

Curso de Tecnologia em Biocombustíveis

INFLUÊNCIA DE FLOCULANTES NO TRATAMENTO DO CALDO DESTINADO AO PROCESSO FERMENTATIVO

JULIANA DOS SANTOS COSTA

**Orientadora: Profa. Dra. Márcia Justino Rossini
Mutton**

**Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Lucas
Madaleno**

Coorientador: Gustavo Henrique Gravatim Costa

**Trabalho apresentado a Faculdade de Tecnologia
de Jaboticabal - Fatec, para obtenção do título de
Tecnólogo em Biocombustíveis.**

Costa, Juliana dos Santos

C837i Influência de flocculantes no tratamento do caldo destinado ao processo fermentativo. / Juliana dos Santos Costa.— Jaboticabal : Fatec, 2012.
28f.

Orientadora: Márcia Justino Rossini Mutton

Coorientador: Leonardo Lucas Madaleno

Trabalho (graduação) – Apresentado ao Curso de Tecnologia em Biocombustíveis, Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal, 2012.

1. *Moringa oleífera* Lam. 2. Polieletrólito. 3. Defecação simples. I. Mutton, Márcia Justino Rossini. II. Madaleno, Leonardo Lucas. III. Título.

CDU 664.113

Curso de Tecnologia em Biocombustíveis

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: INFLUÊNCIA DE FLOCULANTES NO TRATAMENTO DO CALDO DESTINADO AO PROCESSO FERMENTATIVO

AUTOR: JULIANA DOS SANTOS COSTA

ORIENTADORA: PROFA. DRA. MÁRCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON

COORIENTADOR: PROF. DR. LEONARDO LUCAS MADALENO

COORIENTADOR: GUSTAVO HENRIQUE GRAVATIM COSTA

Trabalho de Graduação aprovado pela Banca Examinadora como parte das exigências para conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Biocombustíveis, apresentado à FATEC-JB para a obtenção do título de Tecnólogo.

MÁRCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON

RITA DE CÁSSIA VIEIRA MACRI

LIDYANE ALINE DE FREITA

Data da apresentação: 13 de Dezembro de 2012.

Márcia Justino Rossini Mutton

Dedico

Aos meus pais **José Antonio Costa Célia Regina dos Santos Costa** e irmã **Ana Carolina dos Santos Marconato**, às minhas avós **Antonia Buzinaro Costa e Lucy da Silva Vieira dos Santos** pelo amor, carinho e dedicação.

AGRADECIMENTOS

A FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal pela oportunidade oferecida aos alunos da FATEC em ceder espaço para que pudessem estudar.

A Professora Dra. Márcia Justino Rossini Mutton pela oportunidade, confiança e ensinamentos ao longo do período em que estive realizando este trabalho.

Aos meus Tios que sempre estiveram ao meu lado me apoiando nesta jornada, em especial às tias Eliana Eiko Nito e Rose Costa.

A uma grande pessoa que tive o prazer de conviver, Sérgio Luís Nobukuni pela sua alegria e ajuda prestada.

A todos do Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Álcool, em especial ao Gustavo Henrique Gravatim Costa pelo apoio neste trabalho e paciência, ao Bruno de Moraes Nunes pelos ensinamentos e parceria todos os dias.

Aos meus amigos da Faculdade pelo períodos em que compartilhamos nossas vidas, nas pessoas Laíssa Cavallini, Ana Beatriz Perone Girio, Beatriz Souza, Daniele Scarpa e Isabela Lourençano.

Às minhas melhores amigas Juliana Christovam e Laís Dall'Acqua que sempre estiveram presentes na minha vida.

RESUMO

INFLUÊNCIA DE FLOCULANTES NO TRATAMENTO DO CALDO DESTINADO AO PROCESSO FERMENTATIVO

O Brasil é o maior produtor mundial de açúcar e o segundo de etanol. Devido as crescentes demandas por estes produtos, faz-se necessário o aumento do cultivo de cana-de-açúcar e/ou o aprimoramento de tecnologias industriais. Entre as novas tecnologias empregadas, deve-se considerar novos insumos utilizados no processo de tratamento de caldo, como auxiliares de sedimentação extraídos de fontes naturais. Dentre os potenciais auxiliares de sedimentação utilizados, o extrato de *Moringa oleífera* Lam destaca-se como coagulante de impurezas em água. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do extrato de folhas e sementes de moringa na clarificação do caldo e reflexos na produção de etanol. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos: extrato de folhas (5 ppm) e sementes de moringa (100 ppm), polieletrólito sintético (1,5 ppm) e testemunha, com 4 repetições. Utilizou-se o caldo da cultivar RB867515, para a realização do processo de defecação simples, com elevação do pH para 6 por adição de hidróxido de cálcio. Os floculantes foram adicionados na proveta de decantação previamente a adição de caldo. Após clarificado, ajustou-se o pH para 4,5 e o Brix para 16^o, originando o mosto. A seguir, inoculado-se levedura CAT-1, iniciando o processo fermentativo. Quando a quantidade de açúcares presentes no substrato foi menor ou igual a 1, o material foi centrifugado, originando o vinho. Para o tratamento de caldo avaliou-se a Velocidade de Sedimentação e Volume de Lodo formado. Qualificou-se no mosto os Açúcares Redutores Totais e Acidez Total. Ao longo do processo fermentativo (pé-de-cuba, início e final) avaliou-se a viabilidade celular, brotamento e viabilidade de brotos das leveduras. Foram determinados no vinho os teores de Açúcares Redutores Residuais Totais, Acidez Total, Glicerol e Teor Alcoólico. Verificou-se que o extrato de folhas e sementes resultaram em velocidade de sedimentação similares aos apresentados pelo polieletrólito sintético, sendo que a qualidade do mosto foi idêntica entre os extratos e o tratamento convencional; o emprego dos extratos não afetaram negativamente a levedura em fermentação, sendo que a utilização de extrato de folhas propiciou maior índice de multiplicação celular no pé-de-cuba da fermentação.

Palavras-chave: *Moringa oleífera* Lam; polieletrólito; defecação simples

ABSTRACT

FLOCCULANTS INFLUENCE IN THE TREATMENT OF JUICE AND FERMENTATION PROCESS

Brazil is the world's largest producer of sugar and ethanol seconds. Due to the growing demand for these products it is necessary to increase the cultivation of sugar cane and / or improvement of industrial technologies. Among the technologies to be employed, one must consider new inputs to be used in method of treating juice, aides such as sedimentation extracted from natural sources. Among the potential settling aids to be used, the extract of *Moringa oleifera* Lam stands out now be used as coagulating impurities in water. Thus the aim of this study was to evaluate the impact of Moringa leaves and seeds in the broth clarification and reflection in ethanol production. The experimental design was completely randomized design with 4 treatments and 4 replications. The treatments were: leaf extract (5 ppm) and moringa seeds (100 ppm), synthetic polyelectrolyte (1.5 ppm) and witness. The broth was obtained from cultivar RB867515. Treatment broth was used for defecation simple, raising the pH to 6 by addition of calcium hydroxide. The flocculants were added to the beaker decantation prior to addition of broth. After clarification, was adjusted to pH 4.5 and to 16 Brix and inoculated yeast CAT-1, starting the fermentation process. When the amount of sugars present in the substrate was less than or equal to 1, the material was centrifuged, yielding wine. For the treatment of broth was assessed sedimentation velocity and volume of sludge formed. After fermentation, the material was centrifuged, yielding wine. For the treatment of broth was evaluated decantation speed and volume of sludge formed. Was quantified in the must Total Reducing Sugars and Total Acidity. Throughout the fermentation process (beginning, middle and ending) was assessed cell viability, and viability of budding yeast buds. It was determined at the level of wine Residual Total Reducing Sugars, Total Acidity, Alcohol and Glycerol. It was observed that the extract of leaves and seeds were decantation speed similar to that presented by the synthetic polyelectrolyte; must quality was similar between the conventional treatment and the extracts; extracts did not affect the yeast fermentation, with the use extract leaves higher rates of cell multiplication in beginning fermentation.

Keywords: *Moringa oleifera* Lam; polyelectrolyte; simple defecation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores obtidos para pH dosado, Volume de Ca(OH) ₂ gasto para neutralizar o caldo, Velocidade de Decantação dos coágulos e Volume de Lodo formado empregando quatro diferentes auxiliares de decantação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.....	17
Tabela 2 - Valores Obtidos para Brix e pH do caldo clarificado empregando quatro diferentes auxiliares de decantação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.....	18
Tabela 3 – Valores obtidos para Açúcares Redutores Totais e Acidez Total do mosto produzido de quatro diferentes auxiliares de decantação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.....	18
Tabela 4 - Valores obtidos para Viabilidade Celular, Brotamento e Viabilidade de Brotos no pé-de-cuba da fermentação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.....	19
Tabela 5 - Valores obtidos para Viabilidade Celular, Brotamento e Viabilidade de Brotos no início da fermentação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.	20
Tabela 6 - Valores obtidos para Viabilidade Celular, Brotamento e Viabilidade de Brotos no final da fermentação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.....	21
Tabela 7 - Valores obtidos para viabilidade celular, brotamento e viabilidade de brotos no final da fermentação. jaboticabal-sp. safra 2011/2012.....	22

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Valores médios obtidos para Brix, pH, Acidez Total e Açúcares Redutores Torais (ART) para o caldo extraído da cultivar RB867515. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.

..... 16

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	08
2. OBJETIVOS.....	09
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
3.1 Processo de Fabricação do Etanol.....	10
3.2. Clarificação do Caldo	11
3.3. Processo Fermentativo	12
3.4. <i>Moringa oleífera</i> Lam.....	14
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	16
6. CONCLUSÕES	22
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é líder mundial na produção de cana-de-açúcar, com previsão de processamento para a safra de 2012/2013 de 602,2 milhões de toneladas, sendo destinada a produção de açúcar 300 milhões de toneladas. Deste total, aproximadamente 302 milhões de toneladas de cana servirá para a produção de 23,96 bilhões de litros de etanol (CONAB, 2012).

A produção de etanol, apesar de ter sofrido desaceleração mundial de produção a partir da crise econômica de 2008 (UNICA, 2012), apresenta-se como alternativa viável para a substituição da gasolina em veículos leves. Além disso, os Estados Unidos vem eliminando as barreiras comerciais protecionistas à importação deste produto (DATAGRO, 2011), fato que permite concluir que nos próximos anos haverá novamente altos índices de produção.

Além da demanda do mercado externo, o mercado interno demonstra-se com grande potencial de aumento e consumo deste biocombustível. Estima-se que em 2020 irá dobrar a frota de veículos "flex fuel" no país, além da crescente utilização deste produto nas indústrias químicas, como por exemplo, a produção de bioplásticos (UNICA, 2012).

Dentro deste cenário é de grande importância o estudo de novas tecnologias de produção e industrialização da cana-de-açúcar, visando o aumento de produtividade dos canaviais e das unidades industriais, assim como a redução de custos, aumentando, desta forma, a competitividade da unidade produtora frente ao mercado.

Entre as novas tecnologias a serem empregadas, deve-se considerar novos insumos a serem utilizados no processo de tratamento de caldo, o qual visa remover contaminantes tanto para a indústria de açúcar como a de etanol. Dentre estes, os auxiliares de decantação utilizados atualmente são importados e de origem sintética, o que eleva o custo de produção.

Produtos originados de fontes naturais são mais baratos e, ao mesmo tempo, agregam valor ao produto. Neste contexto, a utilização de auxiliares de decantação extraídos de plantas pode ser benéfico na produção de etanol ou cachaça orgânica.

Atualmente vários produtos estão em estudos para substituírem os polieletrólitos sintéticos convencionais, como por exemplo, o extrato de folhas e sementes de *Moringa oleífera* Lam. (BIDÓIA, 2009; COSTA et al., 2012). Tal planta é amplamente utilizada como complemento alimentar, além das sementes servirem como coagulantes de impurezas em suspensão presentes em água (SCHWARZ,2000).

2. OBJETIVO

O objetivo do trabalho foi avaliar o impacto da utilização do extrato de folhas e sementes de *Moringa oleífera* Lamarck no tratamento do caldo de cana e reflexos sobre a produção de etanol.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Processo de fabricação do etanol

No Brasil a cana-de-açúcar é a principal matéria-prima para a indústria sucroenergética. Durante o desenvolvimento da cultura no campo, pode sofrer ataques de pragas ou doenças, resultando em elevadas quantidades de fibras e de impurezas minerais e vegetais. Neste contexto, é de extrema importância que sua qualidade seja preservada (STUPIELLO, 1992).

De acordo com Villela (2003), a utilização de matéria-prima com menor teor de impurezas, com o pH entre 5,0 a 5,5, resulta em otimização do processo industrial e, conseqüentemente, maiores produtividades.

Quando a matéria-prima chega a indústria, é direcionada para as moendas ou difusores, responsáveis por separar a parte sólida (fibra) e líquida (caldo) da cana. O caldo extraído destina-se tanto para a produção de açúcar como para de etanol (AMORIM, 2005).

O caldo extraído apresenta compostos em suspensão como terra, coloides, entre outros. Tais elementos, quando em contato com a levedura, podem interferir negativamente em sua fisiologia, resultando em queda de células viáveis, assim como na quantidade de brotos vivos (AMORIM, 2005). Desta maneira, antes de ser inoculado leveduras no caldo de cana, este primeiramente deve ser clarificado e, a seguir, corrigido a concentração de açúcares, nutrientes, temperatura e nível de micro-organismos contaminantes, originando o mosto.

Segundo Yokoya (1995), a fermentação alcoólica é a principal etapa do processo de produção de álcool, pois nela o açúcar e outros componentes do mosto são transformados pelas leveduras em álcool etílico, gás carbônico e compostos secundários, afim de produzirem energia para suas atividades metabólicas.

Quando as leveduras consumirem todos os açúcares do substrato, o material em fermentação é destinado a centrífugas, as quais separam a parte líquida (vinho) das leveduras. Tais micro-organismos são tratados e retornam ao processo para novo ciclo de fermentação.

O vinho é destinado às colunas de destilação, as quais irão separar o etanol dos demais compostos devido a diferentes pontos de ebulição. Um dos subprodutos deste processo é a vinhaça, a qual apresenta grande quantidade de nutrientes e, devido a isto, é utilizada como fertilizante no campo.

3.2. Clarificação do caldo

A clarificação do caldo de cana é utilizada basicamente para a produção de açúcar, devido aos tratamentos onde se utilizam enxofre, leite de cal, entre outros, que são empregados na produção de um açúcar limpo, sem nenhuma cor aparente (ALBUQUERQUE, 2011).

As usinas e destilarias realizam tratamentos físico-químicos para o caldo destinado à fermentação, adaptado do processo de fabricação de açúcar, envolvendo peneiramento, dosagem de cal, aquecimento, degaseificação flash, adição de polímero e decantação.

O processo de clarificação apresenta como tecnologia empregada, a coagulação máxima dos colóides existentes no caldo, resultando na formação de um precipitado insolúvel que adsorve e arrasta as impurezas (DELGADO e CESAR, 1977).

O tratamento de caldo utilizado para a produção de etanol, consiste em elevar o pH do caldo para valores próximo a 6,0, com adição de leite de cal. O cálcio adicionado irá reagir com o fósforo dissolvido, formando um composto de natureza insolúvel (fosfato de cálcio), o qual irá precipitar. Deve-se ressaltar que este tipo de tratamento remove apenas impurezas grosseiras como terra, evitando que nutrientes essenciais a levedura sejam removidos (AMORIM, 2005).

A fim de se otimizar a precipitação destes coágulos, são empregados auxiliares de sedimentação, tais como fosfatos, bentonitas, polieletrólitos, os quais irão se ligar ao flocos formados, aumentando o peso do mesmo e, conseqüentemente, facilitando a sedimentação (DELGADO e CESAR, 1977).

Segundo Thangamuthu e Khandagave, (2010), atualmente, alguns polieletrólitos naturais vêm sendo estudados em escala laboratorial, como por exemplo, o extrato de folhas da planta *Hibiscus lunarifolius*, as quais contêm uma substância chamada mucilagem, constituída pela proteína albumina, responsável pela coagulação e branqueamento do caldo.

Bidóia (2009) estudando o efeito do extrato de folhas de moringa como auxiliar de sedimentação, observou valores de velocidade de precipitação de 1,11 cm/min e 453 mL de lodo formado, quando clarificou-se 1L de caldo de cana.

O tratamento do caldo destinado ao processo fermentativo resulta em benefícios para o processo, removendo a maioria das contaminações, como a terra e os coloides presentes no caldo em suspensão, diminuindo, conseqüentemente as contaminações por micro-organismos (AMORIM, 2005).

3.3. Processo Fermentativo

O processo fermentativo ocorre quando micro-organismos, como outros tipos de leveduras, fungos e bactérias, entram em contato com o meio rico em nutrientes, sendo que entre eles estão os açúcares que são consumidos pelos micro-organismos e transformados em etanol e CO₂ (LEHNINGER et al., 2000).

O organismo responsável por este processo é a levedura, a qual metaboliza carboidratos para a produção de energia em forma de ATP com o objetivo de manutenção celular e reprodução, seja esta sexuada ou assexuada. Para que este processo ocorra, é de grande importância que o meio apresente quantidades adequadas de nutrientes, minerais, vitaminas além de pH e temperatura ideal. A conversão de açúcar em energia pode ocorrer com ou sem presença de oxigênio, fato que associado a concentração de carboidratos no substrato determinará se a célula realizará o metabolismo fermentativo ou respiratório (WALKER, 1998).

Atualmente o micro-organismo mais utilizado industrialmente para a conversão de açúcar em etanol é a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, a qual produz elevado teor deste combustível e é resistente a um baixo pH (LIMA et al, 2001).

Mutton e Mutton (2002) destacaram que a qualidade da matéria-prima escolhida, o pH, acidez total, presença de micro-organismos invasores, temperatura, concentração de açúcar no meio, disponibilidade de nutrientes e o próprio etanol efetivamente podem afetar a sua eficácia. Assim, a fermentação requer cuidados, pois a sua eficiência é prejudicada constantemente por fatores diretos ou indiretos.

O processo de fermentação realizado pela levedura é energeticamente menos favorável em comparação com a respiração, porém no primeiro processo, a célula libera para o meio, entre outros metabólitos, o etanol, produto de interesse nas indústrias sucroalcooleiras (LIMA et al., 2001).

A contaminação microbiológica é um dos fatores de maior importância para a fermentação alcoólica, uma vez que poderá atingir diretamente a sua eficiência. Segundo Amorim (1996) a quantificação do pH é determinante para o controle da contaminação bacteriana nesse processo, sendo que a aplicação de meio com pH 3,5 a 4,5 retarda a contaminação devido as características neutrófilas das bactérias (AMORIM, 1996; MUTTON, 1998).

A infecção acarreta muitos prejuízos para a indústria, já que esses microorganismos liberam ácidos orgânicos que agem como inibidores da fermentação (YOKOYA, 1991; MUTTON, 1998). Contudo, esses contaminantes são conduzidos para dentro do processo por meios indiretos (colheita) e, durante a moagem, encontram maneiras favoráveis para a sua multiplicação (STUPIELLO e HORII, 1981).

Além de fatores microbiológicos, fatores físicos também afetam a eficiência fermentativa, como a temperatura abaixo do ideal para as leveduras, a qual resulta em diminuição do crescimento e aumento do tempo de geração. As temperaturas elevadas, acima de 40° C, afetam negativamente a multiplicação e viabilidade das células, possibilitando o desenvolvimento de bactérias e produção de diversos metabolitos (ANGELIS, 1992).

Os nutrientes são de extrema importância para as leveduras, pois elas necessitam deles para o funcionamento das suas células. O desequilíbrio desses nutrientes pode causar a deficiência do processo fermentativo, como o rendimento e o crescimento das leveduras (AMORIM et al., 1996). Os principais alimentos dos microrganismos são os açúcares e o nitrogênio, entretanto para a sua sobrevivência precisam também do fósforo, potássio, cobre, enxofre, magnésio e zinco (AMORIM et al., 2005).

As variedades estudadas têm uma relação direta com as concentrações de nutrientes como o tipo de solo, adubação, entre outros. A composição química e tecnológica do caldo de cana-de-açúcar permite que esses nutrientes se originem naturalmente no meio. Entretanto, quando esses nutrientes estejam esgotados no mosto para a reutilização da levedura é necessária à complementação com insumos que tragam esses nutrientes essenciais para o meio (MUTTON, 1998).

3.4. *Moringa oleífera* Lamark (Moringaceae)

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

A *Moringa oleífera*, embora não seja uma fixadora de nitrogênio, as partes componentes da sua árvore são usadas para outros fins. Suas vagens, folhas e sementes podem ser consumidas como vegetais que possui ótimo valor nutritivo. O óleo extraído das sementes

é aplicado no preparo de vários pratos voltados a gastronomia, apresentando-se semelhante na composição do azeite, além de ser empregado na produção de sabão, cosméticos, combustíveis e sua madeira na produção de papel (SCHWARZ, 2000).

Sua principal utilização industrial é como coagulante natural da água em países como o Sudão, e Indonésia (JAHN, 1986). No Quênia e na Nigéria, órgãos responsáveis pelo tratamento de água estão fazendo plantios de *Moringa* para a purificação da água, sendo que neste no processo, a carga bacteriana é reduzida em até 97%.

Os materiais naturais de origem vegetal utilizado para clarificar a água turva não é um conceito contemporâneo.

Contudo, a exploração dos extratos de *Moringa* estão em evidência, pois apresentam respostas de maior eficácia como coagulante primário nos tratamentos de água, podendo ser comparado com o sulfato de alumínio em sua propriedade química (NDABIEGENSERE e NARASIAH, 1995).

No tratamento de águas contaminadas por efluentes têxteis, nos países em desenvolvimento, tem sido utilizada com eficiência, apresentando vantagens por ser um método barato e rápido, sendo a estes, independente do pH da água, onde não modifica o pH do meio que está agindo. Apenas se as concentrações forem muito altas, de modo que as características organolépticas não sejam alteradas, o baixo volume de lodo precipitado é biodegradável (NDABIEGENSERE e NARASIAH, 1998).

A *Moringa oleifera* é destinada, contudo, para a purificação da água para uso doméstico com ação de floculantes. Entretanto, essa purificação não garante que a água tratada seja completamente (100%) livre de germes patogênicos. A planta só reduz o número de partículas suspensa (floculação) e também reduz a quantidade de microrganismo presente na água (SCHWARZ, 2000).

Bidóia (2009) observou que o extrato das folhas de *Moringa oleifera* pode ser utilizado como auxiliar de sedimentação no caldo de cana, por produzir cor e turbidez do caudo. Porém, a velocidade da decantação não foi eficaz quando comparada com o polietileno sintético (Mafloc 985). Contudo, concluiu-se que pode ser satisfatório o uso da *Moringa* no processo de clarificação do caldo de cana.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado no Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Alcool da FCAV/UNESP entre agosto a outubro do ano de 2011 (safra 2011/2012). A variedade utilizada foi a RB867515, atualmente a mais cultivada no Brasil, colhida no período útil de industrialização.

O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 4 repetições.

Os tratamentos constituíram-se nos produtos auxiliares da sedimentação das impurezas, sendo: extrato de folhas (5ppm) e sementes (100ppm) de moringa, polieletrólito sintético Flomex 9076 (1,5ppm) e tratamento controle.

O extrato de folhas de moringa foi obtido através da metodologia de (Ghasi et al. 2000), enquanto o extrato de sementes foi obtido segundo (BHATIA et al. 2007).

Após o caldo ser extraído dos colmos através de moagem, este foi submetido a correção de pH até 6,0 com adição de hidróxido de cálcio 6^oBé, e aquecido a 100°C. A seguir, este foi transferido para provetas de vidro de 1L, em sistema aquecido por lâmpadas, adicionando-se concomitantemente os auxiliares de sedimentação. Após 20 minutos em repouso, o caldo foi filtrado em papel de filtro (Qualy-14 um de porosidade).

Neste processo foram avaliados os seguintes parâmetros qualitativos: Volume de Ca(OH)₂ gasto para elevar o pH para 6,0; pH Dosado; Velocidade de Sedimentação e Volume de Lodo formado (CTC, 2005).

O caldo clarificado foi submetido ao ajuste de Brix para 16^o e o pH para 4,5, utilizando-se ácido sulfúrico; resultando no mosto. Deste, quantificou-se o teor de açúcares redutores totais e acidez total (CTC, 2005).

O mosto foi submetido a inoculação por levedura CAT-1 na concentração de 30g/L. Ao longo do processo fermentativo (pé-de-cuba, início e final) avaliou-se a viabilidade celular, brotamento e viabilidade de brotos (LEE et al., 1981). Considerou-se o início da fermentação, 1 hora após inserido o inóculo com o mosto. O final da fermentação ocorreu quando o Brix foi menor ou igual a 1.

A obtenção do vinho se deu por centrifugação. Neste material foi avaliado o teor de Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT), Acidez Total, Glicerol (CTC, 2005) e Teor Alcoólico (ebuliômetro).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo Teste F e a comparação entre médias realizadas pelo teste de Tukey (5%), utilizando-se o programa ASSISTAT versão 7.6 beta (SILVA & AZEVEDO, 2009).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

No Quadro 1 estão representados os valores médios obtidos para o Brix, Pol, Pureza, pH, Acidez Total e Açúcares Redutores Totais para o caldo extraído da cultivar RB867515. Observou-se que a mesma estava em seu período útil de industrialização, uma vez que apresentava valores de Pol maior que 14%, Pureza maior que 85%, ART maior que 15% e Acidez Total menor que 0,80 gH₂SO₄/L (RIPOLI e RIPOLI, 2009).

Quadro 1 - Valores médios obtidos para Brix, pH, Acidez Total e Açúcares Redutores Totais (ART) para o caldo extraído da cultivar RB867515. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.

	Brix (%)	Pol (%)	Pureza (%)	pH	Acidez Total (g H₂SO₄/L)	ART (%)
Caldo Extraído	22,5	20,38	90,57	5,15	0,53	19,46

Na Tabela 1 estão representados os resultados obtidos para pH Dosado, Volume de Ca(OH₂), Velocidade de Sedimentação e Volume do Lodo obtidos no processo de tratamento de caldo por defecação simples.

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos utilizando extratos e o tratamento convencional, para os parâmetros de velocidade de sedimentação e volume de lodo formado. Entretanto, tais valores verificados para o extrato de folhas foram superiores aos avaliados por Bidóia (2009), o qual determinou velocidade de sedimentação de 1,11 cm/min e 453 mL de lodo formado.

Tabela 1 - Valores obtidos para pH dosado, Volume de Ca(OH)_2 gasto para neutralizar o caldo, Velocidade de Sedimentação dos coágulos e Volume de Lodo formado para os três diferentes auxiliares de decantação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.

	pH Dosado	Volume (Ca(OH)_2)	Velocidade Sedimentação (mL/min)	Volume do Lodo (mL)
Testemunha	6,01 AB	19,12 A	3,21 A	140,00 A
Polímero	6,05 A	19,50 A	4,38 A	127,50 A
Extrato de Semente	5,96 B	17,62 A	2,87 A	117,50 A
Extrato de Folha	5,95 B	17,62 A	3,73 A	127,50 A
Teste F	6,21 **	3,00 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,39 ^{ns}
DMS	0,07	2,39	2,79	61,29
CV	0,60	6,17	37,42	22,78

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ^{ns}não significativo ($p \geq .05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Tukey.

Avaliando o teor de Brix e pH do caldo clarificado (Tabela 2), observou-se que o polieletrólito sintético, utilizado como auxiliar de sedimentação de impurezas do caldo, resultou em maior teor de sólidos solúveis e pH em relação aos demais tratamentos. Provavelmente, tal produto eliminou menor quantidade de ácidos em relação aos tratamentos em que se empregou extrato de folhas e sementes de moringa, uma vez que tais moléculas são constituídas do Brix.

O baixo pH do caldo clarificado promovido pela utilização de extratos de folhas e de sementes de moringa, pode impactar positivamente na quantidade de insumos utilizados pela unidade industrial, uma vez que para o preparo do mosto, adiciona-se ácido sulfúrico até pH 4,0-4,5, afim de tornar o meio favorável ao desenvolvimento metabólico da levedura (AMORIM, 2005).

Na tabela 3 estão representados os valores obtidos para os Açúcares Redutores Totais e a Acidez Total do mosto. Verificou-se que os tratamentos em que se utilizaram auxiliares de sedimentação, promoveu maior concentração de açúcares no mosto, enquanto não foi observado diferença significativa para os valores de acidez.

O mosto é o substrato o qual as leveduras utilizam como fonte nutricional para o desenvolvimento de seu metabolismo. Neste processo, ela consome os açúcares do meio e

libera etanol. Desta maneira, o mosto deve apresentar condições ideais para a fisiologia deste micro-organismo. Admita-se que para o Brasil, as quantidades utilizadas de açúcares varia de 16-22%, pH de 4,0-4,5, temperatura entre 28-32°C e concentrações microbiológicas abaixo de 10^5 UFC/ml (LIMA et al., 2001).

Tabela 2 - Valores médios obtidos para Brix e pH do caldo clarificado empregando-se três diferentes auxiliares de decantação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.

	Brix (%)	pH
Testemunha	21,75 B	5,21 B
Polímero	21,95 A	5,25 A
Extrato de Semente	21,65 B	5,18 C
Extrato de Folha	21,75 B	5,18 C
Teste F	19,00**	81,57**
DMS	0,12	0,016
CV	0,27	0,15

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ^{ns}não significativo ($p \geq .05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Tukey.

Tabela 3 - Valores médios obtidos para Açúcares Redutores Totais e Acidez Total do mosto produzido utilizando-se três diferentes auxiliares de decantação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.

	ART (%)	Acidez (gH₂SO₄/L)
Testemunha	15,05 B	1,45 A
Polímero	15,58 A	1,40 A
Extrato de Semente	15,60 A	1,36 A
Extrato de Folha	15,60 A	1,27 A
Teste F	7,49 **	0,39 ^{ns}
DMS	0,46	0,51
CV	1,29	17,76

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ^{ns}não significativo ($p \geq .05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Tukey.

Estão representados na Tabela 4 os valores médios obtidos para Viabilidade Celular, Brotamento e Viabilidade de Brotos no Pé-de-cuba (inoculo). Observou-se que a utilização de auxiliares de sedimentação (sintético ou natural) na clarificação do caldo, não interferiu na viabilidade de células e de brotos da levedura, em comparação com o tratamento testemunha. Entretanto, verificou-se que o emprego de extrato de folhas beneficiou o índice de brotamentos deste micro-organismo, fato também observado por Bidóia (2009), o qual encontrou valores 54% maiores em relação a mostos preparados a partir de clarificação com utilização de polieletrólito sintético.

O extrato de folhas pode ter proporcionado nutrientes para as leveduras como ferro, potássio, zinco e vitaminas A e C (MOURA et al., 2009). Tais elementos são essências para o desenvolvimento metabólico deste micro-organismo (AMORIM, 2005).

Tabela 4 - Valores médios obtidos para Viabilidade Celular, Brotamento e Viabilidade de Brotos no pé-de-cuba da fermentação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.

	Viabilidade Celular (%)	Brotamento (%)	Viabilidade Broto (%)
Testemunha	97,33 A	1,77 B	95,00 A
Polímero	95,68 A	1,69 B	100,00 A
Extrato de Semente	96,95 A	1,99 B	91,42 A
Extrato de Folha	95,16 A	5,57 A	92,86 A
Teste F	0,89 ^{ns}	8,72 ^{**}	0,83 ^{ns}
DMS	4,54	2,67	17,29
CV	2,25	46,14	8,69

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ^{ns}não significativo ($p \geq .05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Tukey.

Assim como observado para o pé-de-cuba, a utilização de mostos preparados a partir de clarificação do caldo de cana empregando-se auxiliares de sedimentação, não interferiu na viabilidade de células e de brotos no início da fermentação. Resultados semelhantes foram verificados por Costa et al. (2012), os quais também não observaram diferenças estatísticas no início da fermentação de mostos preparados nestas mesmas condições.

Outro ponto observado foi a ação favorável do extrato de folhas de moringa a multiplicação celular por brotamento, pois assim como no pé-de-cuba, houve maior quantidade de brotos neste tratamento; entretanto, nesta amostragem, a porcentagem de brotamento foi estatisticamente igual a testemunha e ao polieletrólito convencional, enquanto o extrato de sementes manteve a taxa de multiplicação menor, fato este pode estar associado a algum composto tóxico a levedura presente na semente da moringa, o qual foi extraído no preparo do produto.

Tabela 5 - Valores médios obtidos para Viabilidade Celular, Brotamento e Viabilidade de Brotos no início da fermentação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.

	Viabilidade Celular (%)	Brotamento (%)	Viabilidade Brotos (%)
Testemunha	94,67 A	3,61 A	99,50 A
Polímero	93,90 A	2,11 AB	99,50 A
Extrato de Semente	94,87 A	1,50 B	87,50 A
Extrato de Folha	97,33 A	3,31 A	99,50 A
Teste F	1,02 ^{ns}	5,39*	0,92 ^{ns}
DMS	6,17	1,79	26,27
CV	3,09	32,49	12,96

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ^{ns}não significativo ($p \geq .05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Tukey.

Na tabela 6 estão apresentados os resultados de Viabilidade Celular, Brotamento e Viabilidade de Brotos do final da fermentação. Assim como no pé-de-cuba e início do processo fermentativo, os auxiliares de decantação não afetaram a viabilidade celular e de brotos da levedura. Entretanto houve incremento no índice de brotamento para todos os tratamentos, fato que pode ser explicado, pois no final da fermentação há queda da concentração de açúcares do meio para abaixo de 6%, momento o qual a levedura passa de seu processo fermentativo para o processo respiratório, o qual caracteriza-se por proporcionar elevada produção de biomassa (LIMA et al., 2001).

Na tabela 7 estão apresentados os resultados de Acidez Total, Açúcares Redutores Residuais Totais, Glicerol e Teor Alcoólico para o vinho produzido. Não foi observado diferença significativa entre os parâmetros avaliados para os auxiliares de decantação em

relação a testemunha. Valores semelhantes foram observados por Bidóia (2009), o qual não observou diferenças significativas entre os mesmos parâmetros.

Tabela 6 - Valores médios obtidos para Viabilidade Celular, Brotamento e Viabilidade de Brotos ao final da fermentação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.

	Viabilidade Celular (%)	Brotamento (%)	Viabilidade Brotos (%)
Testemunha	95,91 A	16,11 A	98,21 A
Polímero	94,23 A	11,76 A	100,00 A
Extrato de Semente	95,62 A	18,69 A	100,00 A
Extrato de Folha	95,89 A	14,70 A	98,33 A
Teste F	0,26 ^{ns}	1,76 ^{ns}	0,67 ^{ns}
DMS	6,52	9,14	5,13
CV	3,25	28,43	2,46

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ^{ns}não significativo ($p \geq .05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Tukey.

Tabela 7 - Valores médios obtidos para Viabilidade Celular, Brotamento e Viabilidade de Brotos ao final da fermentação. Jaboticabal-SP. Safra 2011/2012.

	Acidez (gH₂SO₄/L)	ARRT (%)	Glicerol (%)	Teor Alcoólico (%)
Testemunha	3,66 A	0,86 A	1,50 A	8,25 A
Polímero	3,21 A	1,65 A	1,69 A	8,05 A
Extrato de Semente	3,41 A	1,57 A	1,64 A	7,65 A
Extrato de Folha	3,32 A	0,72 A	1,49 A	8,65 A
Teste F	1,11 ^{ns}	0,88 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,65 ^{ns}
DMS	0,76	2,14	0,54	2,15
CV	10,73	84,91	16,32	12,59

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ^{ns}não significativo ($p \geq .05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Tukey.

Tais valores encontrados são positivos, pois a utilização do extrato de folhas de moringa como auxiliar de sedimentação, proporcionou clarificação do caldo e vinho produzido de qualidade semelhante ao tratamento convencional. Entretanto, resultou em

maior quantidade de brotos (biomassa) ao longo do processo fermentativo. Admitindo-se o modelo de fermentação utilizado pelas unidades sucroalcooleiras, as quais recuperam as leveduras após o processo fermentativo e as inoculam em novo mosto, a maior quantidade de biomassa produzida em cada batelada, pode aumentar a eficiência da fábrica.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que a clarificação do caldo de cana utilizando auxiliar de sedimentação preparado a partir de folhas de moringa, resultou em processo fermentativo de melhor qualidade em relação ao tratamento convencional.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, F.M. **Processo de fabricação do açúcar**. Recife: Editora UFPE, 2011.
- AMORIM, H. V. **Métodos analíticos para o controle da produção de álcool e de açúcar**. 2ª. Ed. Piracicaba:FERMENTEC, 1996. 194p.
- AMORIM, H. V. **Fermentação alcoólica, ciência & tecnologia**. Piracicaba: Fermentec, 2005. 448 p.
- ANGELIS, D. F. **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, 1992 p. 49-66.
- BHATIA, S.; OTHMAN, Z.; AHMAD, A.L. **Pretreatment of palm oil mill effluent (POME) using *Moringa oleifera* seeds as natural coagulant**. Journal of Hazardous Materials, v.145. 2007, p.120–126.
- BIDÓIA, V.S. 2009. **Emprego de extrato de Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) na clarificação e fermentação do caldo de cana**. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal-SP.
- Centro de Tecnologia Canavieira. 2005. **Manual de controle químico da fabricação de açúcar**. Piracicaba: Editora CTC.
- Companhia Nacional de Abastecimento. 2012. **Primeiro levantamento de safra de cana-de-açúcar 2012/2013**. Arquivos CONAB. http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_04_10_09_19_04_boletim_de_cana.pdf. Acessado em 08 de agosto de 2012.
- COSTA, G.H.G.; MASSON, I.S.; SILVA, A.F.; TEIXEIRA, V., MEIRELES, M.B., MUTTON, M.J.R. Diferentes agentes floculantes na clarificação do caldo de cana sobre a fisiologia de duas leveduras na fermentação alcoólica. In: XXI CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA. **Anais...** Santos-SP: 2012.
- DATAGRO.2011. **Índio mantém mercado de açúcar sob tensão no curto prazo**. Disponível em: <http://www.datagro.com.br/acessar/?redirect=%2Frelatorio%2F2044%2FIndia-mantem-mercado-de-acucar-sob-tensao-no-curto-prazo>. Acesso em: 10/11/2012.
- DELGADO, A. A.; CESAR, M. A. A. **Elementos de tecnologia e engenharia do açúcar de cana**. Sertãozinho: Zanini, v. 2, 1977., 752 p.
- SCHWARZ, D. **Water Clarification using *Moringa oleifera***. Technical Information. 2000. Disponível em: <http://www.gtz.de/gate/gateid.afp>. Acesso em: 20/10/2012.

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

JAHN, S. A. A.; MUSNAD, H. A.BURGSTALLER, H. **The tree that purifies water.** Unasylva, 1986.

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

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L., COX, M. M. **Princípios de Bioquímica.** 2º ed. São Paulo: Sarvier, 2000.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIN, H. V. **Produção de etanol.** In: LIMA, U.A. Biotecnologia. São Paulo: E. Blucher, 2001. v. 3, cap. 1, p. 1-43.

MOURA, A.S.; SOUZA, A.L.G.; OLIVEIRA JUNIOR, A.M.; LIRA, M.L.; SILVA, G.F. Caracterização físico-química da folha, flor e vagem da moringa (*Moringa oleifera* Lamarck). In: ENCONTRO NACIONAL DA MORINGA. **Anais eletrônicos...** Aracaju-SE, 2009. Disponível em: <<http://linux.alfamaweb.com.br/encontromoringa.com.br/site/trabalhos/04-04-ENAM2009.pdf>>. Acesso em: 08 de novembro de 2012.

MUTTON, M. J. R. **Avaliação da fermentação atánolica do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) tratadas com maturadores químicos.** 1998. 178 p., Tese (Livre Docência). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP.

MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. **Maturadores químicos em cana-de-açúcar: III-Efeitos na fermentação etánolica e microbiota do mosto.** 8º Congresso Nacional da STAB. Recife, PP.452-457. 2002.

NDABIGENGESERE, A.; NARASIAH, K. S. Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using *Moringa oleifera*. **Water Resouces.** v. 29, n. 2, 1995, p. 703-710.

NDABIGENGESERE, A.; NARASIAH, K. S.. Quality of water treated by coagulation using *Moringa oleifera* seeds. **Water Resources.** v. 32, n. 3, oct/aug. 1998, p. 781-791.

PAYNE, J. H. Operações Unitárias na Produção de Cana. São Paulo, Nobel/STAB. 1989, p-245.

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

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C.A.V. Principal Components Analysis in the Software Assistat -Statistical Attendance. In: World Congress On Computers In Agriculture, 7. Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009

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

STUPIELLO, J. P. **Produção de Aguardente: Qualidade da Matéria-Prima**. In: Mutton, M.J.R. & Mutton, MA (Ed.) Aguardente de cana – produção e qualidade. Jaboticabal: FUNEP, 171p. 1992.

THANGAMUTHU, P., KHANDAGAVE, R. B. A vegetable clarifying agent for cane juice clarification. **Anais**. XXVII ISSCT. Vera Cruz – México, 2010.

UNICA. **Cenário e desafios para a expansão do setor sucroenergético**. Disponível em: <<http://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=unica%20etanol%20bioplastic%202012.pdf&source=web&cd=3&ved=0CC0QFjAC&url=http%3A%2F%2Fwww.unica.com.br%2Fdownload.asp%3FmmdCode%3D3873C845-2472-4CE9-BEEB-997AF02F1D47&ei=9higUID0CYrq8wT6n4G4Cg&usg=AFQjCNFvOIhREKuUSYXmOyh68SAp16k0Xw&cad=rja>>. Acesso em: 10 novembro de 2012.

VILLELA, L.G.V. **Fermentação etanólica para produção de cachaça: reflexos da qualidade da matéria-prima e do inóculo**. (Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias). Unesp, Jaboticabal – SP, 2003, p. 56.

WALKER, G. M. **Yeast Physiology and Biotechnology**. Wiley. 1ª edição. 1998.

YOKOYA, F. **Fabricação da aguardente da cana**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello", (Série Fermentações Industriais, 2). 1995, p.87.

YOKOYA, F. Problemas com contaminantes na fermentação alcoólica. **STAB-Açúcar, Álcool e Subprodutos**. Piracicaba, v. 9, n. 5, p. 38- 39, 1991.