento das leveduras (AMORIM, 2005).

Tabela 8. Valores médios obtidos para Brix, pH, Acidez Total, Açúcares Redutores Totais (ART), Fenol e Amido do mosto de três cultivares de sorgo sacarino (CV147, CV198 e BRS508), em dois sistemas de manejo (Integral e Despontado) e em duas épocas de amostragem (102 e 116 d.a.s.). Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014.

Tratamentos	Brix	pH	Acidez Total	ART	Fenol	Amido
Cultivares (A)			g L ⁻¹	%	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹
CV147	15,1A	4,45A	1,36A	10,8B	403,3B	82,5B
CV198	15,6A	4,47A	1,38A	11,6A	493,1AB	84,2B
BRS508	15,7A	4,48A	1,32A	11,7A	608,1A	151,4A
Teste F	1,75ns	0,84ns	0,48ns	6,7*	6,41*	8,28*
DMS	1,07	0,07	0,19	0,86	175,9	59,3
C.V	6,38	1,60	13,20	6,94	32,34	51,2
Manejo (B)						
Integral	15,6A	4,47A	1,47A	11,5A	532,6A	95,4A
Despontado	15,3A	4,46A	1,23B	11,2A	470,4A	116,7A
Teste F	1,84ns	0,09ns	17,26**	2,08ns	0,91ns	3,66ns
DMS	0,4	0,01	0,13	0,56	146,8	25,1
C.V	3,98	0,63	15,21	7,57	44,81	36,36
Épocas - d.a.s (C)						
102	15,5A	4,45A	1,29A	11,7A	591,8A	29B
116	15,4A	4,48A	1,41A	11,0B	411,2B	183A
Teste F	0,26ns	1,83ns	3,05ns	6,40*	7,76*	116,7**
DMS	0,40	0,03	0,14	0,50	136,1	29,9
C.V	4,35	1,34	17,34	7,35	44,77	46,54
Teste F AxB	0,09ns	3,0ns	1,39ns	0,85ns	0,62ns	5,57*
Teste F Inter Ax C	1,45ns	1,7ns	1,26ns	0,18ns	0,41ns	11,57**
Teste F Inter Bx C	4,40ns	0,03ns	0,15ns	2,63ns	0,87ns	6,15ns
Teste F Ax Bx C	1,46ns	0,17ns	0,53ns	0,46ns	1,05ns	6,32ns

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 < p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$). Letras maiúsculas comparam médias na coluna. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. D.M.S = Desvio Mínimo Significativo. C.V = Coeficiente de Variação.

O pH é um fator que possui grande importância no controle da contaminação bacteriana na fermentação alcoólica (AMORIM *et al.*, 1996). O tratamento ácido na indústria é utilizado de forma a controlar a contaminação bacteriana, por isso a correção do pH do meio durante a fermentação é etapa importante do processo de multiplicação e fermentação (MUTTON, 1998). Nos mostos industriais, os valores de pH geralmente se encontram na faixa de 4,5 a 5,5 (LIMA *et al.*, 2001). A utilização de

linhagens de *S. cerevisiae* resistentes a pH ácido é característica importante para a produção de bioetanol (AMARAL, 2009).

Os resultados obtidos para acidez total do caldo clarificado (Tabela 6) e para o mosto (Tabela 8) apresentaram efeito significativo para o manejo dos colmos. Verificou-se que os colmos integrais tiveram maior valores de acidez em relação aos despontados.

Para que a fermentação etanólica ocorra de modo apropriado, obtendo-se elevados rendimentos e eficiências, é necessário que o substrato utilizado esteja adequado ao micro-organismo fermentador, com qualidade e teores de nutrientes suficientes (FREITA, 2013).

Para açúcares redutores totais (ART) do caldo clarificado, não foram observadas diferenças significativas para os tratamentos, isto pode ser justificado devido a padronização na clarificação. Para mosto (tabela 8) o genótipo CV147 obteve os menores valores de ART. Dentre as épocas de colheita, aos 116 d.a.s. os resultados de ART do mosto foram menores do que os obtidos aos 102 d.a.s. Em processos de clarificação, o ideal é que ocorra a menor perda de açúcares possível, visto que estes são a matéria-prima utilizada pelas leveduras para conversão em etanol. A perda de açúcares em qualquer etapa do processamento resulta em queda no rendimento e eficiência industrial.

De acordo com observações de Souza (2011) o período de utilização industrial (PUI) do sorgo sacarino pode variar entre os genótipos, devido o efeito da curva de acumulação dos açúcares, o que pode mascarar genótipos potenciais quanto ao teor de sólidos solúveis. A quantidade de açúcares de um mosto depende da natureza e da composição química da matéria-prima, devendo ser compatível com o tipo de levedura que será utilizada e com o processo empregado na fermentação alcoólica (AMORIM, 2005). Os resultados obtidos por Freita (2013) para as cultivares CVSW80007 e o CVWS80147, apresentaram PUI de 40 dias iniciando-se aproximadamente aos 115 d.a.s.

Na tabela 9 foram apresentados os resultados do desdobramento da interação entre cultivares e manejo dos colmos para compostos fenólicos do caldo clarificado. Observa-se que nos colmos integrais não houve diferenças entre as cultivares. Entre os colmos despontados a cultivar BRS508 apresentou os maiores valores de

compostos fenólicos. Observou-se que a cultivar CV198 teve diferenças significativas entre os manejos dos colmos, havendo uma queda significativa na quantidade destes compostos nos colmos despontados. Para a composição do mosto (Tabela 8) o genótipo BRS508 apresentou os maiores valores de compostos fenólicos. Para as épocas de colheita aos 102 d.a.s. foram observados maiores valores de compostos fenólicos do que aos 116 d.a.s. (Tabela 9). Este comportamento pode ser o reflexo da reação fisiológica da cultura em resposta as condições ambientais predominantes neste período. Durante a primeira época de colheita (102 d.a.s), a precipitação de chuva foi maior do que na segunda época, com média de 16mm aos 102 d.a.s., enquanto aos 116 d.a.s. a média foi de 4mm. Outro fator estressante para a cultura foi o início do tombamento, que iniciou-se aos 102 d.a.s, e que aumentou ao longo do período experimental, e que pode ter feito a planta gerar mecanismos para se defender, ocasionando o estresse. Sob condições de estresse a cultura em plena atividade metabólica pode ter destinado parte dos fotossintatos para a produção de biomoléculas de defesa, como os compostos fenólicos.

Tabela 9. Desdobramento da interação entre as cultivares de sorgo sacarino CV147, CV198 e BRS508e os manejos dos colmos (Integral e Despontado) para Fenol do caldo clarificado. Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014.

Fenol	Manejo	
Cultivares	Integral	Despontado
CV147	421,4Aa	341,6Ba
CV198	533,7Aa	368,2Bb
BRS508	466,5Aa	529,1Aa

Letras maiúsculas comparam médias na coluna; letras minúsculas comparam médias na linha. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Masson (2013) estudando a variedade CVSW80007 de sorgo sacarino observou valores bem superiores de compostos fenólicos, na faixa de 1114 mg L⁻¹, valores estes inadequados ao processamento industrial para a produção de etanol de acordo com padrão de qualidade sugerido por Amorim (2005), que recomenda valores inferiores a 500 mg L⁻¹. A quantidade de compostos fenólicos adequada para fermentação é importante, pois, estes atuam como inibidores do metabolismo das leveduras (STUPIELLO, 2006).

Os resultados de teores de amidos estão dispostos na tabela 06. Verificou-se aos 116 d.a.s. aumento significativo na concentração dos teores de amido no caldo clarificado em relação aos 102 d.a.s.

Nota-se que houve uma remoção de aproximadamente 75% da concentração de amido em comparação com o caldo extraído inicialmente (Tabela 1), melhorando assim a qualidade do caldo. Este resultado pode ser explicado devido ao uso da enzima α -amilase. O amido foi degradado em açúcares fermentáveis através do tratamento enzimático do caldo, incrementando a produção de etanol.

Nos resultados de amido para o mosto (Tabela 8) foram observados que o genótipo BRS508 apresentou valores superiores do que os CV147 e CV198. Aos 116 d.a.s a concentração de amido no mosto foi superior do que aos 102 d.a.s., devido a ação das enzimas utilizadas no processo.

O desdobramento da interação entre as cultivares e o manejo (Tabela 10) evidenciam que nos colmos integrais a cultivar CV147 foi a que obteve menores valores de amido, já nos despontados a cultivar CV198 resultou em menores teores de amido. Entre os manejos nas cultivares CV147 e BRS508 houve um aumento de amido nos colmos despontados, em relação aos integrais.

Tabela 10. Desdobramento da interação entre as cultivares de sorgo sacarino CV147, CV198 e BRS508 e os manejos dos colmos (Integral e Despontado) para Amido do mosto. Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014.

Amido	Manejo	
Cultivares	Integral	Despontado
CV147	51,1Bb	113ABa
CV198	97,9ABa	70Ab
BRS508	137Aa	165Aa

Letras maiúsculas comparam médias na coluna; letras minúsculas comparam médias na linha. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O desdobramento da interação entre cultivares e épocas (Tabela 11), evidencia que aos 116 d.a.s. houve um aumento dos teores de amido para todas as cultivares. A cultivar BRS508 resultou em maiores valores de amido aos 116 d.a.s.

Tabela 11. Desdobramento da interação entre as cultivares de sorgo sacarino CV147, CV198 e BRS508 e épocas de colheita (102 d.a.s. e 116 d.a.s.) para Amido do mosto. Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014

Amido	Épocas	
	102d.a.s	116d.a.s.
Cultivares		
CV147	37,7Ab	127,2Ba
CV198	22,5Ab	145,9Ba
BRS508	27Ab	275,9Aa

Letras maiúsculas comparam médias na coluna; letras minúsculas comparam médias na linha. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As enzimas amilolíticas são proteínas que constituem uma classe de hidrolases, responsáveis pela degradação do amido e seus derivados (BARCELOS, 2012).

Em estudo de clarificação, Andrzejewski *et al.* (2013) evidenciaram a necessidade de aperfeiçoamento e adequação da tecnologia quando se usa o caldo de sorgo. Os mesmos autores afirmam que em testes com variação de temperatura e pH foi possível obter grande remoção de amido, especificamente a 85°C e pH igual a 7,0 com adição de 10 ppm de auxiliar de floculação.

Analisando os efeitos da clarificação sobre a qualidade dos caldos nota-se a importância deste para o processamento industrial, ressaltando a necessidade de ajustes e aperfeiçoamento do método para utilização de sorgo sacarino. Andrzejewski *et al.* (2013) avaliando a operação de clarificação de caldo de sorgo sacarino para a produção de bioetanol demonstraram haver efeito significativo do processo de tratamento sobre a qualidade dos caldos, para as diferentes cultivares, podendo ser considerado essencial para o processo fermentativo.

3.3. Fermentação Alcóolica

3.3.1. Viabilidade Celular

Os resultados obtidos para viabilidade celular do pé-de-cuba (Tabela 12) indicam que a viabilidade celular média das leveduras, para os genótipos estudados foi de 81,7%. Não foram observadas diferenças significativas quanto as taxas de brotamento das leveduras entre os genótipos. Constatou-se ainda que o manejo dos

colmos com desponte ou integral não alterou a viabilidade celular e de brotos da PE-2 para todos os genótipos avaliados. As viabilidades dos brotos foram mais elevadas aos 116 d.a.s. Neste estudo, o melhor período para a adaptação das leveduras ao mosto (pé-de-cuba), ocorreu aos 116 d.a.s.. Segundo Freita (2013), o melhor período para a adaptação das leveduras ao mosto (pé-de-cuba), considerando-se a viabilidade celular, brotamento e viabilidade de brotos ocorreu aos 105 e 135 d.a.s..

Freita (2013) estudando a fermentação de sorgo sacarino com diferentes leveduras observou que no pé-de-cuba a média de viabilidade celular foi de 76,2% para PE-2 e de 86,8 para a levedura CAT-1. Masson (2013) quando se empregou a levedura PE-2 em fermentações de sorgo sacarino, observou valores de viabilidade celular do pé-de-cuba em torno de 80%. Ainda não são conhecidas as exigências das leveduras para a matéria-prima sorgo sacarino considerando-se os diferentes genótipos disponíveis atualmente no mercado (FREITA, 2013).

A permanência das leveduras no processo fermentativo começa a ser definida a partir da inoculação do pé-de-cuba no mosto. Com a realização da alimentação definiu-se o início do processo. Neste caso, considerou-se após 30 min. o início do processo fermentativo.

Os resultados obtidos (Tabela 13) para viabilidade celular no início e final do processo indicam que não houve diferença significativa entre os genótipos para as leveduras estudadas. O mesmo comportamento foi observado quando do processamento dos colmos com integral e com desponte. No início e no final do processo observou-se incremento de células viáveis dos 102 d.a.s para os 116 d.a.s., porém esses resultados não foram significativos estatisticamente.

Analisando-se os índices de viabilidade de brotos (Tabela 14) e índice de brotos (Tabela 15), verificou-se que não houve resultados significativos para genótipos, manejo ou épocas de colheita. Aos 102 d.a.s. o índice de brotamentos do início foram superiores do que aos 116 d.a.s.. Freita (2013) observou que a levedura PE-2, tanto no início quanto no final do processo apresentaram menores valores de brotos aos 105 e 118 d.a.s., justificando este resultado devido a qualidade da matéria-prima que deveria estar iniciando a fase de maturação ou de acúmulo de açúcares no colmo.

Tabela 12. Resultado da análise de variância (teste de F) e comparação de médias pelo teste de Tukey (5 % de probabilidade) para viabilidade celular, brotamento e viabilidade de broto da levedura PE-2 no pé-de-cuba do processo fermentativo. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014.

Tratamentos	Viabilidade Celular (%)	Brotamento (%)	Viabilidade de Brotos (%)
Cultivares (A)			
CV147	81,0A	10,9A	87,93A
CV198	81,8A	11,21A	87,75A
BRS508	82,5A	11,24A	90,09A
Teste F	1,58ns	0,93ns	2,35ns
DMS	2,64	0,84	3,7
C.V	2,98	6,98	3,84
Manejo (B)			
Integral	82,3A	11,13A	88,8A
Despontado	81,2A	11,10A	88,3A
Teste F	3,68ns	0,007ns	0,3ns
DMS	1,36	0,77	2,43
C.V	2,55	10,68	4,21
Épocas - d.a.s (C)			
102	80,9A	12,43A	83,8B
116	82,6A	9,8A	93,3A
Teste F	2,9ns	2,76ns	8,82**
DMS	2,07	3,32	6,71
C.V	4,19	49,28	12,50
Teste F AxB	0,7ns	0,24ns	1,11ns
Teste F Inter AxC	0,8ns	0,01ns	0,25ns
Teste F Inter BxC	1,36ns	0,0003ns	0,02ns
Teste F AxBxC	0,25ns	0,01ns	0,11ns

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns - não significativo ($p \geq 0,05$). Letras maiúsculas comparam médias na coluna. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. D.M.S = Desvio Mínimo Significativo. C.V = Coeficiente de Variação.

Segundo Nagodawithana et al. (1974), citado por Mutton (1998), com a intensificação da fermentação, ocorre a elevação da temperatura, levando ao aumento da atividade metabólica das leveduras, e conseqüentemente aumentando o brotamento. Amorim et al. (1996) relatam que a porcentagem ideal de brotamentos varia entre 5 a 15%, sendo que valores acima deste são indicativos de aumento da

temperatura, ou baixa manutenção do fermento nas dornas. Os valores observados apresentaram-se dentro desta faixa.

Ao longo do processo fermentativo, as leveduras sofrem vários tipos de estresse. Alguns em razão do meio, como deficiência nutricional, alta temperatura e contaminação, outros pelo próprio metabolismo da levedura, como o acúmulo de etanol e a consequente inibição do crescimento e produção de etanol. Alguns desses estresses afetam mais severamente as leveduras que outros, reduzindo a viabilidade celular e diminuindo o rendimento de etanol (BAI et al., 2008).

Observou-se que entre o início e o final das fermentações ocorre uma queda na viabilidade celular das leveduras. A redução de viabilidade ao final do processo fermentativo provavelmente ocorre pelo esgotamento dos açúcares do meio, redução dos nutrientes e acúmulo de metabólitos produzidos, além do efeito negativo da concentração elevada de etanol sobre leveduras (MUTTON, 1998).

Tabela 13. Resultado da análise de variância (teste de F) e comparação de médias pelo teste de Tukey (5 % de probabilidade) para viabilidade celular de leveduras no início e final do processo fermentativo.

Tratamentos	Viabilidade Celular Início (%)	Viabilidade Celular final (%)
Cultivares (A)		g L ⁻¹
CV147	79,76A	78,17A
CV198	81,28A	75,54A
BRS508	82,02A	75,40A
Teste F	1,07ns	0,59ns
DMS	4,81	8,8
C.V	5,48	10,61
Manejo (B)		
Integral	80,5A	76,24A
Despontado	81,5A	76,50A
Teste F	0,45ns	0,05ns
DMS	3,49	2,35
C.V	6,60	4,73
Épocas - d.a.s (C)		
102	80,1A	76,02A
116	81,9A	76,72A
Teste F	1,19ns	0,11ns
DMS	3,46	4,34
C.V	7,06	9,39
Teste F AxB	0,4ns	2,29ns
Teste F Inter AxC	0,11ns	0,92ns
Teste F Inter BxC	2,62ns	1,75ns
Teste F AxBxC	0,74ns	0,04ns

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns - não significativo ($p \geq 0,05$). Letras maiúsculas comparam médias na coluna. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. D.M.S = Desvio Mínimo Significativo. C.V = Coeficiente de Variação.

Tabela 14. Resultado da análise de variância (teste de F) e comparação de médias pelo teste de Tukey (5 % de probabilidade) para viabilidade de brotos da levedura PE-2 no início e final do processo fermentativo.

Tratamentos	Viabilidade Brotos Início (%)	Viabilidade Brotos final (%)
Cultivares (A)		
CV147	87,6A	94,6A
CV198	90,1A	93,8A
BRS508	91,4A	92,9A
Teste F	0,72ns	0,22ns
DMS	9,73	7,94
C.V	10	7,81
Manejo (B)		
Integral	88A	95,11A
Despontado	91,4A	92,48A
Teste F	0,79ns	0,91ns
DMS	8,72	6,22
C.V	14,89	10,16
Épocas - d.a.s (C)		
102	89,1A	93,76A
116	90,3A	93,84A
Teste F	0,17ns	0,0009
DMS	5,80	5,50
C.V	10,67	9,68
Teste F AxB	0,22ns	1,28ns
Teste F Inter AxC	0,31ns	0,04ns
Teste F Inter BxC	0,64ns	1,77ns
Teste F AxBxC	2,27ns	0,41ns

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns - não significativo ($p \geq 0,05$). Letras maiúsculas comparam médias na coluna. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. D.M.S = Desvio Mínimo Significativo. C.V = Coeficiente de Variação.

Tabela 15. Resultado da análise de variância (teste de F) e comparação de médias pelo teste de Tukey (5 % de probabilidade) para índice de brotamentos da levedura PE-2 no início e final do processo fermentativo.

Tratamentos	Brotamentos Início (%)	Brotamentos final (%)
Cultivares (A)		
CV147	12,24A	17,2A
CV198	12,64A	15,4A
BRS508	13,20A	12,5A
Teste F	0,56ns	3,27ns
DMS	2,7	5,69
C.V	20,19	34,8
Manejo (B)		
Integral	12,85A	15,7A
Despontado	12,54A	14,4A
Teste F	0,05ns	1,98ns
DMS	2,95	1,95
C.V	35,60	19,8
Épocas - d.a.s (C)		
102	17,18A	16,4A
116	8,2B	13,7A
Teste F	24,9**	1,48ns
DMS	3,77	49,76
C.V	49,02	4,55
Teste F AxB	0,04ns	0,047ns
Teste F Inter AxC	0,40ns	0,53ns
Teste F Inter BxC	0,14ns	0,76ns
Teste F AxBxC	0,30	0,47ns

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns - não significativo ($p \geq 0,05$). Letras maiúsculas comparam médias na coluna. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. D.M.S = Desvio Mínimo Significativo. C.V = Coeficiente de Variação.

A concentração de células viáveis durante a fermentação é importante para manter a população de leveduras. Assim, seu monitoramento é imprescindível, pois, além de moléculas indesejadas presentes na matéria-prima, compostos tóxicos são

produzidos durante a fermentação, e podem acumular-se no fermento, provocando redução da viabilidade e eficiência industrial (OKOLO et al., 1987).

3.3.2. Características do Vinho e Eficiência Fermentativa

As características tecnológicas dos vinhos estão dispostas na Tabela 17. Na tabela 16 se apresentam os resultados do desdobramento da interação entre manejo dos colmos e épocas de colheita para Brix do vinho. Observou-se que ao final das fermentações a concentração de sólidos solúveis aos 102 d.a.s. foi superior nos colmos integrais. Entre as épocas aos 116 d.a.s. os colmos despontados apresentaram valores superiores do que aos 102 d.a.s. Já para os colmos integrais os resultados foram semelhantes entre as épocas.

Tabela 26. Desdobramento da interação entre o manejo dos colmos (Integrais ou despontados) e as épocas de colheita (102 e 116 dias após a semeadura) para Brix do vinho. Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014.

Brix	Épocas (d.a.s.)	
	102	116
Manejo		
Integral	2,6Aa	2,5Aa
Despontado	2,2Bb	2,7Aa

Letras maiúsculas comparam médias na coluna; letras minúsculas comparam médias na linha. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados observados para pH indicam que não houve diferença significativa entre os genótipos. Quando se comparou as épocas, os resultados indicam que aos 116 d.a.s. os valores de pH foram maiores do que para os 102 d.a.s. Entre os diferentes manejos não foram observados diferenças para este parâmetro.

Masson (2013) observou para o genótipo CVSW80007 valores médios de pH na faixa de 3,6, inferiores aos encontrados neste estudo. Freita (2013) observou valores médios entre 3,8 a 3,9 para o genótipo CVSW80007 fermentado pela levedura PE-2.

Tabela 17. Valores médios obtidos para Brix, pH, Acidez Total, ARRT, Glicerol e Amido do vinho de três cultivares de sorgo sacarino (CV147, CV198 e BRS508), em dois sistemas de manejo (Integral e Despontado) e em duas épocas de amostragem (102 e 116 d.a.s.). Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014.

Tratamentos	Brix	pH	Acidez Total	ARRT	Glicerol	Amido
			g L ⁻¹	%	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹
Cultivares (A)						
CV147	2,4A	4,18A	1,85B	0,29B	1,69A	114,4A
CV198	2,4A	4,19A	2,04A	0,32AB	1,65A	108,1A
BRS508	2,6A	4,22A	2,04A	0,45A	1,64A	110,3A
Teste F	0,67ns	2,47ns	6,97*	5,9*	0,04ns	0,06ns
DMS	0,49	0,06	0,18	0,15	0,49	52,8
C.V	18,2	1,47	8,44	39,8	27,27	43,8
Manejo (B)						
Integral	2,58A	4,18A	2,08A	0,31A	1,64A	110,8A
Despontado	2,45A	4,21A	1,87B	0,39A	1,68A	111,2A
Teste F	3,86ns	0,60ns	7,24*	2,23ns	0,14ns	0,001ns
DMS	0,15	0,06	0,17	0,11	0,25	28,6
C.V	9,1	2,47	13,73	48,8	23,71	39,4
Épocas - d.a.s (C)						
102	2,41A	4,08B	1,78B	0,31A	1,32B	123,2A
116	2,62A	4,31A	2,18A	0,39A	2,0A	98,7A
Teste F	3,74ns	35,2**	14,43**	2,09ns	25,64**	3,38ns
DMS	0,22	0,08	0,22	0,10	0,27	27,9
C.V	15,0	3,22	18,54	49,8	27,75	4,4
Teste F Ax B	3,23ns	0,18ns	0,30ns	4,01ns	0,05ns	1,36ns
Teste F Inter Ax C	2,73ns	0,91ns	0,26ns	7,88ns	0,48ns	0,40ns
Teste F Inter Bx C	6,48*	0,01ns	0,01 ns	7,81ns	0,05ns	1,87ns
Teste F Ax Bx C	1,86ns	3,30	0,25ns	4,04ns	0,11ns	2,03ns

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns - não significativo ($p \geq 0,05$). Letras maiúsculas comparam médias na coluna. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. D.M.S = Desvio Mínimo Significativo. C.V = Coeficiente de Variação.

Considerando-se a acidez do vinho verificou-se que entre os genótipos, o CV147 apresentou os menores valores. Entre os sistemas de manejo dos colmos, nos

integrais foram observados maiores valores de acidez do que para os despontados. Este padrão de maior acidez nos caldos dos colmos integrais do que os despontados manteve-se desde o caldo extraído, isso pode ter ocorrido devido os colmos integrais serem processados com as folhas, sendo estas compostas de diversos ácidos que podem ter influenciado no teor de acidez total dos caldos. Os maiores valores de acidez foram observados aos 116 d.a.s.

Os resultados observados para os teores de ARRT do vinho indicam que os valores obtidos para o genótipo BRS508 foram maiores do que para o CV147 e CV198, a cultivar BRS508 continha maior valor de ART inicialmente. Para manejo dos colmos e épocas de colheita não foram observados resultados significativos. Entre as épocas de colheita não houve diferenças nos resultados de ARRT dos 102 para os 116 d.a.s.

Laopaiboon et al. (2007) e Ratnavathi et al. (2010) avaliando a fermentação de mosto de sorgo, encontraram valores elevados para o ARRT no vinho, sendo que estes somente foram reduzidos a 1% após 40 horas de fermentação, fato inviável para as condições de operação das unidades industriais brasileiras, uma vez que estas realizam ciclos de 8 a 12 horas de processamento. Valores superiores aos obtidos neste ensaio de ARRT foram encontrados por Freita (2013), trabalhando com fermentação de sorgo sacarino em tempo máximo de 16 horas que verificou valores de 2,15% e para Gomes (2014) que observou valores na faixa de 2,9.

Os resultados para glicerol (Tabela 17) mostraram que entre os genótipos não houve diferenças. Para o manejo dos colmos, tanto para os integrais quanto os despontados os resultados foram semelhantes. Para épocas de colheita, obteve-se maiores de valores de glicerol aos 116 d.a.s. O glicerol, é um produto secundário da fermentação, sua produção pela levedura encontra-se na mesma via de síntese do etanol, como um desvio, competindo pela utilização do poder redutor o NADH (Nicotinamida Adenina Dinocleotídeo), sendo a sua produção proporcionalmente inversa a produção de etanol (AMORIM, 2005).

Um fator relacionado a maior produção de glicerol é alta concentração de açúcar, efetuado de uma única vez, no qual a levedura não consiga metabolizar todo esse açúcar, gerando estresse osmótico, aumenta-se a produção de glicerol e, diminui-se o rendimento fermentativo.

Meireles (2013), apresentou resultados não significativos para teores de glicerol de três genótipos, CV568, BRS511, e BRS509, com teores médios de 0,72, 0,73 e 0,79 mg/kg, em fermentação utilizando-se a levedura PE-2 em colmo limpo e integral com diferença significativa de 0,7 e 0,79 mg/kg. Barcelos (2012) obteve produção de 0,73% de glicerol a partir de fermentação de grãos de sorgo sacarino com a utilização de enzimas.

Os resultados de teores de amido no vinho não evidenciaram diferenças significativas. Os comportamentos foram semelhantes entre os genótipos, manejos e épocas. Isso pode ter ocorrido devido ao uso da enzima glucoamilase durante o processo fermentativo, que pode ter convertido este amido em glicose. Os valores de amido do vinho (tabela 17) foram bem inferiores aos do caldo extraído (tabela 1) evidenciado que os tratamentos enzimáticos tanto na clarificação quanto na fermentação foram eficientes para a conversão deste em açúcares.

Os resultados dos teores alcóolicos dos vinhos encontram-se na figura 2. Os comportamentos foram semelhantes entre os genótipos, manejo dos colmos e épocas de colheita, não resultando em diferenças significativas. Observa-se que, de um modo geral, aos 102 d.a.s. os resultados foram ligeiramente superiores do que aos 116 d.a.s. Entre os manejos dos colmos, observa-se que, de um modo geral os integrais obtiveram maiores teores de etanol.

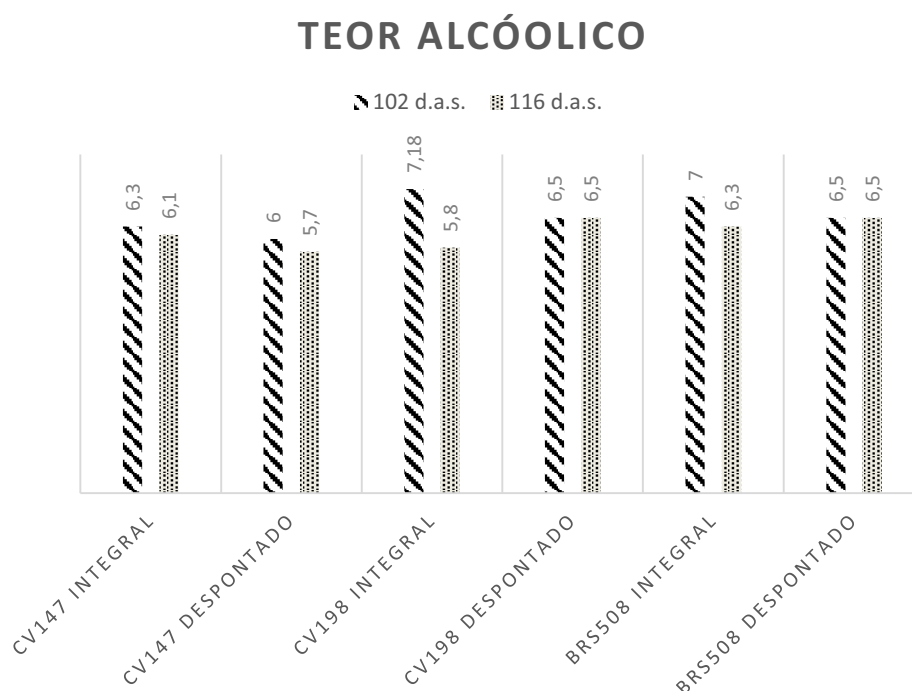


Figura 2. Resultados obtidos para teor alcoólico de três cultivares de sorgo sacarino (CV147, CV198 e BRS508), em dois sistemas de manejo (Integral e Despontado) e em duas épocas de amostragem (102 e 116 d.a.s.). Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014.

Observa-se que para os resultados de eficiência fermentativa, o genótipo CV147 (Integral) resultou em valores significativamente superiores aos 116 d.a.s. Entre os manejos, de forma geral os despontados resultaram em menor eficiência, exceto para o genótipo BRS508 aos 102 d.a.s que apresentou o maior valor. De um modo geral, as eficiências observadas foram similares às obtidas por Freitas (2013), Mancilha et al., (1984) e Ratnavathi et al., (2010), que obtiveram conversão de açúcares presentes no caldo do sorgo sacarino, com eficiências superiores a 90%, independentemente das estirpes utilizadas e dos genótipos considerados.

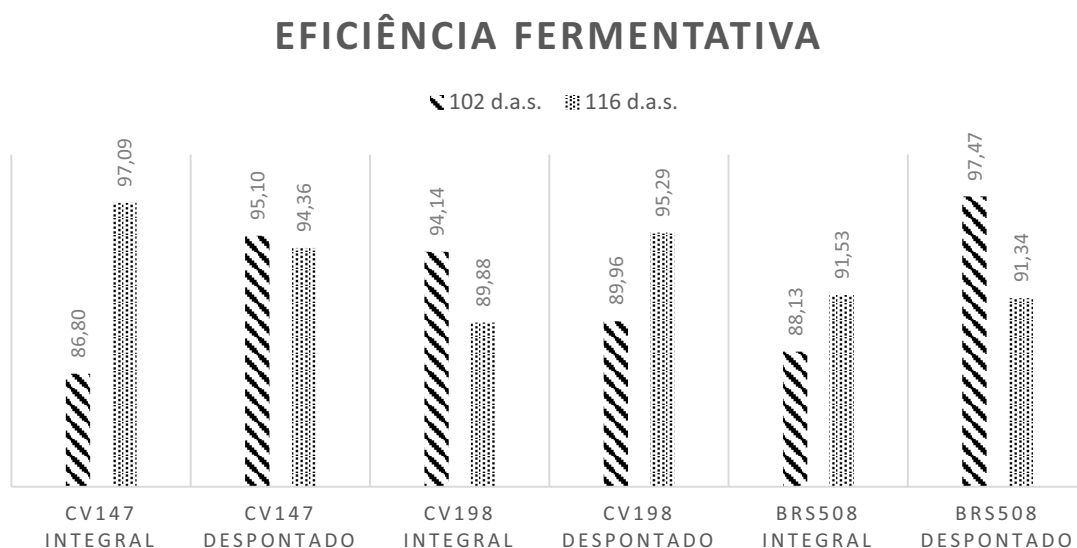


Figura 3. Resultados obtidos para eficiência fermentativa de três cultivares de sorgo sacarino (CV147, CV198 e BRS508), em dois sistemas de manejo (Integral e Despontado) e em duas épocas de amostragem (102 e 116 d.a.s.). Jaboticabal/SP. Safra 2013/2014

4.4 Produtividade

Neste estudo, objetivando comparar o desempenho dos diferentes genótipos, manejo e melhor época de colheita, determinou-se as produtividades de bioetanol teórico em litros por hectare (L/ha) e litros por tonelada (L/t), bioetanol por ciclo de cultura em litros por hectare por mês (L/ha/mês) e produtividade (t/ha) que estão apresentadas na Tabela 18.

Avaliando-se a produtividade, observou-se que o genótipo BRS508 resultou em menores valores (74 t/ha) em relação aos genótipos CV147 e CV198 (ambos 94 t/ha). Para o manejo dos colmos, verificou-se valores médios de 87t/ha para os colmos integrais e despontados. Considerando-se a quantidade teórica de etanol produzido por tonelada de sorgo verificou-se valores superiores para o BRS508 (53 L/t) em relação aos genótipos CV147 e CV198 (ambos 44 L/t).

Avaliando-se este parâmetro para colmos integrais e despontados obteve-se resultados médios de 45 e 49 L/t respectivamente. Embora tenha se observado diferença entre a produtividade de colmos e a de etanol/tonelada, todos os genótipos promoveram produção de 3600 litros de etanol por hectare, decorrente da quantidade

de açúcares presente nos mesmos. Neste sentido, verificou-se que o manejo de colmos integrais resultou em produção de 600 litros de etanol a mais por hectare. Deve-se destacar que as épocas de amostragem não interferiram sobre os parâmetros analisados.

Resultados bem inferiores foram observados por Masson (2013) que utilizando sorgo sacarino obteve produção média de bioetanol de 40,99 L/t e 1865,62 L/ha. Freita (2013) utilizando os genótipos CVWS80007 e BRS610, com colmos de sorgo sem a presença de folhas e panículas observou produção média de 1059L/ha de etanol teórico, quando processado com folhas e panículas observou uma variação de 1522 a 1905L/ha de etanol.

Davila-Gomez et al. (2011) observaram valores de 720,20 L/ha com a cultivar Thor até 1051,53 L/ha na cultivar Della, Ratnavathi *et al.* (2010), obtiveram valores de 1570 L/ha com a variedade Wray até 4500 L/ha com a variedade SSV 84. Almodares e Hadi (2009) relataram o potencial de produção de 3000 L/ha utilizando sorgo sacarino.

A produção de bioetanol no ciclo cultural (tabela 18) foi em média para os genótipos de 968L/há/mês. Para o manejo dos colmos, os colmos integrais resultaram em valores superiores ao despontados. O desponte das panículas resultou em menor quantidade de etanol/hectare. Aos 102 d.a.s. os valores médios obtidos para a produção de etanol por litros foram superiores do que aos 116 d.a.s. Nos estudos de Masson (2013) foram observados valores de 466,4 L/ha/mês.

Tabela 18. Valores médios obtidos para bioetanol teórico (L/t), (L/ha), (L/ha/mês) e produtividade (t/ha) de três cultivares de sorgo sacarino (CV147, CV198 e BRS508), em dois sistemas de manejo (Integral e Despontado) e em duas épocas de amostragem (102 e 116 d.a.s.). Jaboticabal/SP – Safra 2013/2014.

Tratamentos	L/t	L/ha	L/ha/Mes	Produtividade
Cultivares (A)				(t/ha)
CV147	44,3B	3574A	963A	93,3A
CV198	44,5B	3734A	1003A	95,2A
BRS508	53,2A	3515A	940A	74,3B
Teste F	6,5*	0,32ns	0,375ns	32,7**
DMS	8,7	863	226	8,76
C.V	16,9	22,0	21,56	6,52
Manejo (B)				
Integral	45,2B	3941A	1058A	92A
Despontado	49,5A	3274B	879B	83,2A
Teste F	16,2**	50,5**	50,37**	1,63ns
DMS	2,39	212	57	15,52
C.V	7,74	9,0	9,01	19,17
Épocas - d.a.s (C)				
102	47,2A	3767A	1076A	86,56A
116	47,4A	3448A	862B	89,8A
Teste F	0,015ns	1,59ns	9,83**	7,40ns
DMS	3,35	530	143	11,42
C.V	11,7	24,26	24,42	
Teste F AxB	3,6ns	4,8*	4,77*	0,06ns
Teste F Inter AxC	2,7ns	0,8ns	0,814ns	0,9ns
Teste F Inter BxC	0,11ns	0,006ns	0,06ns	0,12ns
Teste F AxBxC	0,63ns	0,07ns	0,075ns	0,04ns

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ns - não significativo ($p \geq 0,05$). Letras maiúsculas comparam médias na coluna. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. D.M.S = Desvio Mínimo Significativo. C.V = Coeficiente de Variação.

O desdobramento da interação entre os genótipos e o manejo dos colmos (Figura 4) mostram que os colmos integrais dos genótipos CV147 e CV198 obtiveram valores significativos superiores de álcool/ha/mes aos colmos despontados.

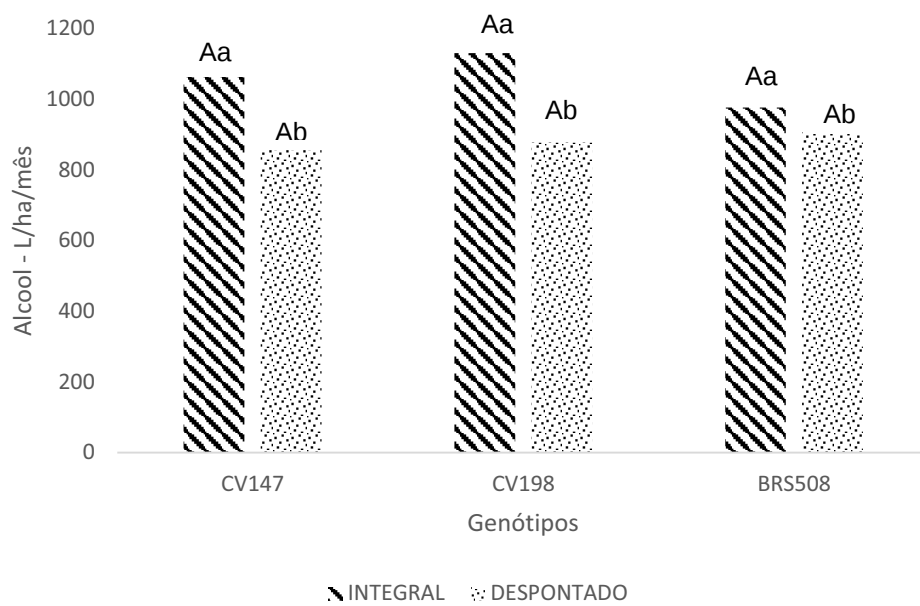


Figura 4. Desdobramento da interação entre os genótipos e o manejo dos colmos obtidos para etanol teórico (L/ha/mês).

5. CONCLUSÃO

O desponte das panículas promove menores teores de acidez, amido e compostos fenólicos no caldo, porém para as outras características como Brix, ART, rendimento fermentativo e produtividade, o desponte afeta negativamente a qualidade tecnológica do sorgo sacarino.

A colheita realizada aos 102 d.a.s. resulta em valores mais satisfatórios para os constituintes químico-tecnológico, eficiência fermentativa e produtividade.

As enzimas α -amilase e glucoamilase foram eficientes na quebra e conversão do amido em açúcares.

6. REFERÊNCIAS

- ALMODARES, A.; HADI, M.R. Production of bioethanol from sweet sorghum: A review. *Journal of Agricultural Research* 9: 772-780. 2009.
- AMARAL, F. S. **Influência conjunta do pH, temperatura e concentração de sulfito na fermentação alcoólica de mostos de sacarose**. 107 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.
- AMORIM, H.V.; BASSO, L.C.; ALVES, D.G. **Processos de produção de álcool – controle e monitoramento**. Piracicaba: FERMENTEC/FEALQ/ESALQ-USP, 1996, 93p.
- AMORIM, H.V. *Fermentação Alcoólica: Ciência e Tecnologia*. Piracicaba. São Paulo, .Fermentec, 448p. 2005.
- ANDRZEJEWSKI, B.; EGGLESTON, G.; LINGLE, S.; e 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**, Amsterdam, v. 44, p. 77-87, 2013.
- ANGELIS, D. F de. Agentes físicos, químicos e microbiológicos que afetam a fermentação alcoólica. In: MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. **Aguardente de cana-produção e qualidade**. Jaboticabal, FUNEP, p. 49-66. 1992.
- AUDILAKSHMI, S., MALL, A.K., SWARNALATHA, M., SEETHARAMA, N. "Inheritance of sugar concentration in stalks (brix), sucrose content, stalk and juice yield in sorghum" **Biomass and Bioenergy**, 34: 813-820. 2010.
- BAI, F.W.; ANDERSON, W.A.; MOO-YOUNG, M. Ethanol fermentation Technologies from sugar and starch feedstocks. **Biotechnology Advances**, 26, p. 89-105, 2008.
- BARCELOS, C. A. **Aproveitamento das frações sacarínea, amilácea e lignocelulósica do sorgo sacarino [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] para a produção de bioetanol**. 2012. 334f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2012.
- BILLA, E.; KOULLAS, D.P.; MONTIES, B.; KOUKIOS, E.G. Structure and composition of sweet sorghum stalk componentes. **Industrial Crops and Products** 6: 297-302. 1997.
- BROADHEAD, D.M. Effects of deheading on stalk yield and juice quality of Rio sweet sorghum. *Crop Science* 13: 395–396. 1973.
- CARVALHO, G. G.; MONTEIRO, R. A. B. A influência do teor de acidez e da contaminação bacteriana do mosto no rendimento fermentativo industrial para produção de etanol. **Cadernos de Pós-graduação da FAZU**, Uberaba, v.3, n.8, 2012.

CEPEDA, E.; HERMOSA, M.; BALLESTEROS, A. Optimization of maltodextrin hydrolysis by glucoamylase in a batch reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, v.76, p.70-76, 2001.

CHANNAPPAGOUDAR, B. B.; BIRADAR N. R.; PATIL, J. B.; HIREMATH S. M. Assessment of sweet sorghum genotypes for cane yield, juice characters and sugar levels. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, Bangalore, v. 20, n. 2, p. 294, 2007.

CONN, E.E. ; STUMPF, P.K. **Introdução à Bioquímica**. São Paulo: Edgard Blücher, 447 p. 1975.

COPERSUCAR. **Manual de controle químico da fabricação de açúcar**. Piracicaba, 2001. 1 CD-ROM.

COSTA, G.H.G.; FREITA, C.M.; FREITA, L.A.; MUTTON, M.J.R. Effects of different coagulants on Sweet sorghum juice clarification. **Sugar Tech** 16: 1-4. 2014.

CTC. Centro de Tecnologia Canavieira. **Manual de métodos de análises para açúcar**. 2005. 1 CD ROM.

CUNHA, S. P. da; SEVERO FILHO, W. A. Avanços tecnológicos na obtenção de etanol a partir de sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **TECNO-LÓGICA**, Santa Cruz do Sul, v. 14, n. 2, p. 69-75, 2010.

DAVILA-GOMEZ, F. J.; 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 and Products**, Amsterdam, v. 33, n. 3, p. 611-616, 2011.

DICKO M. H.; GRUPPEN H.; TRAORE A. S.; VORAGEN A. G. J.; VAN BERKEL, W. J. H. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, Victoria Island, v. 1, p. 21-38, 2006.

DINIZ, G. M. M.. **Produção de Sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) Aspectos Gerais**. 2010. 23f. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Indicações de aspectos tecnológicos sobre o bioetanol de matéria-prima amilácea**. 2009. Disponível em: <<http://www.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 12 out. 2014.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sorgo sacarino “a safrinha da cana-de-açúcar**. 2010. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 10 set. 2014.

EMBRAPA Milho e Sorgo. **Cultivares de sorgo para o mercado brasileiro na safra 2011/2012**. André May ... [et al.]. -- Sete Lagoas, MG 2011.28 p. -- (Documentos / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1518-4277; 117).

ERICKSON, J.E.; WOODARD, K.R.; SOLLENBERGER, L.E. Optimizing Sweet Sorghum Production for biofuel in the Southeastern USA through nitrogen fertilization and top removal. **Bioenerg Research** 1:86-94. 2012.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT/ Production/Crops-2009. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 25 de out. de 2014.

FERNANDES, A. C. **Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar**. Piracicaba-SP, 2000, 193p.

FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 73, n. 2, p. 627-650, 1927.

FREITA, L. A. **Avaliação tecnológica e microbiológica da fermentação etanólica de caldo de sorgo sacarino**. 2013. 70f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2013.

GOMES, S.C.M.P. **Produção de etanol utilizando mix de sorgo sacarino e cana-de-açúcar em processo de maturação**. 2014. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2014.

GUPTA, R. ; MOHAPATRA, H. ; GOSWAMI, V.K. ; CHAUHAN, B. **Microbial α -Amylases: a Biotechnological Perspective**. Process Biochemistry. p. 1-18. 2003.

HARGER, C.; SPRADA, D. ; HIRATSUKA, E. **Amilase Fúngica**. In: Bioquímica das Fermentações, 56 p. 1982.

ICUMSA - NTERNATIONAL COMMISSION FOR UNIFORM METHODS OF SUGAR ANALYSIS. **Method book**. Berlin. Bartens, 400p. 2011

LANDAU, E. C.; SANS, L. M. A. Clima. In: RODRIGUES, J. A.S. (Ed.). **Cultivo do sorgo**. 5. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milhoe Sorgo, 2009. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de produção,2) Acesso em: 25 de set. de 2013.

LANE, J. H.; EYNON, L. **Determination of reducing sugars by Fehling solution with methylene blue indicator**. London: Norman Rodger, 1934. 8 p.

LAIDLER, K.J. **Introduction to the Chemistry of Enzymes**. New York: McGraw-Hill Book Company Inc., 1954. 208 p.

LAOPAIBOON, L.; THANONKEO, P.; JAISIL, P.; LAOPAIBOON, P. Ethanol production from sweet sorghum juice in batch and fed-batch fermentations by *Saccharomyces cerevisiae*. **World J Microbiol Biotechnol**, v.23, p.1497–1501, march 2007.

LEADLAY, P.F. **An Introduction to Enzyme Chemistry**. Cambridge: The Royal

Society of Chemistry, 1993. 82p.

LEE, S. S.; ROBINSON, F. M.; WANG, H. Y. Rapid determination of yeast viability. In: BIOTECHNOLOGY BIOENGINEERING SYMPOSIUM. University of Michigan, United States. n.11, p.641-649. 1981.

LI, B.; BALAN, V.; YUAN, Y.; DALE, B.E. Process optimization to convert forage and sweet sorghum bagasse to ethanol based on ammonia fiber expansion (AFEX) pretreatment. **Bioresource Technology**, v.101, p.1285–1292, 2010.

LIMA, L. R.; MARCONDES, A.A. **Álcool Carburante: Uma Estratégia Brasileira**. Curitiba: Editora UFPR, 248p., 2002.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H.V. In: LIMA, U.A. (Coord.) **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. São Paulo: Edgar Blucher, p.1 - 43. (Biotecnologia Industrial; v.3). 2001.

LINGLE, S.E. TEW, T.L. RUKAVINA, H. BOYKIN, D.L. Post-harvest Changes in Sweet Sorghum II: pH, Acidity, Protein, Starch, and Mannitol Bioenerg. Res. 6:178–187. 2013.

LNF. LNF Latino Americana. Leveduras selecionadas. 2013. Disponível em: <http://www.lnf.com.br/leveduras.html>. Acesso em: 01 out. 2014..

MCBEE, G.G., MILLER, F.R. 1993. Stem carbohydrate and lignin concentrations in sorghum hybrids at seven growth stages. *Crop Sci.* 33, 530-534.

MACKENZIE, D. A.; JEENES, D. J.; GOU, X.; ARCHER, D. B. Molecular basis of glucoamylase over production by a mutagenised industrial strain of *Aspergillus niger*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.26, p.193-200, 2000.

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

MEIRELES, M. B. **Parâmetros químico- tecnológicos de cultivares de sorgo sacarino e reflexos na produção de etanol**. 2013. 48f. Trabalho (Graduação), Curso de Tecnologia em Biocombustíveis, Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal, Ano de conclusão do curso. 2013.

MENEZES, T.J.B. Etanol, o combustível do Brasil. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda., p.141-178, 1980.

MONSANTO. CanaVialis exhibe completo portfólio de soluções energéticas na Fenasucro & Agrocana 2012. Disponível em: http://www.monsanto.com.br/sala_imprensa/includes/template_press_release>. Acesso em: 12 de julho 2014.

MUTTON, M. J. R. **Avaliação da fermentação etanólica do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) tratada com maturadores químicos**. 1998. 178 f Tese (Livre-Docência), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1998.

NAN, L.; BEST, G.; CARVALHO NETO, C. C. 1994. Integrated energy systems in China - The cold Northeastern region experience. Food and Agriculture organization of the united nations. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/t4470e/t4470e00.htm> Acessado em 09 jul 2014.

OKOLO, B.; JOHNSTON, B. J. R.; BERRY, D. R. Toxicity of ethanol, n-butanol and iso-amyl alcohol in *Sacch. cerevisiae* when supplied separately and in mixtures. **Biotechnology Letters**, Kew, v. 9, n. 6, p. 431-434, 1987.

PACHECO, T.F. Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia. 2010.

PANDEY, A.; WEBB, C.; SOCCOL, C.R.; LARROCHE, C. **Enzyme Technology**. 1^a ed. New Delhi: Asiatech Publishers, Inc, 760 p. 2005.

PARK, Y.K. ; SANTI, M.S.S. Induction of High Amyloglucosidase Producing Mutant from *Aspergillus awamori*. **Journal of Fermentation Technology**. v. 55, p. 193-195. 1977.

PIN, M.; PICCO, D.; VECCHIET, A.; MACCHIA, E. Sweet sorghum to produce in Italy sustainable ethanol, electricity and heat in decentralised small-medium biorefinery. CETA, **Centre for Theoretical and Applied Ecology. Green Engineering**. Via Licinio 44, Gorizia, Italy, 2011. Disponível em: <<http://www.greeneng.it/pdf/T4.3E.pdf>> acesso em: 02 de out. de 2014.

QUILHÓ, F. T. L. **Produção de bioetanol a partir de materiais lenho-celulósicos de sorgo sacarino: revisão bibliográfica**. 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Portugal, Lisboa, 2011.

RAJENDRAN, C.; RAMAMOORTHY, K.; BACKIYARANI, S. Effect of deheading on juice quality characteristics and sugar yield of sweet sorghum. *Journal Agronomy & Crop Science* 185: 23-26. 2000.

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

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** 46:120-129. 2011.

REED, G. **Enzymes in Food Processing**. 2.ed. New York: Academic Press Inc., p. 62-87. 1975.

RIBAS, P. M. Plantio: a implantação da cultura. In: RODRIGUES, J.A. S. (Ed.). **Cultivo do sorgo**. 5. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. Sistemas de produção. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 30 de out. de 2014.

RIBEIRO, E. J. **Fermentação Alcoólica**. Apostila Módulo II. Processamento na Indústria Sucroalcooleira. Uberaba, FAZU, 2010.

RIPOLI, T. C. C.; RIPOLI, M. L. C. Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente. Piracicaba: Barros e Marques Ed. Eletrônica. 302 p. 2004.

ROSAS, J. Curso de Biología Molecular Y Celular. **Enzimas: Aceleradores de las Reacciones Químicas de los Seres Vivos**. 2003. Disponível em: <<http://interbiologia.virtualave.net>> Acesso em 20 set 2014..

RUTTO, L. K.; XU, Y.; BRANDT, M.; REN, S.; KERING, M. K. Juice, ethanol, and grain yield potential of five sweet sorghum (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) cultivars. *Journal of Sustainable Bioenergy Systems* 3: 113-118. 2013.

SALVI, D. A., AITA, G. M., ROBERT, D., BAZAN, V. Ethanol production from sorghum by dilute ammonia pretreatment. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.37, p.27–34, 2010.

SOUZA, C. C. de; 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 Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.3, p.512-517, 2005.

SOUZA, V. F.; **Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de sorgo sacarino**. 2011. 63 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba – MG, 2011.

SOUSA, P. N.; SCUR, G.; SOUZA, R. C. Panorama da cadeia produtiva do etanol no Brasil: gargalos e proposições para seu desenvolvimento. *GEPROS. Gestão da Produção, Operações e Sistemas*, Ano 7, nº 3, jul-set/, p. 145-159. 2012.

SRINIVASA, P.; RAO S.S.; SEETHARAMA N.; UMAKANTH A.V.; REDDY S. P.; REDDY B.V.S.; GOWDA, C.L.L.. Sweet sorghum for biofuel and strategies for its improvement. Patancheru, Andhra Pradesh, India: **International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics**, 80 p, 2009.

STECKELBERG, C. Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas. 215p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP. 2001.

STUPIELLO, J.P. Curso de qualidade da matéria prima. Cd Room, 2006.

STUPIELLO, J.P.; HORII, J. Condução da fermentação alcoólica. **Saccharum**, v. 17, p.43-46, 1981.

TAIZ, L. AND E. ZEIGER. Plant Physiology, 5th edition. Language Publishers, Sinauer Associates, California, USA. 2010.

TANIMOTO, T. 1964. The press method of cane analysis. Hawaiian Planter's Record, Aiea 57:133-150.

UNICA - União da Indústria da Cana-de-açúcar. **Perfil da produção**. 2011. Disponível em: <http://www.portalunica.com.br/> Acesso em 14 nov. 2014.

UNICA - União da Indústria da Cana-de-açúcar. **Etanol do quê?** 2012. Disponível em: <http://www.unica.com.br/> >. Acesso em: 11 de nov. de 2014.

UNICA. União da Indústria da Cana-de-Açúcar. **Moagem de cana-de-açúcar no Centro-sul alcança 23,12 milhões de toneladas na primeira quinzena de novembro**. Publicado em 03/05/2012. Disponível em: <http://www.unica.com.br>. Acesso em: 15 de nov 2012.

VILLEN, R.A. Mauá: Biotecnologia – Histórico e Tendências. Escola de Engenharia de Mauá. Apostila, 2009.

YANG, L.; BAO-QING, D.; XIANG-NA, Z.; MEI-QI, Y.; MING, L.; GUI-YING, L. Correlation analysis between the key enzymes activities and sugar content in sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) stems at physiological maturity stage. Australian Journal of Crop Science 7: 84-92. 2013.

YOKOIA, F. Problemas com contaminantes na fermentação alcoólica. STAB, Piracicaba 1, n.1, :38-39. 1991.

WACLAWOVSKY, A. J.; SATO, P. M.; LEMBKE, C. G.; MOORE, P. H.; SOUZA, G. M. Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. **Plant Biotechnology Journal**, v. 8, p. 263–276. 2010.

WANG, W; ZHUANG, X.; YUAN, Z.; YU, Q.; QI, W.; WANG, Q.; TAN, X. High consistency enzymatic saccharification of sweet sorghum bagasse pretreated with liquid hot water. **Bioresource Technology**, v.108, p.252–257, 2012.

WHITFIELD, M.B.; CHINN, M.S.; VEAL, M.W. Processing of materials derived from sweet sorghum for biobased products. **Industrial Crops and Products**, v.37, n.1, p.362–375, 2012.