

Curso de Tecnologia em Biocombustíveis

UTILIZAÇÃO DA ENZIMA α -AMILASE NO TRATAMENTO DO CALDO DE SORGO SACARINO

CRISTHYANE MILLENA DE FREITA

**Orientadora: PROF. DRA. MÁRCIA JUSTINO
ROSSINI MUTTON
Coorientadora: ALINE FERREIRA SILVA**

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

**Jaboticabal – SP
2º Semestre/2014**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Freita, Cristhyane Millena de
F866u Utilização da Enzima α -Amilase no Tratamento do caldo de Sorgo Sacarino/
Cristhyane Millena de Freita.— Jaboticabal : Fatec Nilo De Stéfani, 2014.
40f.

Orientador: Márcia Justino Rossini Mutton
Coorientador: Aline Ferreira Silva

Trabalho (graduação) – Apresentado ao Curso de Tecnologia em
Biocombustíveis, Faculdade de Tecnologia Nilo De Stéfani de Jaboticabal,
2014.

1. Clarificação do caldo. 2. Características químico-tecnológicas.
3. Preparo do mosto. I. Mutton, M. J. R. II. Título.

CDD 633.174

Curso de Tecnologia em Biocombustíveis

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: UTILIZAÇÃO DA ENZIMA α -AMILASE NO TRATAMENTO DO CALDO DE SORGO SACARINO.

AUTOR: CRISTHYANE MILLENA DE FREITA

ORIENTADORA: PROFA. DRA. MÁRCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON

COORIENTADORA: ALINE FERREIRA SILVA

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

LEONARDO LUCAS MADALENO

JULIANA PELEGRINI ROVIERO

Data da apresentação: 18 de Novembro de 2014.

Aos meus pais Célia R.S P. Freita e Mauro Aparecido de Freita,
pelo amor incondicional, pela amizade, pelos ensinamentos,
por todo carinho, compreensão, apoio, incentivo, por sempre
estar ao meu lado nas dificuldades e por vocês devo tudo que sou
Amo Vocês!!

À minha irmã Lidiane Aline de Freita,
pelo companheirismo, união, carinho, amor,
e dedicação nos momentos que tanto precisei,
você faz valer o sentido da palavra irmã.

Ao Meu Amor Maicon Augusto tavares de Souza,
por fazer meus dias mais felizes
e suportar todas as dificuldades ao meu lado.

Aos meus Avós
Luiz de Souza Pinto e Maria Clara (*in memoriam*)
José de Freitas e Rosaria, pelo amor e ensinamentos que serão eternos.

DEDICO

AGRADECIMENTO

Primeiramente agradeço a Deus, pela vida que me concedeu, pela oportunidade do estudo, da aprendizagem e por colocar em meu caminho pessoas amigas e preciosas.

À Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton, pela orientação, pelo ensino, a paciência, a oportunidade, amizade, os conselhos que sem tê-los não chegaria até aqui, o brilhantismo acadêmico que certamente colaborou para meu crescimento por toda minha vida a seguir.

Ao Prof. Dr. Miguel Angelo Mutton, pela consideração, generosidade e imensurável apoio.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV/UNESP), por possibilitar o desenvolvimento desta pesquisa.

À Faculdade de tecnologia de Jaboticabal (FATEC) pela oportunidade de estudos e ensinamentos.

À todos os Professores da Fatec que não mediram esforços para o enriquecimento de minha formação como profissional.

À FAPESP, pela concessão da bolsa de iniciação científica.

Aos meus companheiros do Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Alcool: Lidiane, Gustavo, Juliana, Aline, Nayara Abrão, Vitor, Osania, Franciele, Rita, Silvia, Jorge, Marcelo, Marcel, Letícia, Natiely, Sérgio Filho, pela convivência tão agradável mesmo nos dias mais cansativos, tornando-os mais descontraídos.

Ao querido Sérgio Nobukuni, pela amizade e a disposição e auxílio ao longo do trabalho.

À minha querida família, pelo apoio, incentivo, torcida em cada desafio e conquista da minha vida, a todos meu eterno agradecimento.

Aos meus amigos da Fatec Jaboticabal : Luana Zanchetta, Daniela Sambiasi, Alifer Souza, por toda convivência, amizade Verdadeira, carinho, afinidade, muitas risadas, vocês sempre serão inesquecíveis.

RESUMO

UTILIZAÇÃO DA ENZIMA α -AMILASE NO TRATAMENTO DO CALDO DE SORGO SACARINO

O sorgo sacarino pode ser a biomassa complementar da cana-de-açúcar, graças a compatibilidade de processamento. De modo semelhante requer o tratamento do caldo, que deve ser feito com adição de enzimas. Entre estas destaca-se as α -amilases que são enzimas com grande aplicação nas indústrias têxtil, farmacêuticas, alimentícias e sucroalcooleira, representando aproximadamente 25% do mercado mundial de enzimas. Considerando-se a possibilidade da utilização desta matéria-prima no sistema de produção do etanol, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os reflexos da utilização de enzima α -amilase no tratamento de caldo de sorgo sacarino, colhido em 3 épocas, com e sem folhas. O experimento foi realizado no Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Alcool, da FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP. O delineamento experimental foi o em blocos ao acaso em parcelas subdivididas. O genótipo de sorgo sacarino utilizada foi a CVSW 80007, colhida da Fazenda Experimental da mesma faculdade. Em três diferentes épocas de amostragem (100, 110 e 135 dias após a semeadura). Os colmos foram processados com e sem folhas. Os colmos foram submetidos a moagem, e o caldo extraído foi avaliado quanto ao Brix, pH, Acidez Total, Amido e Compostos Fenólicos Totais. Após caracterizado, o caldo passou por processo de clarificação por caleagem simples, sendo empregado no decantador enzima α -amilase. A seguir, o sobrenadante (caldo clarificado) foi recuperado por filtração, e caracterizado quanto ao teor de Brix, pH, Acidez Total, Amido e Compostos Fenólicos Totais. Os resultados foram submetidos a análise de variância pelo teste F, e as médias comparadas segundo o teste de Tukey (5%). Observou-se que a adição da enzima α -amilase promove grande redução e quebra de amido e não altera as características químico tecnológicas do caldo de sorgo sacarino para produção de etanol.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*. Clarificação do caldo. Características químico-tecnológicas. Épocas de colheita.

ABSTRACT

USE OF α -AMYLASE ENZYME IN SACCHARINE SORGHUM JUICE TREATMENT

The saccharine sorghum can be a complementary biomass of sugar cane, due to the processing compatibility. Similarly requires the juice treatment, which must be done with the addition of enzymes. Among those enzymes, the α -amylases stands out, which are enzymes with wide application in textile, pharmaceutical, food and sugarcane industries, representing approximately 25 % of the global enzymes market. Considering the possibility of using this raw material in ethanol production system, the objective of this study was to evaluate the reflexes of the use of the α -amylase in the treatment of saccharine sorghum juice, harvested in 3 times, with and without leaves. The experiment was conducted in the Laboratory of Technology of Sugar and Alcohol, FCAV / UNESP, Jaboticabal -SP. The experimental design was a randomized block in a split plot. The saccharine sorghum genotype used was CVSW 80007, collected from the experimental farm of the same university. In three different sampling times (100, 110 and 135 days after sowing). The culms were processed with and without leaves. The culms were subjected to grinding, and the extracted juice was evaluated for Brix, pH, Total Acidity, Starch and Total Phenolic Compounds. After characterized, the juice passed by the clarification process by adding a solution basically made of lime. After that, the clarified juice passed through the α -amylase enzyme decanter. Then, the supernatant (clarified juice) was collected by filtration and evaluated for Brix concentration, pH, Total Acidity, Starch and Total Phenolic Compounds. The results were submitted to analysis of variance by F test and the averages compared by the Tukey test (5%). It was observed that the addition of α -amylase enzyme promotes great reduction and break of starch and does not alter the chemical technological characteristics of the saccharine sorghum juice to produce ethanol.

Keywords: Bicolor Sorghum. Juice clarification. Chemical technological characteristics. Harvest time. With and without leaves.

LISTA DE ABREVIATURAS

AR	Açúcares Redutores
ART	Açúcar Redutor Total
CFT	Compostos Fenólicos Totais
D.A.S.	dias após semeadura
pH	Potencial Hidrogeniônico

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação gráfica do pH do caldo para os sistemas de colheitas com e sem folhas, em função das épocas de amostragem. Jaboticabal-SP. Safra 2012/2013.	25
Figura 2 - Representação gráfica do teor de amido do caldo para os sistemas de colheitas com e sem folhas, em função das épocas de amostragem. Jaboticabal-SP. Safra 2012/2013.	26
Figura 3 - Representação gráfica do teor de amido no caldo clarificado para os sistemas de colheitas com e sem folhas, em função das épocas de amostragem. Jaboticabal-SP. Safra 2012/2013.	29
Figura 4 - Representação gráfica do teor de amido no caldo clarificado para os tratamentos com e sem enzimas α -amilase, em função das épocas de amostragem. Jaboticabal-SP. Safra 2012/2013.	30
Figura 5 - Representação gráfica dos compostos fenólicos totais no caldo clarificado para os tratamentos com e sem folhas, em função das épocas de amostragem. Jaboticabal-SP. Safra 2012/2013.	31
Figura 6 - Representação gráfica dos compostos fenólicos totais no caldo clarificado para os tratamentos com e sem enzima α -amilase, em função das épocas de amostragem. Jaboticabal-SP. Safra 2012/2013.	32
Figura 7 - Representação gráfica da interação entre as colheitas com e sem folha, e com e sem enzima α -amilase nos compostos fenólicos totais no caldo clarificado. Jaboticabal-SP. Safra 2012/2013.	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características das enzimas que pertencem a família das α -amilase	20
Tabela 2– Resultados de Brix, pH, Acidez Total, Amido e Compostos Fenólicos Totais do caldo extraído, genótipo CVSW 800007. Jaboticabal, SP. Safra 2012/2013.....	24
Tabela 3 – Resultados de Brix, pH, Acidez Total, Amido e Compostos Fenólicos Totais do caldo clarificado, para as épocas de colheita 105,110 e 135 d.a.s, genótipo CVSW 800007. Jaboticabal, SP. Safra 2012/2013.	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
	3.1 Sorgo Sacarino.....	16
	3.2 Tratamento do Caldo	17
	3.3 Enzimas	18
	3.4 Enzima α -amilase	19
	3.5 Amido	21
4	MATERIAIS E MÉTODOS	22
	4.1 Condições Experimentais	22
	4.2 Colheita de Sorgo Sacarino e Obtenção do Caldo.....	22
	4.3 Tratamento do Caldo	22
	4.4 Delineamento Experimental e Análise Estatística.....	23
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
	5.1 Caracterização do Caldo Extraído	23
	5.2 Caracterização do Caldo Clarificado	27
6	CONCLUSÃO.....	33
	REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

É crescente a busca por fontes renováveis de energia com intuito a diminuição dos gases de efeito estufa e a sustentabilidade do planeta. Neste sentido a utilização de biomassas, menos poluentes para produção de combustíveis, tem se destacado entre as alternativas promissoras.

Dentre estas biomassas o sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.)Moench), caracteriza-se por apresentar porte elevado e colmos ricos em açúcares, assemelhando-se com a cultura da cana-de-açúcar. Tais características conferem a esta cultura potencial para produção de etanol, possibilitando complementar e suprir a demanda do mercado internacional (RATNAVATHI, 2010).

Cabe destacar ainda o fato de apresentar ciclo curto (90 - 120 dias), baixo custo de implantação, propagação por sementes (que favorece áreas de expansão), colheita mecanizada. Resultados disponíveis na literatura sinalizam ainda para a viabilidade da sua utilização na entressafra canavieira, permitindo que as usinas sucroenergéticas antecipem e ampliem o período de moagem (FREITA, 2013).

Contudo, de modo semelhante ao processamento industrial da cana-de-açúcar para produção de etanol, para o caldo de sorgo também é necessário realizar uma eficiente clarificação para eliminar parte das impurezas solúveis e insolúveis presentes no caldo. (COSTA *et al.*, 2012).

Dentre tais impurezas, encontra-se o amido que é uma das biomoléculas que mais causam danos ao processamento destinado à produção de etanol, por desencadear uma série de problemas, resultando em ineficiências e perdas da produção (GODOY, 2004).

Esta problemática do amido vem sendo minimizada com o emprego de enzimas. Estas representam um grupo específico de “proteínas” que são sintetizadas por células para atuarem como catalisadores de inúmeras reações químicas responsáveis pela manutenção do metabolismo celular (MACEDO, 2005). As enzimas que degradam o amido são abundantemente encontradas na natureza em vegetais, animais e micro-organismos.

A sacarificação das matérias amiláceas é necessária para que o amido seja transformado em açúcares fermentescíveis, já que os agentes da fermentação alcoólica não possuem enzimas amilolíticas (LIMA, *et al* 2001).

Para que este processo ocorra atualmente é utilizado o emprego da enzima α -amilase que também remove outros polissacarídeos do caldo sem alterar o produto final, obtido o etanol.

As amilases constituem um dos mais importantes grupos de enzimas industriais. São responsáveis pela hidrólise da molécula de amido em polímeros de unidades de glicose, sendo amplamente distribuídas na natureza. São aplicadas na produção de maltodextrina, amidos modificados, e xaropes de glicose e frutose. São também recomendadas para diversos processos industriais, tais como nas indústrias têxtil, na fabricação de detergentes para lavadeira e louças, indústria farmacêutica e alimentícias e na fabricação de etanol e açúcar, obtidos a partir da cana-de-açúcar. (SOUZA & MAGALHÃES, 2010).

Neste contexto faz-se necessário citar que não há na literatura o emprego desta enzima na cultura de sorgo sacarino, onde objetivou-se avaliar o potencial da enzima α -amilase no processo produtivo e as características químico-tecnológicas do genótipo de sorgo CVSW80007, submetidos a colheita com e sem folha para produção de etanol.

2 OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o emprego da enzima α -amilase no tratamento do caldo destinado ao preparo de mosto para produção de etanol, aferindo o processamento dos colmos de sorgo sacarino com e sem folhas, colhidas em 3 épocas, analisando as características do caldo extraído.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Sorgo Sacarino

Sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) é nativo da África e algumas variedades atuais são originárias do continente africano. Os grãos são amplamente utilizados na alimentação humana em países da África e Ásia, sendo no Ocidente utilizado na alimentação animal e na elaboração de xarope, álcool e açúcar (SOUZA, 2011).

O sorgo, nos diferentes tipos (granífero, forrageiro e sacarino), apresenta-se como uma espécie bem adaptada a ambientes extremos de estresses abióticos, especialmente, de temperatura do ar e umidade do solo. Este comportamento de rusticidade às condições ambientais confere ao sorgo condições favoráveis à sua adaptação em relação a outras espécies comerciais. O caule é dividido em nós, entrenós e folhas ao longo de toda a planta, e diferentemente da cana-de-açúcar os açúcares redutores ficam distribuídos por toda planta inclusive em suas folhas. Sua inflorescência é uma panícula e seu fruto é uma cariopse ou grão seco, possuindo espécies anuais e espécies vivazes. A planta pode atingir de 1 a 4 metros de altura, tendo vários caules 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).

O sorgo possui grande adaptabilidade (REDDY et al., 2005), sendo tolerante a ambientes secos (TESSO et al., 2005), com pouca água disponível, resistente a salinidade (ALMODARES et al., 2007; ALMODARES et al., 2008b), podendo produzir entre 40-70 t ha⁻¹ de biomassa com Brix variando de 16 até 23% (ALMODARES & HADI, 2009). Deve-se ressaltar que pode haver redução de sólidos solúveis, devido a esta conversão, principalmente de açúcar, em amido nos grãos como material de reserva (TSUCHIHASHI & GOTO, 2004).

A formação de caldo e a produção de açúcares totais e sacarose, bem como as características dos resíduos, carecem de cuidados quanto à aplicação de processos técnicos e industriais que permitam a maximização de resultados econômicos. No foco de desenvolvimento de tecnologia agrônômica são tratados, basicamente, três aspectos: a) o melhoramento, genética e desenvolvimento de cultivares (variedades e híbridos); b) boas práticas agrícolas e temas especiais dos sistemas de produção; e, c) descritores de planta (com viés biológico) para fins energéticos (EMBRAPA 2010).

Desta forma o sorgo sacarino surge como cultura energética, que apresenta potencialidades atraentes como matéria-prima, tendo em sua constituição três grupos de materiais susceptíveis de serem fermentados em bioetanol – os açúcares (no caule), o amido (nos grãos), e os materiais lenho-celulósicos (bagaço resultante após extração do açúcar) (QUILHÓ, 2011).

Assim como a cana-de-açúcar o sorgo é uma planta C4, com elevada atividade fotossintética. Pode ser cultivado em uma ampla faixa de condições de solo desde regiões mais secas, zonas áridas e semi-áridas até excesso de umidade do solo com maior tolerância que a maioria dos outros cereais (SOUZA et.al., 2005; DINIZ, 2010).

Estudos relatam que os principais açúcares livres presentes no caldo do sorgo sacarino são: glicose, frutose e sacarose. Normalmente esta cultura apresenta maior quantidade de açúcares redutores quando comparada com o caldo de cana-de-açúcar, entretanto estudos mostram que não há diferença significativa entre a quantidade de açúcares solúveis totais (RODRIGUES *et al*, 2011).

O sorgo sacarino apresenta ciclo fenológico inferior ao da cana-de-açúcar, alcançando sua maturação fisiológica em período aproximado de 110 dias, no qual são obtidos valores de sólidos solúveis superiores a 16°Brix e elevada produção de biomassa vegetal (FONTES, 2011).

Com base nestas informações podemos dizer que o sorgo pode ser um complemento para cana-de-açúcar, uma vez que seu ciclo é curto, podendo ser adaptado a entressafra da cana-de-açúcar.

3.2 Tratamento do Caldo

O caldo extraído apresenta em sua constituição água, sólidos solúveis (açúcares, ácidos orgânicos, proteínas, compostos fenólicos, gomas, compostos inorgânicos, lipídios, dentre outros) e sólidos insolúveis (bagacilho, terra, metais, etc). Cabe ressaltar que os teores de glicose e frutose, açúcares redutores, são importantes, os demais são considerados impurezas. Sob esta ótica, deve-se realizar o tratamento do caldo para remover estes compostos (EGGLESTON et al., 2002).

Este tratamento quanto mais completo for, maior será o aumento da eficiência fermentativa, esta relação é completamente relacionada com a eficácia de redução de

impurezas grosseiras que acompanham o caldo, tanto de natureza vegetal como mineral, a redução do número de microrganismos oriundos do campo, também multiplicados durante as operações preliminares do processamento. (CAMARGO *et al*, 1990)

A clarificação do caldo ocorre através da coagulação, floculação e precipitação dos colóides e substâncias corantes, eliminadas por posterior decantação e filtração, ou seja, forma-se um precipitado insolúvel que absorve e arrasta tais constituintes do caldo. A floculação pode ser obtida por mudanças de pH do meio utilizando reagentes químicos e pelo aquecimento.(STUPIELLO, 1981).

O método mais utilizado é a calagem, também conhecida por defecação simples, é um método indispensável para o tratamento do caldo, onde se adiciona o leite de cal, que não somente provoca esta floculação e favorece a decantação das impurezas, mas também protege os equipamentos contra a corrosão. Em relação ao pH a ser alcançado, quanto mais se aproxima de sete, maior é a remoção de nutrientes do caldo e o excesso de cal pode afetar o crescimento da levedura em cultura e o arraste de nutrientes. O pH do caldo decantado é ideal quando atinge a faixa entre 5,6 e 5,8, pois não provoca remoção significativa de nutrientes e diminui a ação corrosiva do caldo sobre os equipamentos, além de favorecer a redução do número de microrganismos contaminantes.(EMBRAPA, 2010)

Há formação de coágulos, onde estes precipitam, adsorvendo ácidos orgânicos e outros compostos, resultando em duas fases no decantador: uma líquida (caldo clarificado) e outra sólida (lodo) (HONIG, 1969).

A adição de auxiliares de clarificação, como fosfatos, polieletrólitos, incluindo as enzimas, constitui-se de recursos empregados nas usinas. (HONIG, 1969).

3.3 Enzimas

As enzimas são frequentemente utilizadas para melhoria de processos e possibilitar o uso de novas matérias-primas, melhorando suas características físico-químicas. Do ponto de vista industrial, para ser comercialmente utilizável, a enzima deve proporcionar a obtenção de produtos com característica como melhor qualidade em relação ao produto tradicional, possibilitar melhorias no processo. (NETO, 2001).

A complexa estrutura molecular enzimática é majoritariamente constituída por uma parte proteica, podendo estar integrada com outras moléculas como carboidratos e lipídios. (SANTANNA, 2001).

As enzimas são catalisadores das reações bioquímicas, isso significa que estando presentes estas podem acelerar o processo bioquímico. A eficiência das enzimas como catalisadores é medida pelo número de transformações moleculares, que é explicada pelo número de moléculas de substrato que uma enzima converte por unidade de tempo. As enzimas convertem uma substância chamada de substrato em outra chamada de produto e são extremamente específicas como as atividades que catalisam. Isto significa que em geral uma enzima catalisa só um tipo de reação química. (FUNCIONAIS & NUTRACÊUTICOS, 2014).

As estruturas enzimáticas são heteroplímeros formados por aminoácidos ligados covalentemente por ligações peptídicas, a atividade catalítica, a estabilidade e a especificidade de uma enzima, dependem da estrutura tridimensional, onde o pH, temperatura, força iônica do meio, podem afetar a estrutura da enzima (SANTANNA, 2001).

Enzimas como as amilases quebram grandes moléculas, como o amido em moléculas de menores dimensões.

No setor sucroalcooleiro a aplicação de enzimas tem crescido nos últimos anos uma vez que a não remoção de amido e dos outros polissacarídeos do caldo comprometem a qualidade do produto final. Até o momento estes componentes só podem ser removidos com adição de enzimas (FERREIRA, 2011).

3.4 Enzima α -amilase

A α -amilase é uma metaloenzima que age sobre a estrutura do amido desordenadamente, hidrolisando as ligações glicosídicas α -1,4. A hidrólise do amido pela α -amilase pode ser dividida em duas fases, uma rápida dextrinização seguida de uma sacarificação mais lenta. Durante a dextrinização, as moléculas de amilose são degradadas aleatoriamente, em pequenas dextrinas, enquanto a sacarificação resulta principalmente em maltose e glicose juntamente com alguns oligossacarídeos de baixo peso molecular (PARK, 2001).

Esta enzima pode ser de origem cereal, bacteriana, fungica sendo que apresenta algumas características em comum como, relativa estabilidade térmica (70° C em 15 minutos) labilidade ácida (todas são inativas a pH 3,6 por curto tempo) e aumento de estabilidade na presença de cálcio. A viscosidade de uma solução de amido diminui rapidamente com a hidrólise pela α -amilase (FUNCIONAIS & NUTRACÊUTICOS).

As amilases podem ser divididas em duas categorias : exoamilase e endoamilases. As do primeiro tipo atuam sobre resíduos externos de glicose da amilose e da amilopectina produzindo somente glicose (ex glicomilase e α -glicosidase). Já as do segundo tipo são capazes de quebrar as ligações glicosídica α 1,4 e α 1,6 presentes na parte interna (endo) das cadeias de amilose ou amilopectina (ex α -amilase). (GUPTA *et al.* 2003).

A classificação das α -amilases é baseada na homologia da sequência de aminoácidos. A família α -amilase ou família 13 de glicosil hidrolases é classificada de acordo com Herrissat (1996) apud Said & Pietro (2005). (Tabela 1)

Tabela 1 Características das enzimas que pertencem a família das α -amilase

TIPO	CARACTERÍSTICAS
A	Hidrolisam ligações α -glicosídicas produzindo mono ou oligossacarídeos α -anoméricos (hidrólise) formando ligações glicosídicas α -1,4 ou α -1,6 (transglicosilação), ou uma combinação de ambas atividades
B	Os resíduos estão contidos na estrutura em barril $(\beta/\alpha)_8$ ou barril TIM, primeiramente descrito para triose isomerase (TIM)
C	Todas tem quatro regiões altamente conservadas em sua sequência primária contendo sítio catalítico e os mais importantes sítios de ligação ao substrato
D	Todas possuem resíduos Asp, Glu e Asp no sítio catalítico correspondendo a Asp-206, Glu-230 e Asp-270 da taka-amilase A

Vários métodos estão disponíveis para determinação da atividade desta enzima, geralmente utiliza-se amido como substrato. A utilização da α -amilase no setor sucroalcooleiro possibilita melhor otimização do processo industrial, não apenas por aumentar a recuperação da sacarose na fábrica, como também por reduzir os efeitos negativos dos componentes de amido e dextrana. (STUPIELLO, 2010).

3.5 Amido

O amido é uma das biomoléculas que mais causam danos por desencadear uma série de problemas operacionais, acarretando perdas para a indústria, além de resultar em perdas no rendimento da fermentação alcoólica. (GODOY, 2004).

Este é composto por duas macromoléculas: uma linear denominada amilose, na qual as unidades de glicose estão unidas por ligações α -1,4 e outra altamente ramificada denominada amilopectina, onde as ligações glicosídicas são do tipo α -1,4 e nos pontos de ramificação do tipo α -1,6. (FENNEMA, 1996).

O peso molecular da amilose varia 10^5 a 10^6 com um número de resíduos de glicose por moléculas de 500 a 5000. (GALLIARD; BOWLER, 1987). Outras propriedades importantes do amido são a gelatinização e retrogradação, onde a primeira é uma mudança irreversível da estrutura do grânulo causada pelo aquecimento de suspensões de amido em excesso de água e a segunda é um processo de transição irreversível do estado altamente inchado ou solubilizado do amido para o estado insolúvel, contraído e microcristalino. (BELITZ, *et al.* 2004).

No processamento do caldo, a solubilização e gelatinização dos grânulos de amido são completadas na etapa de clarificação, onde os grânulo expandem progressivamente e rompem com a liberação da amilose e amilopectina, transformando-se numa solução viscosa amorfa, considerada problemática para indústria sucroalcooleira. (EGGLESTON, *et al.* 2006).

O sorgo sacarino apresenta maior teor de amido em relação a cana-de-açúcar. Este amido, pode resultar em algumas interferência no processo, porém tem potencial para elevação do teor de açúcares fermentescíveis, caso sejam empregada amilases no caldo. Se for considerada a utilização da panícula a elevação da glicose pela hidrólise do amido pode ser ainda maior. (EMBRAPA, 2012).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Condições Experimentais

O sorgo foi cultivado na área experimental do departamento de Produção Vegetal da FCAV- Jaboticabal, na safra 2012/2013. Utilizou-se o genótipo CVSW 80007, o plantio foi realizado com espaçamento combinado de 90x70 cm entre as linhas. Foram empregados excesso de sementes na semeadura e aos 15 dias após semeadura, realizou-se desbaste deixando-se 10 plantas/m, para se obter um estande final de 100.000 plantas/ha.

4.2 Colheita de Sorgo Sacarino e Obtenção do Caldo

Com objetivo de avaliar o tratamento do caldo da matéria-prima realizou-se a colheita das plantas em três épocas após o plantio realizado em dezembro, 105, 110 e 135 dias após a semeadura. Em cada época foram coletados 25 colmos integrais (colmos e folhas) e 25 colmos limpos (sem folhas). Estes foram encaminhados para o Laboratório de Tecnologia do Açúcar e Álcool e Microbiologia das Fermentações FCAV-UNESP, sendo pesados e submetidos à extração do caldo utilizando-se de moenda de laboratório. O caldo extraído foi submetido a análises de : Teor de sólidos solúveis (Brix) (SCHENEIDER, 1979); pH, determinação direta em pHmetro digital; Acidez Total (COPERSUCAR, 2001); Amido (CHAVAN *et al.*, 1991) e Compostos Fenólicos Totais (FOLIN e CIOCALTEU, 1927).

4.3 Tratamento do Caldo

O caldo extraído foi submetido a um processo de clarificação para remoção de impurezas. Este processo consistiu na adição de ácido fosfórico (300 mL/L), correção do pH para valores próximos a $6,0 \pm 0,1$ com leite de cal e aquecimento até ebulição. O caldo aquecido foi transferido para sistema de decantação constituído por provetas de 1L aquecidas por lâmpadas, onde recebeu a adição de polímero na concentração de 2mg/L, e enzima

α -amilase Termamyl 2x - Novozymes na concentração de 1mg/L, com atuação na temperatura de 90°C.

Após 1 hora de retenção, o sobrenadante (caldo clarificado) foi separado do precipitado (lodo), através de filtração em papel de filtro qualitativo. A seguir o caldo clarificado foi caracterizado quanto: Teor de sólidos solúveis (Brix) (SCHENEIDER, 1979); pH, determinação direta em pHmetro digital; Acidez Total (COPERSUCAR, 2001); Amido (CHAVAN *et al.*, 1991) e Compostos Fenólicos Totais (FOLIN e CIOCALTEU, 1927).

4.4 Delineamento Experimental e Análise Estatística

Para os caldos extraídos, o delineamento experimental adotado foi em blocos ao acaso num esquema em parcelas subdivididas, com 3 repetições (blocos). Os tratamentos principais corresponderam ao processamento do sorgo sacarino com e sem a presença de folhas e os tratamentos secundários às 3 épocas de colheita (105, 110 e 135 d.a.s.).

Considerando-se os caldos clarificados, o delineamento experimental foi em blocos ao acaso num esquema em parcelas subsubdivididas, com três repetições (3 blocos). Os tratamentos principais corresponderam ao processamento do sorgo sacarino com e sem a presença de folhas; os tratamentos secundários às 3 épocas de colheita (105, 110 e 135 d.a.s.); e o tratamento terciário a utilização ou não de enzima α -amilase no tratamento do caldo.

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

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do Caldo Extraído

Os resultados obtidos para as características químico-tecnológicas do caldo do sorgo sacarino estão apresentados na Tabela 02. Verificou-se que o genótipo CVSW 800007

apresentou acréscimo da concentração de sólidos solúveis (Brix) com o decorrer das épocas de amostragem, sendo que aos 135 d.a.s., houve acúmulo de 28% de sólidos solúveis a mais que aos 105 d.a.s. Pacheco (2012), ressalta que o sorgo sacarino, em seu estágio de maturação, apresenta valores de Brix em torno de 15-19°Brix. Neste sentido, observou-se que o sorgo estava apto a colheita entre os 110 e 135 d.a.s.

Tabela 2– Resultados de Brix, pH, Acidez Total, Amido e Compostos Fenólicos Totais do caldo extraído, genótipo CVSW 800007. Jaboticabal, SP. Safra 2012/2013.

Caldo Extraído	Brix	pH	Acidez Total (g/L H₂SO₄)	Amido (mg/L)	CFT (mg/L)
Épocas (E)	14,59*	8,61*	9,51*	99,12**	4,59ns
105	13,5B	5,0A	1,26B	1460C	265A
110	16,4AB	4,8B	1,44AB	2267B	898A
135	18,8A	4,9AB	1,68A	2704A	871A
DMS	3,49	0,16	0,34	316,79	834,31
CV	10,49	1,61	11,47	7,24	60,24
Colheita (C)	0,62ns	193,79**	0,20ns	78,24**	4,15ns
Com Folha	16,5A	4,8B	1,48A	1253B	874A
Sem Folha	16,1A	5,0A	1,44A	3034A	482A
DMS	1,34	0,02	0,21	492,41	470
CV	7,15	0,49	12,66	19,91	60,09
Inter. ExC	0,36ns	6,92*	0,50ns	7,73*	2,37ns

**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 diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey. D.M.S = desvio mínimo significativo. C.V = coeficiente de variação. Inter G x TS = Interação entre épocas x Colheitas

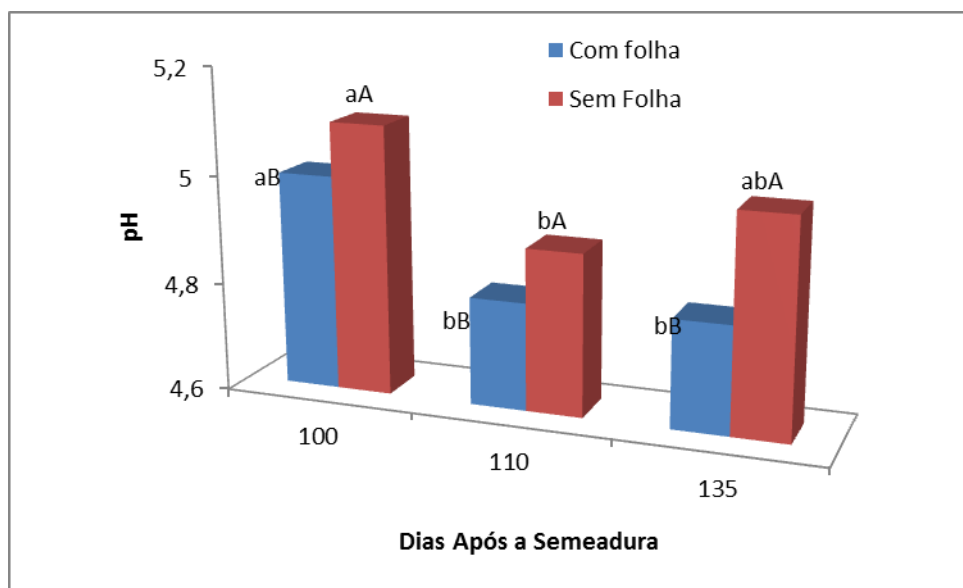
É interessante ressaltar que o Brix nos valores de 14,25 a 14,5 corresponderá a um ART de 12,5% o qual resulta em maior eficiência nas indústrias.(SCHAFFERT, 2012).

Avaliando-se os teores de sólidos solúveis obtidos para caldos extraídos de colmos integrais e limpos de sorgo sacarino observou-se que os diferentes manejos não refletiram sobre este parâmetro. Tais resultados são semelhantes aos determinados por Meireles (2013) que verificou que a colheita de colmos com a presença ou ausência de folhas não influenciou sobre os resultados de Brix.

Estes resultados estão relacionados com a fisiologia do sorgo sacarino, que diferentemente da cana-de-açúcar, tem a distribuição dos açúcares por toda planta, não armazenando apenas nos colmos.

Analisando-se o pH do caldo extraído (Figura 1), obteve-se valores entre 4,8 e 5,0 estes resultados são ligeiramente superiores aos obtido por Missima (2012), que avaliando o pH de caldos extraídos de diferentes genótipos de sorgo sacarino, obteve valores entre 4,7 e 4,8. Considerando-se o processamento com a presença ou ausência de folhas, verificou-se que o acréscimo de biomassa reduziu o pH do caldo. Masson *et al* (2012), ao processar o colmo integral de sorgo sacarino também obteve acréscimo em seu pH, chegando a valores similares aos do presente trabalho. Esse aumento no pH pode estar relacionado com alguns componenetes da folha do sorgo sacarino.

Figura 1 - Representação gráfica do pH do caldo para os sistemas de colheitas com folhas e sem folhas, em função das épocas de amostragem. Jaboticabal-SP. Safra 2012/2013.



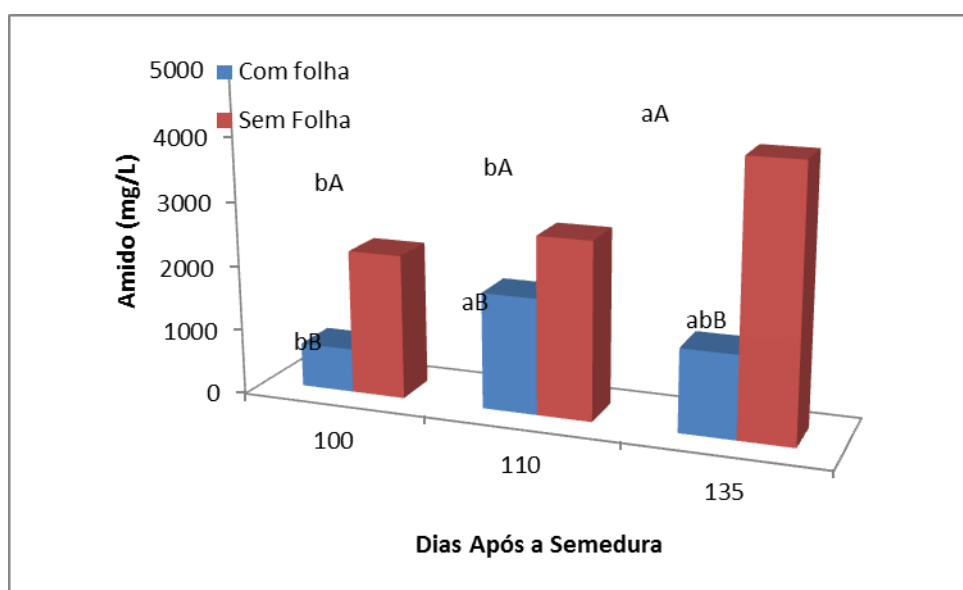
Comparando-se o efeito das épocas sobre o teor de acidez total do caldo extraído de sorgo sacarino, observou-se aumento da quantidade de ácidos conforme se atrasou a colheita. Estes resultados são similares aos obtidos por Freitas (2013), que determinou acréscimo de acidez total dos 100 para os 120 d.a.s. Considerando-se o processamento de colmos limpos e integrais, verificou-se que não refletiu sobre este parâmetro. Freitas (2013), avaliando diferentes sistemas de colheita (colmo limpo e colmo integral), também obteve resultados similares.

Avaliando-se o efeito das épocas sobre a quantidade de CFT no caldo extraído de sorgo sacarino, observou-se ligeiro acréscimo do teor destas biomoléculas a medida que a planta permaneceu mais tempo no campo. Estes valores de compostos fenólicos são próximos aos encontrados por Meireles (2012) onde para o tratamento em que se colheu o colmo integral este obteve valores de 629mg/Kg. Neste sentido, também pode-se constatar aumento de CFT no caldo extraído, quando realizou-se o processamento da matéria-prima adicionando-se folhas e panículas, Este comportamento pode ser decorrente da presença de compostos nas folhas derivados de ácido hidrobencóico, ácido hidrocínamico e os flavonóides que englobam as antocianinas e os taninos (QUEIROZ, 2011).

Cabe ressaltar que Freitas (2013), analisando o mesmo genótipo CVSW80007, também obteve valores próximos, caracterizando este comportamento como o reflexo da reação fisiológica da cultura em resposta às condições ambientais predominantes ao período em que se encontrava a planta, tais como baixa precipitação, baixos teores de armazenamento de água no solo, elevado déficit hídrico, aliado às temperaturas médias elevadas. Sob esta condição a cultura de sorgo sacarino em plena atividade metabólica passou a destinar parte dos fotossintatos para a produção de biomoléculas de defesa, tais como os compostos fenólicos.

Quanto a avaliação do amido no caldo (Figura 2), percebe-se que aos 135 d.a.s. este apresentou o maior índice, de 2704 mg/kg, este fato pode ser explicado de acordo com os níveis apresentados pela planta, que dependem do estágio de desenvolvimento e do genótipo estudado, sendo que quanto maior o nível de maturação maior a quantidade de amido armazenado no grão. (GUIYING et al., 2000).

Figura 2 - Representação gráfica do teor de amido do caldo para os sistemas de colheitas com folhas e sem folhas, em função das épocas de amostragem. Jaboticabal-SP. Safra 2012/2013.



Cabe ressaltar que o amido presente na planta, além de ser infermentescível para a leveduras, pode aumentar a viscosidade dificultando a clarificação do caldo, além de promover entupimentos de bombas e tubulações. Os teores de amido quantificados por Masson et al. (2012), e Freitas (2013) variam de 1424 a 3090 ppm, sendo, valores estes semelhantes aos obtidos neste ensaio que oscilaram de 1253 mg/kg (colmos limpos) e a 3034 mg/kg (colmos integrais).

Analisando-se o teor de amido no caldo extraído de colmos integrais e limpos, observou-se que a adição de folhas e panículas promoveu redução desta biomolécula. Provavelmente, a folha por conter elevada umidade, resultou na diluição do amido do caldo. Neste sentido, o sistema de extração utilizado (moenda de laboratório) pode não ter sido eficiente para extrair tal molécula presente nos grãos da panícula, sendo que a utilização de prensa hidráulica pode apresentar resultados mais próximos a realidade da unidade industrial.

5.2 Caracterização do Caldo Clarificado

Os resultados obtidos para o caldo clarificado de sorgo sacarino estão apresentados na Tabela 03. A clarificação do caldo consiste em um tratamento que objetiva remover impurezas e partículas em suspensão que possam prejudicar a fermentação. (ANDRZEJEWSKI, *et al* 2013).

Tabela 3 – Resultados de Brix, pH, Acidez Total, Amido e Compostos Fenólicos Totais do caldo de sorgo Sacarino clarificado, para as épocas de colheita 105,110 e 135 d.a.s, genótipo CVSW 800007. Jaboticabal, SP. Safra 2012/2013.

Caldo Clarificado	Brix	pH	Acidez Total (g/L H₂SO₄)	Amido (mg/L)	CFT (mg/L)
Épocas (E)	61,70**	1,71ns	0,41ns	61,54**	161,98**
105	13,9C	5,0A	1,85A	279B	153C
110	17,1B	5,3A	1,73A	1610A	248B
135	19,5A	5,5A	1,99A	1571A	326A
DMS	1,76	0,95	0,98	482,68	33,96
CV	7,26	12,39	36,68	28,98	9,69
Colheita (C)	1,72ns	0,16ns	1,76ns	2,60ns	314,81**
Com Folha	16,6A	5,3A	1,95A	1123A	296A
Sem Folha	17,1A	5,3A	1,76A	1184A	189B
DMS	0,97	0,14	0,34	93,66	14,78
CV	7,06	3,35	22,46	9,95	7,47
Amilase (A)	0,16ns	1,53ns	1,91ns	766,72**	21,17**
Com Amilase	16,9A	5,3A	1,81A	179B	268A
Sem Amilase	16,8A	5,3A	1,90A	2128A	217B
DMS	0,64	0,08	0,13	153,27	24,32
CV	5,30	2,30	10,04	18,30	13,81
Inter. ExC	3,22ns	1,76ns	2,35ns	18,70**	18,03**
Inter. ExA	0,21ns	1,72ns	0,51ns	135,04**	23,91**
Inter CxA	0,50ns	0,28ns	1,16ns	0,34ns	4,91*
Inter.ExCxA	0,79ns	3,08ns	0,73ns	2,17ns	0,32ns
Blocos	11,67*	0,95ns	0,86ns	0,97ns	1,63ns

**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 diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey. D.M.S = desvio mínimo significativo. C.V = coeficiente de variação.

Avaliando-se o teor de sólidos solúveis presentes no caldo clarificado, observou-se que, assim como obtido no caldo extraído, houve aumento de Brix com o passar das épocas.

Entretanto, deve-se ressaltar que não houve remoções de sólidos solúveis pelo processo de caleagem simples, uma vez que este processo não promove remoções de açúcares (ANDRZEJEWSKI et al., 2013)

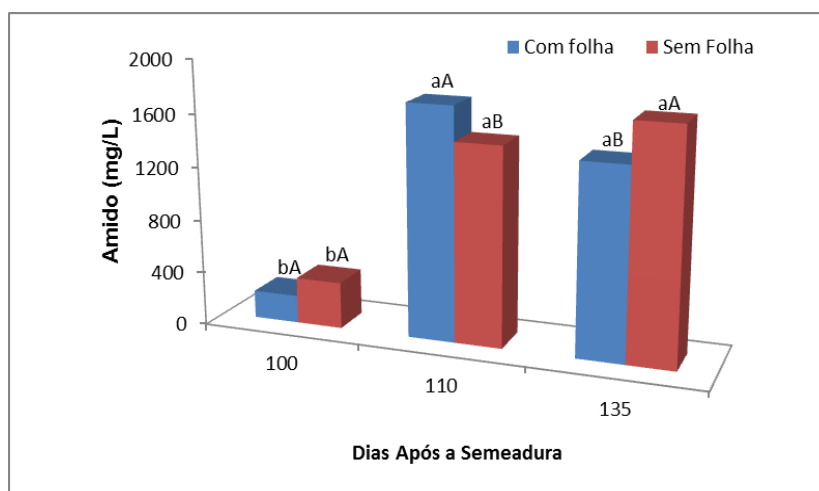
Analisando-se o efeito do manejo e da utilização de enzima no tratamento do caldo, verificou-se que ambos processos não refletiram sobre o Brix do caldo.

Concluindo o processo de clarificação, observou-se que o caldo clarificado de sorgo sacarino apresentou valores similares de pH para todos os tratamentos estudados, sendo estes da ordem de 5,0 a 5,5. Estes resultados foram similares aos determinados por Masson (2012), que relatou pH de 5,5 para o caldo clarificado deste mesmo genótipo. Deve-se ressaltar que estes valores são os indicados para o caldo clarificado destinado ao processo fermentativo (STEINDL, 2010).

Neste contexto, deve-se destacar também que todos os tratamentos estudados não influenciaram o teor de ácidos totais presentes no caldo clarificado. Entretanto, o tratamento de caldo por caleagem simples não promoveu remoções de ácidos presentes no caldo. Tais resultados contradizem as informações apresentadas por Delgado (1975), que afirmou que este processo elimina quantidades significativas de ácidos.

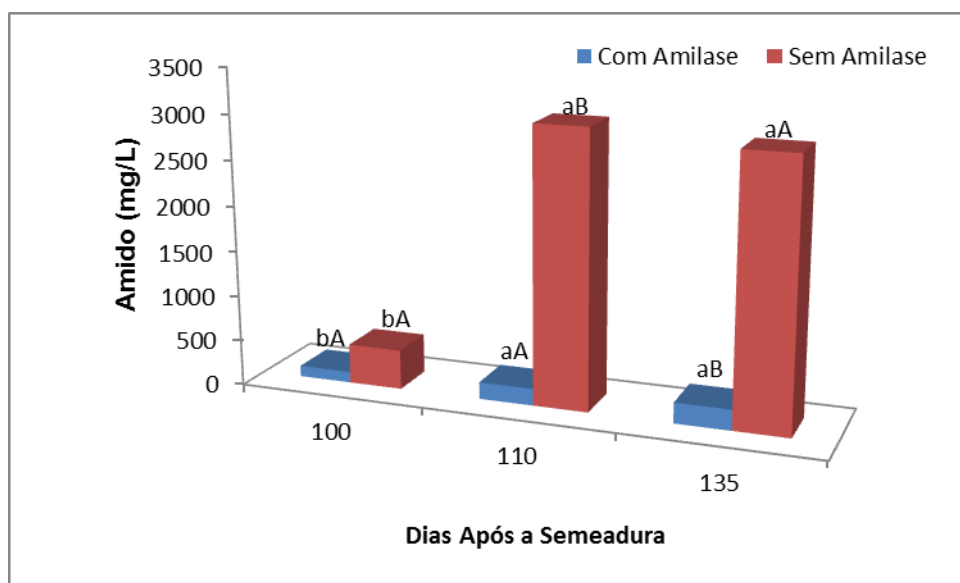
Comparando-se o teor de amido (Figura 3) entre as diferentes épocas de amostragem, observou-se que, assim como para o caldo extraído, houve aumento do teor desta biomolécula com o passar do tempo.

Figura 3 - Representação gráfica do teor de amido no caldo clarificado para os sistemas de colheitas com e sem folhas, em função das épocas de amostragem. Jaboticabal-SP. Safra 2012/2013.



Entretanto, apenas o tratamento pouco quebrou amido do caldo. Contudo, quando se adicionou a enzima α -amilase (Figura 4), observou-se reduções de até 92% da concentração desta molécula. Deve-se destacar que ao hidrolisar o amido, a enzima liberou ao meio, moléculas de glicose, as quais podem ser utilizadas pela levedura em fermentação (STEINDL, 2010).

Figura 4 - Representação gráfica do teor de amido no caldo clarificado para os tratamentos com e sem enzimas α -amilase, em função das épocas de amostragem. Jaboticabal-SP. Safra 2012/2013.

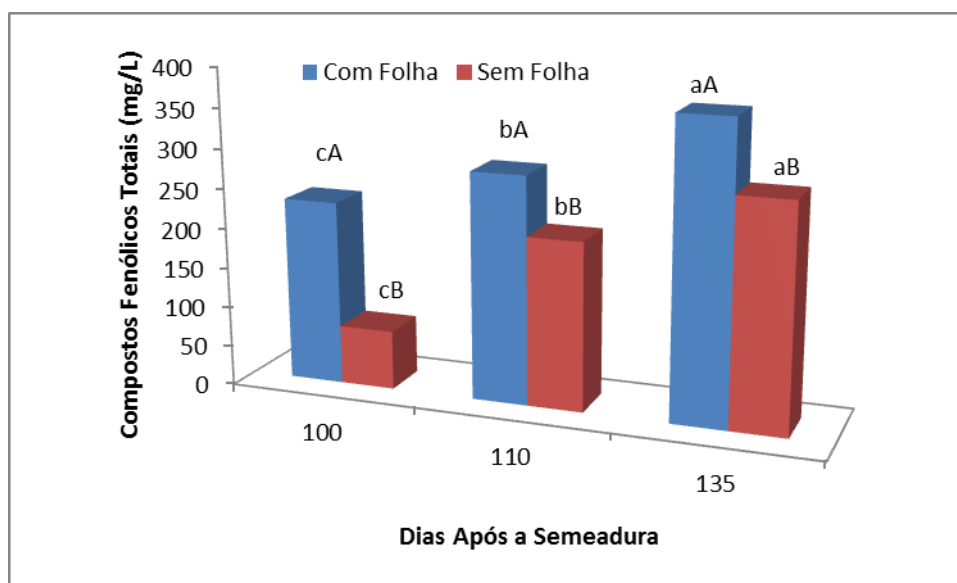


Estudando processos de clarificação, Andrzejewski *et al.* (2013) evidenciaram a necessidade de aperfeiçoamento e adequação da tecnologia quando se usa o caldo de sorgo, onde constataram que com um aumento de temperatura e pH foi possível obter grande remoção de amido, com adição de 10 ppm de auxiliar de floculação. Entretanto, a utilização de amilase promoveu resultados melhores que os obtidos por estes autores.

Cabe destacar ainda quantidades similares de amido para caldos clarificados de colmos processados integrais ou limpos.

No parâmetro de compostos fenólicos totais (Figura 5), constatou-se diferença entre as épocas de colheita onde o maior valor encontrado foi aos 135 d.a.s. Entretanto, observou-se redução de 65% em relação ao caldo extraído.

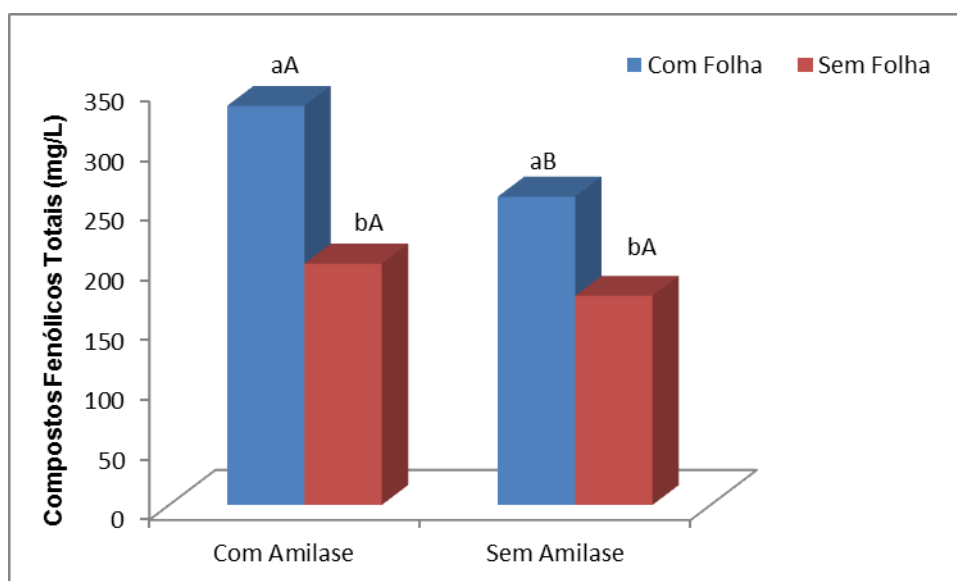
Figura 5 - Representação gráfica dos compostos fenólicos totais no caldo clarificado para os tratamentos com e sem folhas, em função das épocas de amostragem. Jaboticabal-SP. Safra 2012/2013.



Estes resultados são superiores aos encontrados por Masson (2013) que observou remoções de CFT na ordem de 31% no caldo clarificado. Segundo Amorim (2005), quantidades superiores a 500 ppm afetam negativamente a levedura em fermentação, resultando em decréscimo da quantidade de células vivas (RAVANELI et al., 2011).

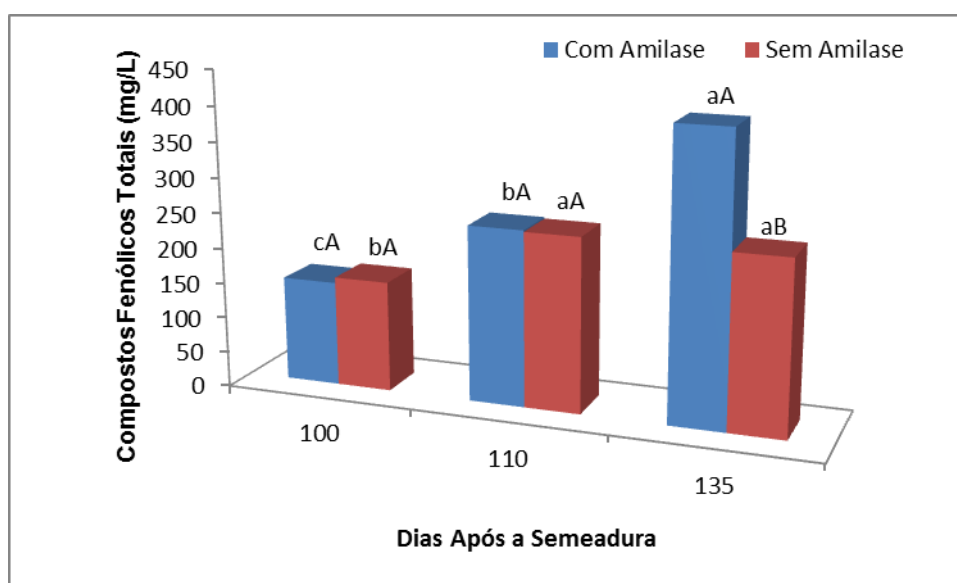
Para o tratamento com folhas e sem folhas (Figura 7) também notou uma diferença significativa, onde o maior teor de compostos fenólicos totais se relatou nos colmos integrais (com folhas), porém este já se encontrava em valores superiores no caldo extraído, devido a fisiologia da planta, tendo como esta a justificativa para seu maior valor.

Figura 6 - Representação gráfica da interação entre as colheitas com e sem folha, e com e sem enzima nos compostos fenólicos totais no caldo clarificado. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014.



Considerando-se o tratamento com aplicação de α -amilase (Figura 6), verificou-se que a adição da enzima resultou em aumento desta biomolécula no caldo. Tais valores são similares aos obtidos por Costa et al. (2012), que clarificando caldo de sorgo sacarino utilizando-se α -amilase, observaram aumento de 10,5% no teor de CFT.

Figura 7 - Representação gráfica dos compostos fenólicos totais no caldo clarificado para os tratamentos com e sem enzima α -amilase, em função das épocas de amostragem. Jaboticabal-SP. Safra 2013/2014.



6. CONCLUSÃO

A colheita de colmos sem folha resultou em caldo com menor teor de compostos fenólicos, porém adição da enzima α -amilase promoveu acréscimo desta biomolécula.

A enzima foi eficaz em sua aplicação promovendo a quebra da molécula de amido nas diferentes épocas de avaliação.

REFERÊNCIAS

AMORIM, H. V.; (Coord.) **Fermentação Alcóolica, Ciência e Tecnologia**. Piracicaba. Fermentec. p. 448, 2005.

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

CHAVAN, S. M.; KUMAR, A.; JADHAV, S. J. Rapid quantitative analysis of starch in sugarcane juice. **International Sugar Journal**, Glamorgan, v. 93, n. 107, p. 56-59, 1991.

COPERSUCAR. **Manual de Controle Químico da Fabricação de Açúcar**. Piracicaba. 2001. CD-ROM

COSTA, G. H. G; FREITA,C,M; FREITA, L. A; MASSON, I, S; MUTTON, M, R, J; Efeito de α -amilase na clarificação do caldo de sorgo sacarino em diferentes faixas de pH. Revista Ciência e Tecnologia, 2012.

DELGADO, A. A. Tecnologia do Açúcar e das fermentações Industriais. v. 1, p.91. In: **Tecnologia dos Produtos Agropecuários**, Piracicaba: ESALQ. 1975.

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

EGGLESTON, G.; MONGE, A.; PEPPERMAN, A. **Preheating and incubation of cane juice to liming: a comparison of intermediate and cold lime clarification.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 50, 2002. pg. 484-490. deral Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

EMBRAPA. **Indicações de Aspectos Tecnológicos sobre o Bioetanol de Matéria-prima Amilácea.** 2010. Disponível em: <<http://www.cnptia.embrapa.br/content/09409-indicacoes-de-aspectos-tecnologicos-sobre-bioetanol-de-materia-prima-amilacea.html> >. Acesso em: 12 de set. de 2011.

FOLIN, O.; CIOCALTEU, V. Ontyrosineandtryptophanedeterminations in proteins. **The journalofbiologicalchemistry**, Bethesda, v. 73, n. 2, p. 627-50, 1927.

FREITA, L. A. **Avaliação tecnológica e microbiológica da fermentação etanólica de caldo de sorgo sacarino.** 2013. 70f. Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2013.

FERREIRA, O, E; **Aproveitamento de subprodutos agroindustriais para a produção de amilases fúngicas: estudo de parâmetros fermentativos e caracterização das enzimas.** Dissertação Mestrado Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, Como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia (Microbiologia Agropecuária). 2011.

FONTES, M. M.; SILVA, B. A.; DANTAS, J.P.; SILVEIRA, D. C.; CAVALCANTI, M. T. Caracterização físico-químico do melado de sorgo granífero sacarino [Sorghumbiolor (L) Moench]. Revista Verde, Mossoró, v. 6, n. 1, p. 216 – 219, 2011.

FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS. 2014. Disponível em
<http://www.insumos.com.br/Funcionais_e_nutracêuticos/materiais/86pdf.

GODOY, A. **Soluções para redução do amido na açúcar**, In: REUNIÃO ANUAL DA

FERMENTEC, 25, 2004, São Pedro. Resumos...Piracicaba: Fermentec, p. 8-9, 2004.

GUIYING, L., WEIBIN, G. HICKS, A. CHAPMAN, K. R. **Training manual for sweet shorgum**. Regional Office for Asia and the Pacific; Chinese Academic Sciences, Beijing, 134p, 2000.

GUPTA, R.; GIGRAS, P.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V.K.; CHAUHAN, B. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, v.38, p. 1599-1616, 2003.

HONIG, P.; *Princípios de Tecnologia Azucareira*. v.1. Mexico:Companhia Editorial Continental, 1969.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V.; SCHMIDELL, W. **Produção de Etanol**. In: **Biotecnologia Industrial**. São Paulo, Edgard Blücher Ltda, vol.3, 2001.

MACEDO, G. A; PASTORE, G.M; SATO, H H; YON, G; PARK, K. **Bioquímica experimental de alimentos**. 1º ed. Editora Varela, 2005.

MASSON, I. S.; FREITA, L. A.; COSTA, G. H. G.; FERREIRA, O. E.; MUTTON, M. A. **Caracterização tecnológica de caldo extraído de dois genótipos de sorgo**. VI Workshop Agroenergia. Ribeirão Preto – SP, 2012.

MASSON, I.S.; **Produção de Bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar**. 2013. 62f. Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2013.

MEIRELES, M. B; **Parâmetros químico- tecnológicos de cultivares de sorgo sacarino e reflexos na produção de etanol** . Trabalho de Graduação Jaboticabal : Fatec,. 48p. 2013.

MISSIMA,J.O,D; **Reflexos de diferentes temperaturas e phs sobre o tratamento do caldo de sorgo sacarino** . Trabalho de Graduação Jaboticabal : Fatec,. 41p. 2013.

NETO, J.A; Algumas aplicações de enzimas. Biotecnologia Industrial. vol.3 pag.405 a 412, 2001.

PACHECO, T. F. Tecnologia Industrial. **Sistema Embrapa de Produção Agroindustrial de Sorgo Sacarino para Bioetanol Sistema BRS1G – Tecnologia Qualidade Embrapa**. Sete Lagoas, MG, p. 92-106, Agosto de 2012.

PARK, Y.K; **Produção de enzimas Industriais e de Origem Vegetal**. Biotecnologia Industrial. vol 3, pág. 367 a 376, 2001.

QUEIROZ, V. A. V.; MORAES, E. A.; SCHAFFERT, R. E.; MOREIRA, A. V.; RIBEIRO, S. M. R.; MARTINO, H. S. D. **Potencial funcional e tecnologia de processamento do sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), para alimentação humana.** Revista Brasileira de milho e sorgo, v. 10, n 3, p. 183. 2011.

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.

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 and Bioenergy, v. 34, n. 7, p. 947-952, 2010.

RAVANELI, G, C. Qualidade da matéria-prima, microbiota fermentativa e produção de etanol sob ataque de *Mahanarva fimbriolata* em cana-de-açúcar. 105 p., Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.

RODRIGUES, D.; OLIVEIRA, P.; GOMES, A. Caracterização do sorgo para produção de etanol. Agroenergia em revista, **Embrapa**. Ano II, n. 3, p. 26. Ago. 2011.

SAID, S; PIETRO, R. **Enzimas como agentes biotecnológicos.** Ribeirão Preto: Legis Summa, 2005.

SANTANNA, ; Produção de enzimas. *Biotecnologia Industrial*. vol.3 pag. 351 a 362, 2001.

SCHAFFERT,R.E. **Características desejáveis para uma boa cultivar de sorgo sacarino**. Seminário Temático Agroindustrial de Produção de Sorgo Sacarino para Bioetanol. Ribeirão Preto – SP, 2012.

SCHENEIDER, F. **Sugar analysis methods**. Peterborough: ICUMSA, 1979, p.256

SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. **Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance**. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, 2009. Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SOUZA, C. C; DANTAS, J.P; SILVA, S.M; SOUZA, V. C; ALMEIDA, F. A; SILVA, L.E. Produtividade do sorgo granífero cv. Sacarino e qualidade de produtos formulados isoladamente ou combinados ao caldo de cana-de-açúcar. **Ciênc.Tecnol.Aliment.**, Campinas, 25(3): 512-517, jul.-set. 2005

SOUZA, P. M.; MAGALHÃES, P. O. **Application of microbial amylase in industry – a review**. *Brazilian journal of microbiology*, São Paulo, v.41, n.4, p. 850-861, 2010.

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

STEINDL, R. J. **Clarification of cane juice for fermentation.** In: International Society of sugar cane technologists congress, 27., 2010

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

STUPIELLO, J.P. O uso de processos enzimáticos. STAB, Açúcar, Álcool e Subprodutos. Piracicaba, v.29, n.1, p. 07, 2010.

TEIXEIRA, C. G.; JARDINI, J. G.; BEISMAN, D. A. **Utilização do sorgo sacarino como matéria-prima complementar à cana-de-açúcar para a obtenção de etanol em microdestilaria.** Ciência. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 17, n. 3, p.221-229, 1997.

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