UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

RELATÓRIO TÉCNICO

Contrato n° 1201/2022
Projeto de Pesquisa n. 4718

"PRODUÇÃO DE AÇÚCAR E ETANOL, EM ESCALA DE LABORATÓRIO, A PARTIR DO PROCESSAMENTO DE DUAS VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR COM DIFERENTES NÍVEIS DE INFESTAÇÃO DE BROCA"

Profa. Dra. *MÁRCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON*
Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental

Prof. Dr. *MIGUEL ANGELO MUTTON*
Departamento de Ciências da Produção Agrícola

FCAV/UNESP

Fevereiro – 2023
Jaboticabal – SP

EQUIPE

Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton
Prof. Dr. Miguel Angelo Mutton
Doutoranda Natália Novais Ribeiro
Mestranda Katia Gabriela de Natale
Mestranda Laís Cozer Araújo
Mestrando Lucas Antoszczeszen Pironti
Acadêmico Mateus Felipe Grigoletto
Técnico de Laboratório Sérgio Luis Nobukini

PRODUÇÃO DE AÇÚCAR E ETANOL, EM ESCALA DE LABORATÓRIO, A PARTIR DO PROCESSAMENTO DE DUAS VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR COM DIFERENTES NÍVEIS DE INFESTAÇÃO DE BROCA

RESUMO – O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. Entretanto, a ocorrência de ataques por insetos-praga ainda é um problema para a manutenção dessa cultura. A larva de *Diatraea saccharalis* (broca-da-cana) é uma das principais pragas que afetam os canaviais brasileiros, depreciando a produtividade e a qualidade da matéria-prima. Como alternativa para o seu controle destaca-se o emprego de variedades transgênicas, utilizando-se genes que codificam proteínas que atuam como biocidas, sendo estas derivadas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt). Os parâmetros agronômicos destas variedades já foram estudados, entretanto faltam informações relativas ao comportamento destes materiais durante o processamento destinados à produção de açúcar e etanol. Com este objetivo, foram realizados dois estudos: Ensaio I - avaliar e comparar a qualidade dos açúcares e o rendimento de etanol produzidos a partir do caldo de duas variedades de cana-de-açúcar convencional (CTC9001 e RB867515) contendo 8% de índice de infestação por broca-da-cana e duas variedades transgênicas (CTC9001BT e CTC7515BT); Ensaio II: avaliar como diferentes índices de infestação de broca da cana (0, 4 e 8%) afetam a qualidade dos açúcares e rendimento de etanol em canas convencionais (CTC9001 e RB867515). Foram realizadas análises químico-tecnológicas no caldo extraído, caldo clarificado, vinho, análises microbiológicas no início e no final do processo fermentativo, cálculos para determinação da eficiência fermentativa e determinações para avaliar a qualidade dos açúcares produzidos. De modo geral, o caldo extraído das variedades BT apresentou maiores valores de Sólidos Solúveis Totais (Brix), Pol, Pureza e Açúcares Redutores Rotais (ART) e menores valores de Açúcares Redutores (AR), Turbidez, Cinzas, Amido e Compostos Fenólicos Totais. Os açúcares produzidos a partir das variedades BT apresentaram maior Pol e menores valores de Cor ICUMSA, Cinzas, Turbidez, Amido e Compostos Fenólicos Totais. Em relação ao processo fermentativo, não foram detectadas interferências no comportamento da viabilidade celular, índice de brotamento e viabilidade dos brotos das leveduras, quando se utilizou mostos provenientes de canas BT. Os vinhos das variedades transgênicas apresentaram maiores teores alcoólicos e melhores eficiências fermentativas. Independentemente da variedade da cana convencional, a presença de broca provoca perdas, influindo negativamente nos parâmetros do caldo extraído, qualidade dos açúcares e eficiência fermentativa, sendo estas proporcionais ao nível de infestação determinado nas plantas.

LISTA DE ABREVIATURAS

AR	Açúcares Redutores
ART	Açúcares Redutores Totais
ATR	É a quantidade de açúcar (kg), contido em 1 tonelada de cana, que pode ser recuperado e utilizado nas indústrias para produção de cristais de sacarose e etanol.
CTC	Centro de Tecnologia Canavieira
CTC9001 0%	Variedade CTC9001 com índice de infestação de 0%
CTC9001 4%	Variedade CTC9001 com índice de infestação de 4%
CTC9001 8%	Variedade CTC9001 com índice de infestação de 8%
RB867515 0%	Variedade RB867515 com índice de infestação de 0%
RB867515 4%	Variedade RB867515 com índice de infestação de 4%
RB867515 8%	Variedade RB867515 com índice de infestação de 8%
I.I.B.	Índice de Infestação da Broca
P.U.I.	Período Útil de Industrialização
TAH	Toneladas de Açúcar por hectare
TCH	Toneladas de Cana por hectare

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. Estima-se que na safra de 2022/2023 tenha ocupado 8.307,3 mil hectares, com produtividade média de 72,026 $t.ha^{-1}$ e produção total de 598.345,4 mil toneladas (CONAB, 2022).

Estima-se que a produção total de açúcar foi de 36.372,6 mil toneladas, mostrando-se 4,1% superior à produção observada na safra 2021/22. A produção de etanol foi estimada em 26,59 bilhões de litros, sendo 0,7% superior ao volume obtido na safra anterior (CONAB, 2022).

Dados divulgados pelo Ministério da Economia apontam que o Brasil exportou 22,1 milhões de toneladas de açúcar nos meses de abril a novembro de 2022, correspondendo a um aumento de aproximadamente 13% em relação à safra anterior (CONAB, 2022). A exportação brasileira de etanol está estimada em 1.887 milhões de litros, havendo um aumento de 34,5% em comparação à safra passada (CONAB, 2022). Os valores movimentados demonstram a importância da cana-de-açúcar para a economia.

Os acréscimos de produtividade e qualidade da cana-de-açúcar alcançados nos últimos anos podem ser atribuídos principalmente ao emprego de novas variedades e práticas adequadas de manejo adotadas pelo setor sucroenergético. Dentre os fatores que podem comprometer a qualidade da matéria-prima, a presença de insetos-praga são um grande problema; sendo *Diatraea saccharalis* (broca-da-cana), uma das principais pragas da cultura (HORIKOSHI *et al.*, 2022).

Após penetrar no tecido vegetal, as larvas de *D. saccharalis* formam túneis no interior dos colmos, se alimentando de tecidos moles ou bainhas foliares. Em razão disso, a broca-da-cana é capaz de causar inúmeros danos para a planta, como redução de peso dos colmos, morte de perfilhos (“coração morto”), perda de açúcares, depreciação da qualidade da matéria-prima, entre outros (DESSOKY *et al.*, 2020; HORIKOSHI *et al.,* 2022).

O manejo de *D. saccharalis* inclui, principalmente, a implementação de medidas de controle químico e biológico. O controle biológico é realizado utilizando-se a vespa *Cotesia flavipes*, a qual atua parasitando as larvas da broca. Já o controle químico concentra-se na aplicação de inseticidas (IQBAL *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2022).

Contudo, mesmo sendo uma prática regular, a utilização de inseticidas pode não alcançar os resultados desejados, uma vez que o uso intensivo pode causar o aumento da resistência dos insetos aos pesticidas, bem como promover danos a insetos benéficos,

humanos e outros vertebrados. Além disso, pesticidas também podem prejudicar o meio ambiente contaminando diferentes zonas do solo antes de atingirem níveis de águas profundas (IQBAL *et al.*, 2021).

Uma alternativa aos tratamentos químicos e biológicos é o desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas, empregando-se técnicas de engenharia genética. Assim, umas das estratégias mais promissoras para melhorar a capacidade da cana-de-açúcar em resistir a ataques de insetos-praga é a partir da introdução de genes de resistência, como aqueles presentes na bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) (HORIKOSHI *et al.*, 2022).

Esta bactéria é conhecida por produzir proteínas (proteínas Cry) que apresentam atividade biocida, agindo como inseticidas contra algumas ordens de invertebrados em fase larval, como dípteros, coleópteros e lepidópteros, sendo este último o grupo no qual *D. saccharalis* está classificada (DESSOKY *et al.*, 2020; HORIKOSHI *et al.*, 2022).

Dessa forma, o desenvolvimento da cana-de-açúcar geneticamente modificada para expressar as proteínas Cry derivadas de *B. thuringiensis* tem se mostrado uma ferramenta ecologicamente correta para compor programas de manejos de pragas com foco no controle da broca-da-cana (OLIVEIRA *et al.*, 2022; VERMA *et al.*, 2022).

Em 2017, o Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) iniciou o primeiro uso comercial da cana-de-açúcar Bt no Brasil, objetivando o controle dos ataques por broca. Dentre as variedades aprovadas, está a CTC9001BT, a qual contém o gene CryAc (OLIVEIRA *et al.*, 2022).

Estudos recentes têm trazido resultados positivos quanto ao potencial da cana-de-açúcar transgênica, relatando a resistência a insetos-pragas, bem como uma alta produtividade. Além disso, diferentes análises moleculares confirmaram que o gene da proteína Cry é capaz de integrar-se de forma estável ao genoma da planta (DESSOKY *et al.*, 2020).

Sabe-se que a utilização de variedades transgênicas pode trazer ao setor sucroenergético, grandes benefícios agronômicos, entretanto não há estudos que demonstrem seus reflexos durante o processamento dos colmos, aspectos quali-quantitativos dos açúcares e do etanol produzidos. Foi dentro deste enfoque, que realizou-se a presente pesquisa.

2. OBJETIVOS

- Avaliar a qualidade da matéria-prima de duas variedades de cana-de-açúcar, apresentando diferentes níveis de infestação de *Diatraea saccharalis* (broca-da-cana);

- Avaliar os reflexos sobre a produção e qualidade do açúcar VHP produzido a partir destas matérias-primas em escala laboratorial;

- Avaliar os reflexos sobre a microbiota fermentadora, produção e qualidade do etanol obtidos com estas matérias-primas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização do experimento

O experimento foi conduzido em condições de campo na Área Experimental do Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), no município de Valparaíso-SP, na safra 2022/2023. O município situa-se no noroeste do Estado de São Paulo, com altitude máxima de 459 m, terras bastante férteis e clima tropical (PREFEITURA MUNICIPAL DE VALPARAÍSO, 2023).

A área escolhida para a implementação do experimento apresentava 2 variedades de cana convencional: CTC9001 e RB867515; e duas variedades transgênicas: CTC901BT e CTC7515BT.

As análises químico-tecnológicas foram conduzidas no Laboratório Tecnologia do Açúcar e do Álcool, do Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, Campus de Jaboticabal-SP.

3.2 Variedades de cana-de-açúcar

CTC9001 foi comercializada a partir de 2013 pelo CTC. É uma variedade que apresenta alto teor de fibra, boa resposta a maturadores, adaptabilidade à colheita mecanizada, precocidade em ambiente restritivo, ATR elevado, P.U.I longo e TCH elevado (CTC, 2021a).

RB867515 foi lançada em 1997 pela RIDESA, sendo por anos a variedade mais plantada no Brasil (RIDESA, 2010). Entre suas características pode-se citar: maturação tardia, bom rendimento de transporte, excelente brotação de soca com palha, fechamento de entrelinhas regular, florescimento raro, excelente resposta a maturadores e tolerância a seca (MARIN, 2022).

Desenvolvidas pelo CTC, as variedades BT são plantas transgênicas que receberam o gene responsável pela produção de uma proteína com propriedades inseticidas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (PEFEROEN, 1997; KNIGHT, HEAD e ROGERS, 2021). Desta forma, a cana-de-açúcar preserva as características básicas da variedade de origem e passa a ser resistente à *Diatraea saccharalis* (broca-da-cana) (CTC, 2021b e 2021c).

3.3 Delineamento e instalação do experimento

O Ensaio I foi desenvolvido em blocos casualizados, com quatro tratamentos (CTC9001BT, CT9001 8%, CTC7515BT e RB867515 8%) e quatro repetições.

O Ensaio II foi desenvolvido em esquema de parcelas subdivididas, sendo o tratamento principal representado pelas cultivares (CTC9001 e RB867515) e o tratamento secundário aos níveis de infestação (0, 4 e 8%), com quatro repetições e delineamento em blocos casualizados.

3.4 Colheita da cana-de-açúcar e composição dos níveis de infestação

Os procedimentos descritos a seguir foram realizados em julho de 2022. Os dias 19, 20, 21 e 22 foram selecionados para a fabricação de açúcar, enquanto dia 28 foi destinado para produção de etanol.

A cana foi colhida através de corte manual, rente à base e no ponto de quebra da ponta, sem queima prévia da palha. As folhas secas e verdes foram removidas para obtenção de colmos limpos.

Todos os colmos entregues ao Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Álcool, foram abertos longitudinalmente para permitir a visualização do interior dos entrenós. Para cada cultivar, foram preparados 4 feixes com 40 colmos, compondo, portanto, 4 repetições.

Após a quantificação do número total de entrenós e dos entrenós brocados nos colmos das canas convencionais, foram compostos feixes com colmos agrupados de maneira a resultar em intensidades de infestação de 0, 4 e 8% de broca-da-cana. As variedades BT não apresentaram infestação nos colmos selecionados.

3.5 Extração e clarificação do caldo da cana

Após a colheita dos colmos, foi realizada a extração do caldo em moenda de laboratório, para obtenção do caldo extraído.

O caldo extraído foi tratado segundo metodologia CTC (2005), adicionando-se Hidróxido de Cálcio 6º Bé até pH 7,0 ± 0,1, para produção de açúcar e pH 6,0± 0,1 para produção de etanol. A seguir, este foi aquecido até ebulição, a fim de acelerar a reação entre o cálcio e o fosfato, sendo posteriormente disposto em provetas graduadas (Figura 01), que já continham polímero (Kemira, LX), utilizado como auxiliar de decantação. Após 20 minutos em repouso, o caldo foi sifonado e armazenado.

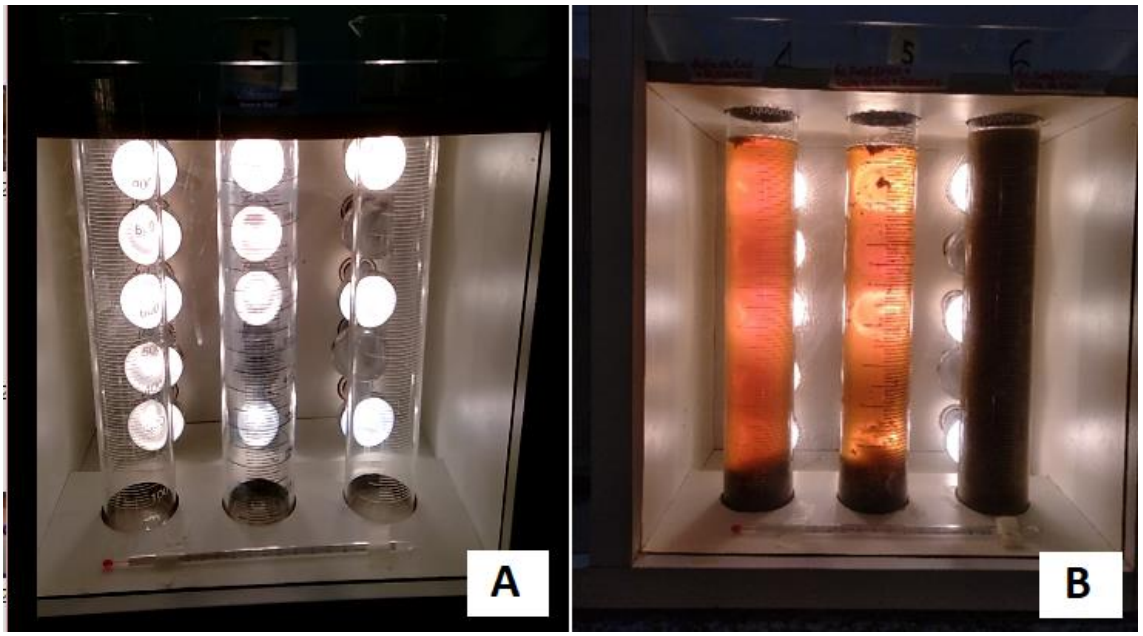


Figura 01 - Sistema de decantação utilizado para tratamento de caldo. **A.** Decantadores vazios. **B.** Da direita para esquerda: Caldo clarificado com 0 minutos de repouso, Caldo clarificado com 5 minutos de repouso, Caldo clarificado com 10 minutos de repouso.

3.6 Avaliação das Características Tecnológicas dos Caldos Extraídos e dos Clarificados

Análises realizadas nos caldos: Pol por polarimetria, Sólidos Solúveis Totais (°Brix) por refratometria, pH por leitura direta em pHmetro, Acidez Total por titulação (CTC, 2005), Açúcares Redutores (AR) e Açúcares Redutores Totais (ART) pelo método de Fehling (Lane e Eynon, 1934), Amido por espectrofotometria (Chavan *et al*., 1991) e Compostos fenólicos totais por espectrofotometria (Folin e Ciocalteu, 1927).

Pureza foi calculada pela seguinte expressão: (Pol/Brix)*100.

3.7 Produção de açúcar

O caldo clarificado foi concentrado até 60ºBrix utilizando-se rotoevaporador de simples efeito à temperatura de 70ºC e vácuo de 630 mmHg. O xarope obtido foi submetido a um cozedor de laboratório com capacidade de 5 L, empregando-se temperatura de 62±2ºC. A nucleação de cristais foi realizada pelo método de sementes, utilizando 6 g de açúcar refinado granulado e peneirado (<0,5 mm) como semente, com o objetivo de favorecer o crescimento dos cristais para tamanho entre 0,7 a 1 mm. Após a nucleação, o

cozimento foi conduzido na zona metaestável de supersaturação, com alimentação de xarope a 60ºBrix.

Uma vez realizado o cozimento, com o objetivo de otimizar o crescimento dos cristais, a massa cozida foi transferida para um béquer de 2 L, sendo mantida sob agitação, por 10 minutos, com intervalos de 1 minuto. Quando a temperatura da massa cozida diminuiu de 62±2ºC para 55±2ºC, foi realizada a centrifugação da mesma (63000G por 5 min). Os cristais obtidos foram previamente secos, sob agitação e ventilação a 40ºC, e a seguir mantidos em estufa, sem circulação de ar, a 30ºC por 12h, até a completa secagem.

3.8 Determinações no açúcar produzido

Os cristais de açúcar produzidos foram submetidos às seguintes análises: Teor de Amido (CHAVAN *et al.* (1991), Compostos Fenólicos Totais (FOLIN e CIOCALTEAU, 1927) Pol, Cinzas Condutimétricas, Umidade, Cor ICUMSA (UI) e Turbidez (CTC, 2005).

3.9 Preparo do Mosto e Condução do Processo Fermentativo

Após a clarificação do caldo, padronizou-se o Brix para 16 ± 0,1, o pH foi ajustado com ácido sulfúrico até 4,5 (± 0,1), e a temperatura ajustada para 32ºC (±0,1), obtendo-se o mosto.

O processo fermentativo ocorreu em frascos erlenmeyer de 500 mL, utilizando-se alíquotas de 250 mL de mosto inoculado com 30% de levedura *Saccharomyces cerevisiae* prensada, com viabilidade inicial de 99,88%. Os frascos contendo mosto inoculado foram mantidos a 32ºC (±0,1), sob agitação constante de 150 rpm.

Estabelecia-se como concluída a fermentação quando o Brix apresentava valor ≤1 em duas determinações realizadas num intervalo de 60 minutos. Ao final da fermentação, o vinho foi submetido à centrifugação a 1650 g, por 5 minutos (Himac, CR 21G), possibilitando a separação do inoculo e vinho delevedurado.

3.10 Análises microbiológicas da fermentação

Ao início e ao final da fermentação foram realizadas avaliações microbiológicas utilizando-se Câmara de Neubauer, quantificando-se a viabilidade celular das leveduras, a viabilidade de brotos e o índice de brotamentos, de acordo com Lee, Robison e Wang (1981).

3.11 Avaliação das Características Tecnológicas do Vinho

As seguintes análises foram realizadas nos vinhos obtidos: Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT) pelo método de Fehling (LANE e EYNON, 1934), Acidez Sulfúrica por titulação (CTC, 2005) e Teor de Glicerol por espectrofotometria (Shimadzu, UV mini 1240) (CTC, 2005).

3.12 Análise do destilado

Os vinhos foram destilados em micro-destilador de álcool (Tecnal, TE-012), sendo posteriormente determinado seu Teor Alcoólico por leitura direta em densímetro digital portátil (Anton Paar, DMA 35).

3.13 Avaliação da Eficiência Fermentativa

A metodologia de Fernandes (2011) foi utilizada para calcular o volume de etanol prático (mL) que pode ser produzido de acordo com o ART do mosto. O rendimento real foi calculado multiplicando o teor de etanol pelo volume dos vinhos. A eficiência de fermentação foi calculada dividindo o rendimento real de etanol pelo rendimento prático de etanol.

3.14 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F) e teste de comparação de médias por Tukey à 5%, empregando-se o Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agronômicos - AgroEstat (BARBOSA e MALDONADO JUNIOR, 2015).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PRODUÇÃO DE AÇÚCAR

4.1.1 Caldo Extraído

Os colmos de cana destinados a produção de açúcar foram inicialmente submetidos à extração do caldo e, em seguida, realizadas as análises de Brix, Pol, Pureza, ART, AR, pH, Acidez Total, Turbidez, Cinzas, Amido e Compostos Fenólicos Totais. Os resultados obtidos estão representados graficamente nas Figuras 02 a 13.

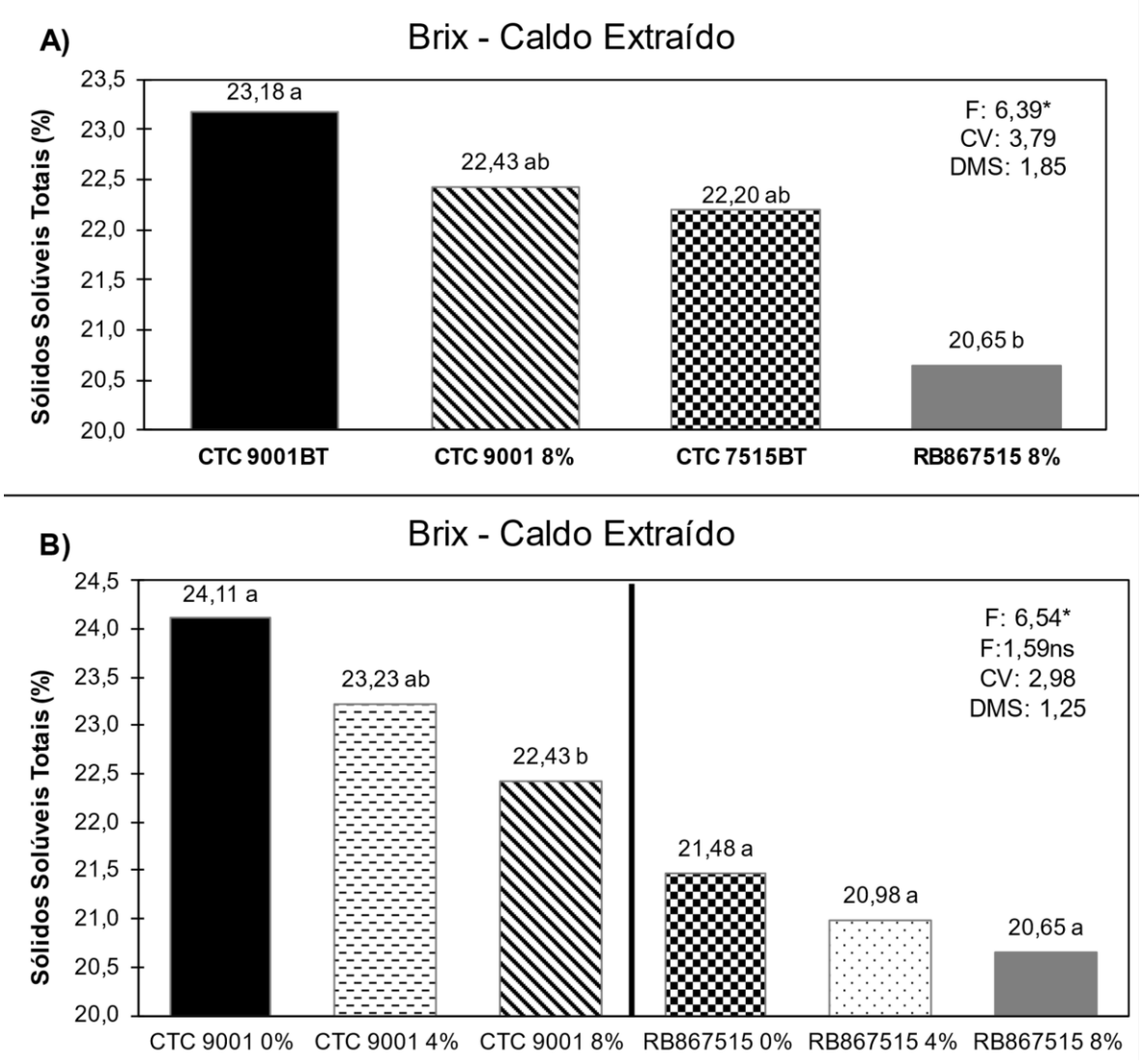
O Brix representa o teor de Sólidos Solúveis Totais dissolvidos em uma solução açucarada a 20°C, consequentemente, quantifica açúcares (glicose, frutose e sacarose) e não açúcares (compostos orgânicos e inorgânicos) presentes no caldo (CTC, 2005). Desta forma, os colmos colhidos no período de maturação adequado, apresentaram elevados teores de açúcares, e de sólidos solúveis.

Os valores médios obtidos para Brix do Caldo (Figura 02) apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos estudados, sendo superiores a 20%, valores recomendados para industrialização (MUTTON e MUTTON, 2015). O tratamento CTC9001 I.I.B. 8% e RB867515 I.I.B. 8% tiveram decréscimo de 3,26 e 6,98% no valor de Brix, quando comparadas com as respectivas transgênicas (Figura 02.A). Ao analisar os resultados do Ensaio II, nota-se que, apesar do aumento do nível de broca-de-cana, os valores médios de Brix do Caldo para RB867515 não apresentaram diferenças significativas (Figura 02.B), mas evidenciaram os efeitos negativos dos maiores índices de infestação. A CTC9001 exibiu diferenças significativas entre os índices de infestação, tendo resultado em diminuição de 3,65 e 6,97% nos teores de Brix do caldo dos colmos com 4 e 8% de infestação, respectivamente.

Pol é a porcentagem em massa de Sacarose Aparente contida em uma solução açucarada de peso normal, ou seja, representa o teor aparente de sacarose contida no caldo de cana-de-açúcar (SILVA e ANDRADE, 2018). A sacarose é o sólido solúvel em maior quantidade nos colmos, devendo apresentar tendência semelhante ao Brix analisado (VALSECHI, 1995).

Os caldos extraídos estavam adequados para o processamento industrial, apresentando Pol Aparente superior à 18% (Figura 03). Não obstante, cabe destacar que qualquer acréscimo na concentração deste parâmetro gera resultados positivos na indústria. Desta forma, as usinas desejam que as matérias-primas contenham as maiores concentrações possíveis de sacarose no caldo (DORNEMANN, 2016).

Figura 02 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Sólidos Solúveis Totais do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

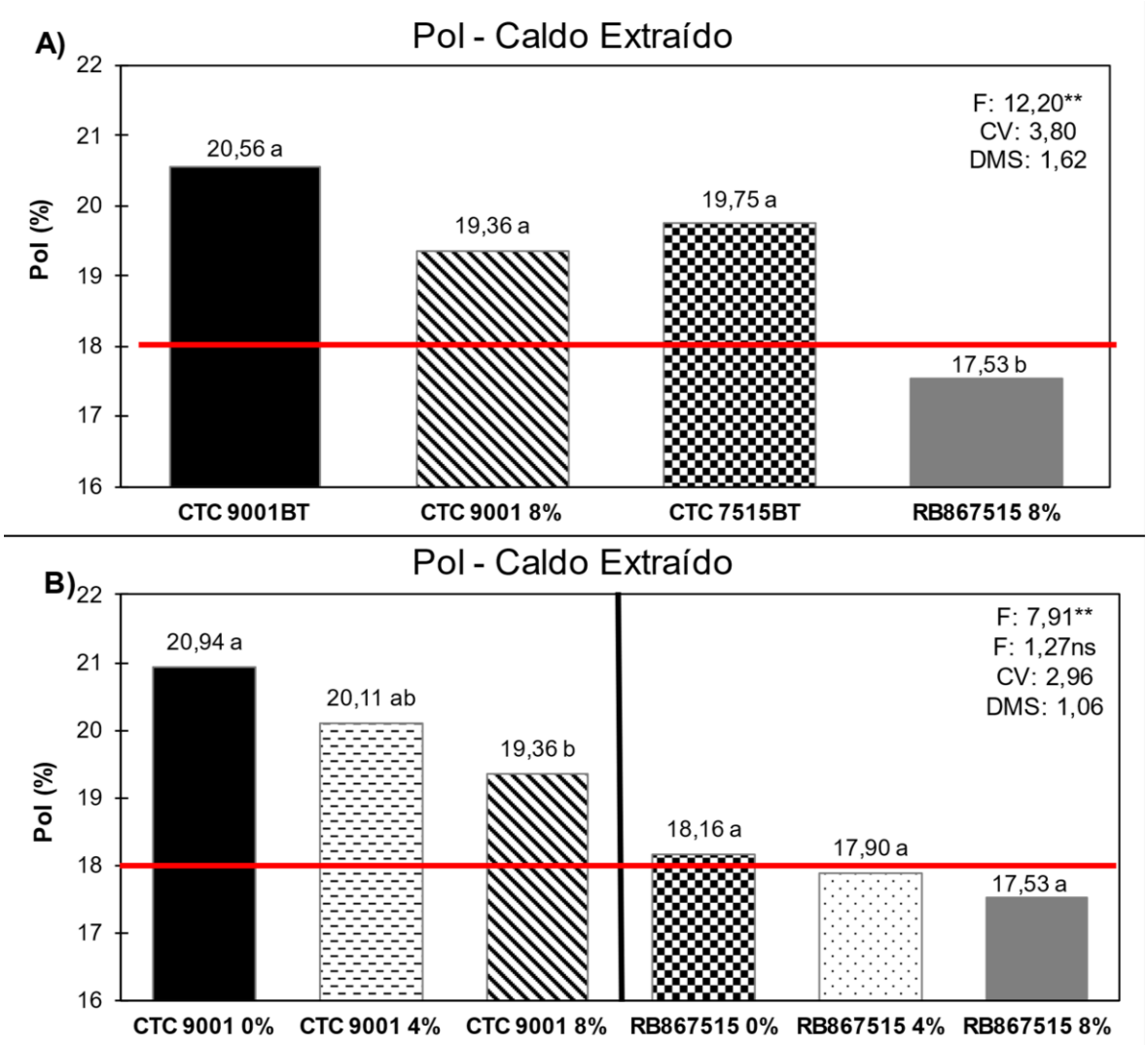


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >=0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Os valores médios obtidos para CTC7515BT e RB867515 8% I.I.B. diferiram significativamente, com uma redução de 11,28% no teor de sacarose presente na cana

convencional infestada em relação à transgênica (Figura 3.A). Na Figura 03B a CTC9001 apresentou decréscimo significativo de 3,96 e 7,55% nos níveis de 4 e 8% I.I.B., respectivamente. Embora a RB867515 não tenha apresentado efeito significativo, também se observou redução dos valores da Pol do Caldo com maiores I.I.B. (Figura 03B).

Figura 03 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Pol Aparente do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

A Pureza Aparente é a relação entre a porcentagem em massa de Sacarose Aparente e a de Sólidos Solúveis Totais contidos em uma solução açucarada (ALMEIDA JÚNIOR *et al.*, 2016). Para que a cana possa ser industrializada com maiores rendimentos

é necessário que a pureza do caldo extraído seja igual ou superior a 85% (AMORIM, 2005).

O índice de Pureza é de grande importância para a indústria do açúcar, pois quanto maior, melhor é a cristalização da sacarose na fase de cozimento do xarope (VALSECHI, 1995).

Neste sentido, verifica-se ao se observar a Figura 04 que a presença de praga nas canas está diretamente relacionada com a diminuição da Pureza do caldo. Nota-se que o uso de CTC9001BT e CTC7515BT pode proporcionar um ganho de 2,79 e 5,19% em relação as variedades convencionais, respectivamente (Figura 04.A).

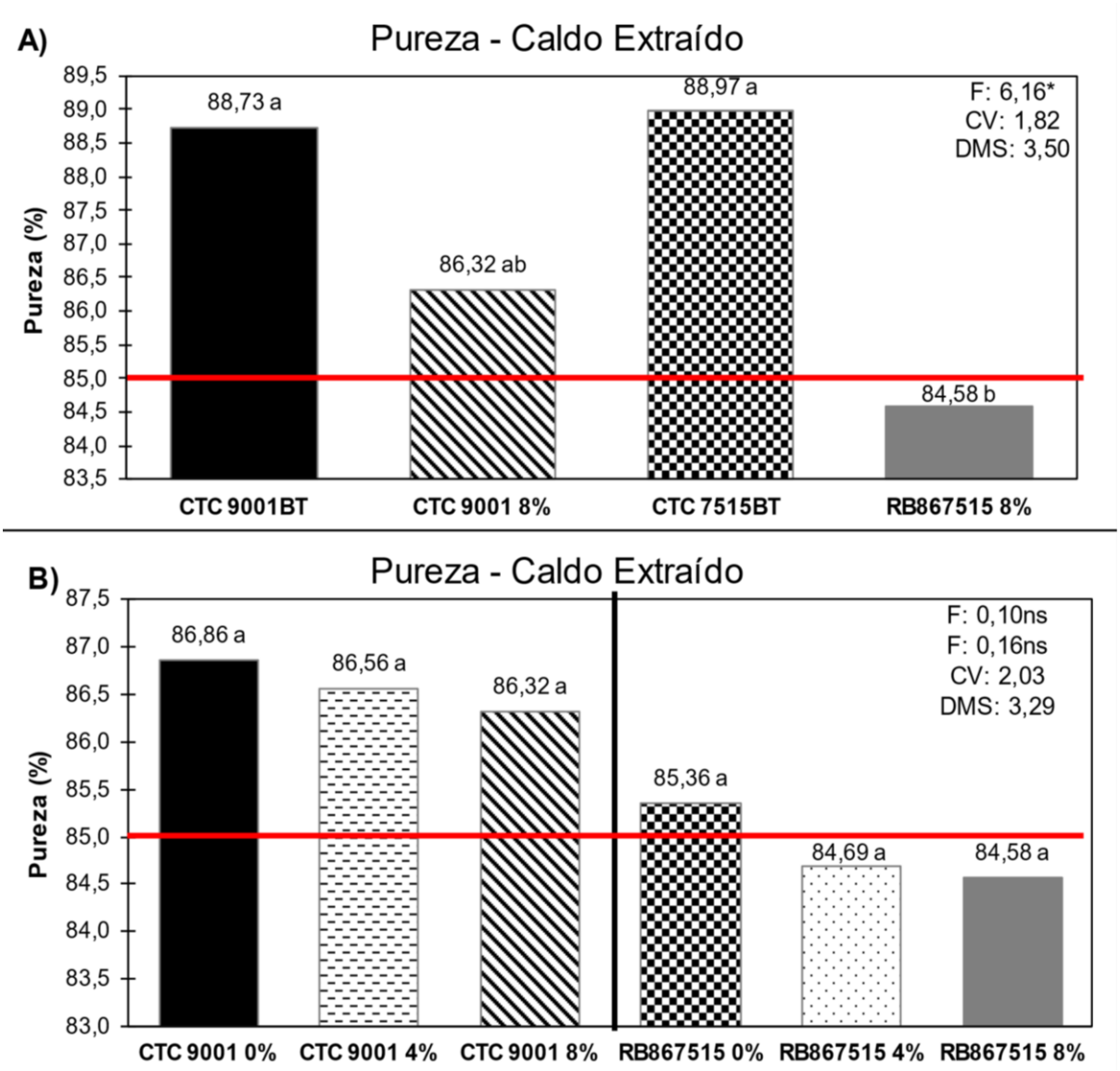
Desta forma, o uso de variedades transgênicas é uma solução para redução dos danos causados pela broca-da-cana nos canaviais (DESSOKY *et al.*, 2020; IQBAL *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2022; HORIKOSHI *et al.*, 2022, VERMA *et al.*, 2022).

A CTC9001 e a RB867515 embora não tenham evidenciado efeito significativo, apresentaram redução da Pureza do Caldo extraído, à medida que se elevou o I.I.B..

Os Açúcares Redutores Totais (ART) representam a quantidade total de açúcares presentes no caldo (sacarose, glicose e frutose) (DORNEMANN, 2016).

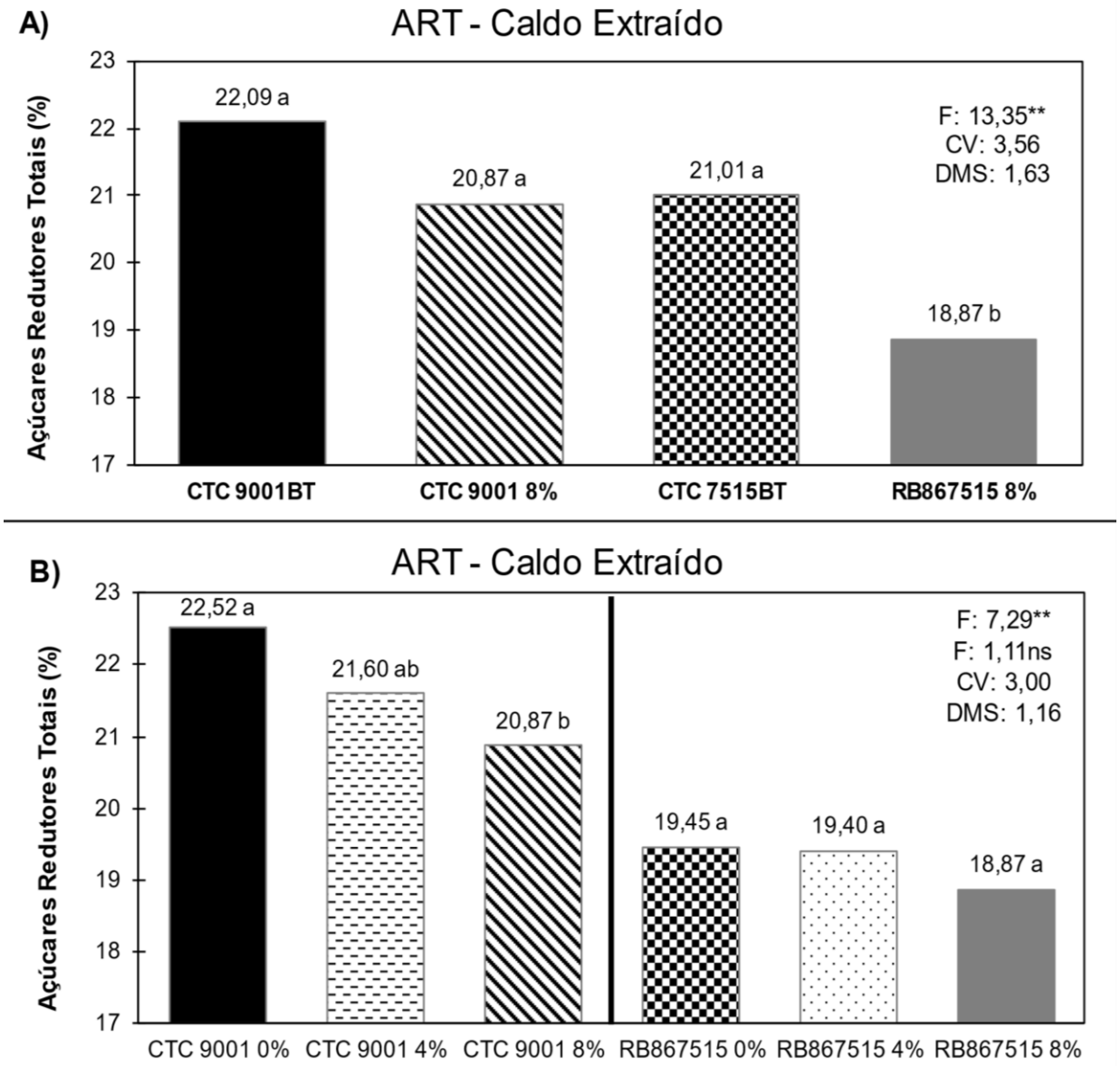
De acordo com a Figura 05, os valores médios de ART estavam dentro da faixa de 15-24% indicada como ideal para o processamento industrial (SILVA *et al*., 2015). As concentrações apresentaram diferenças significativas para RB867515 8% I.I.B., com um decréscimo de 10,19% em relação a variedade BT. O controle da broca-da-cana pode proporcionar um ganho de 7,91% para CTC9001 em comparação a mesma matéria-prima com 8% I.I.B..

Figura 04 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Pureza Aparente do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Figura 05 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Açúcares Redutores Totais do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

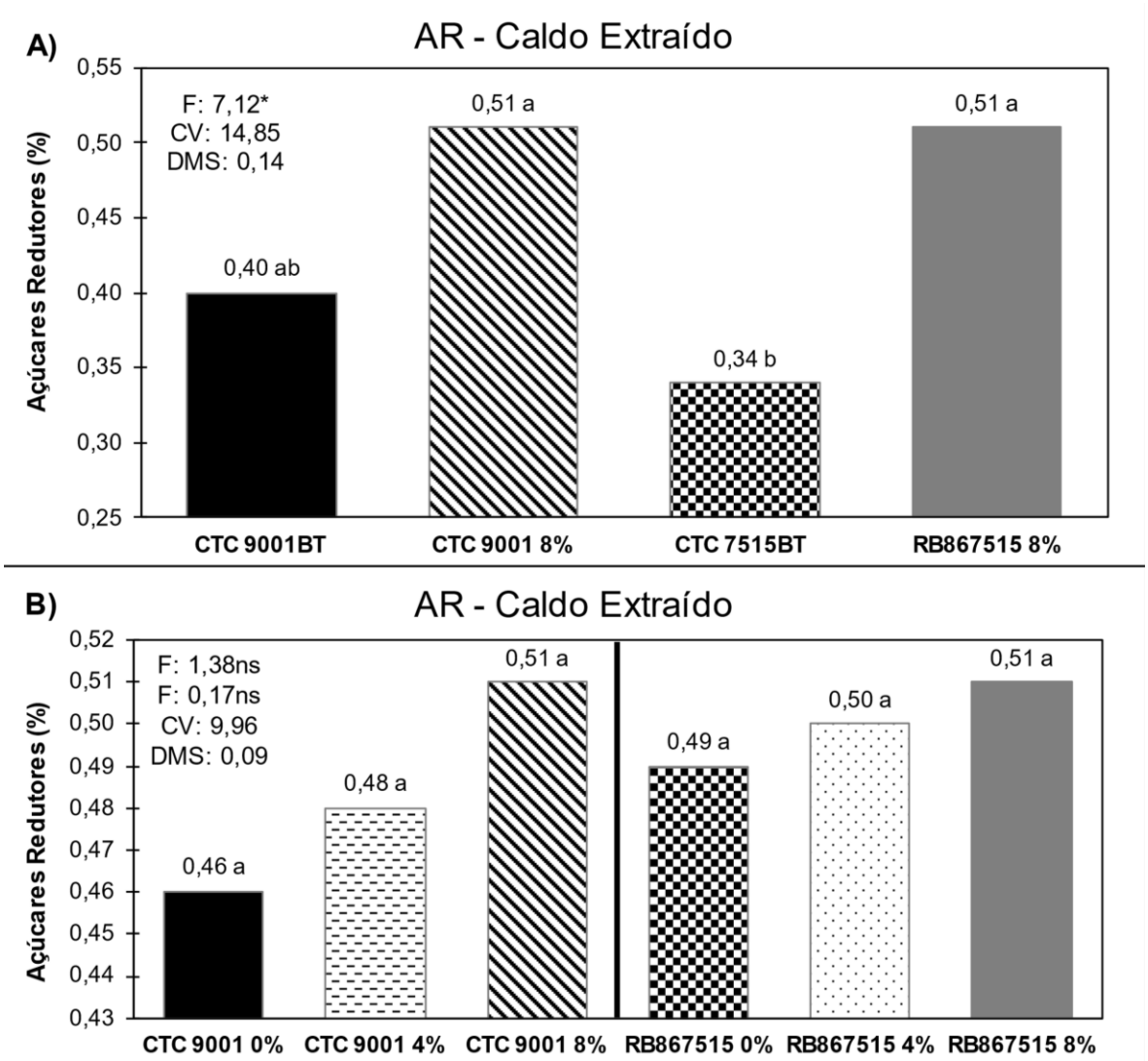


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Os Açúcares Redutores (AR) são carboidratos que devido à presença de grupos carbonílicos e cetônico livres, podem se oxidar na presença de agentes oxidantes em meio básico. A maioria dos métodos clássicos de quantificação estão fundamentados na redução de íons cúpricos presentes na solução de Fehling (SILVA *et al.*, 2003). Na cana-de-açúcar tais açúcares são representados pela glicose e frutose.

De acordo com Amorim (2006), a concentração ideal de AR para o processamento industrial deve ser menor que 0,80%. Desta forma, todos os tratamentos apresentaram valores menores, possibilitando seu emprego no processamento industrial (Figura 06).

Figura 06 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Açúcares Redutores do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

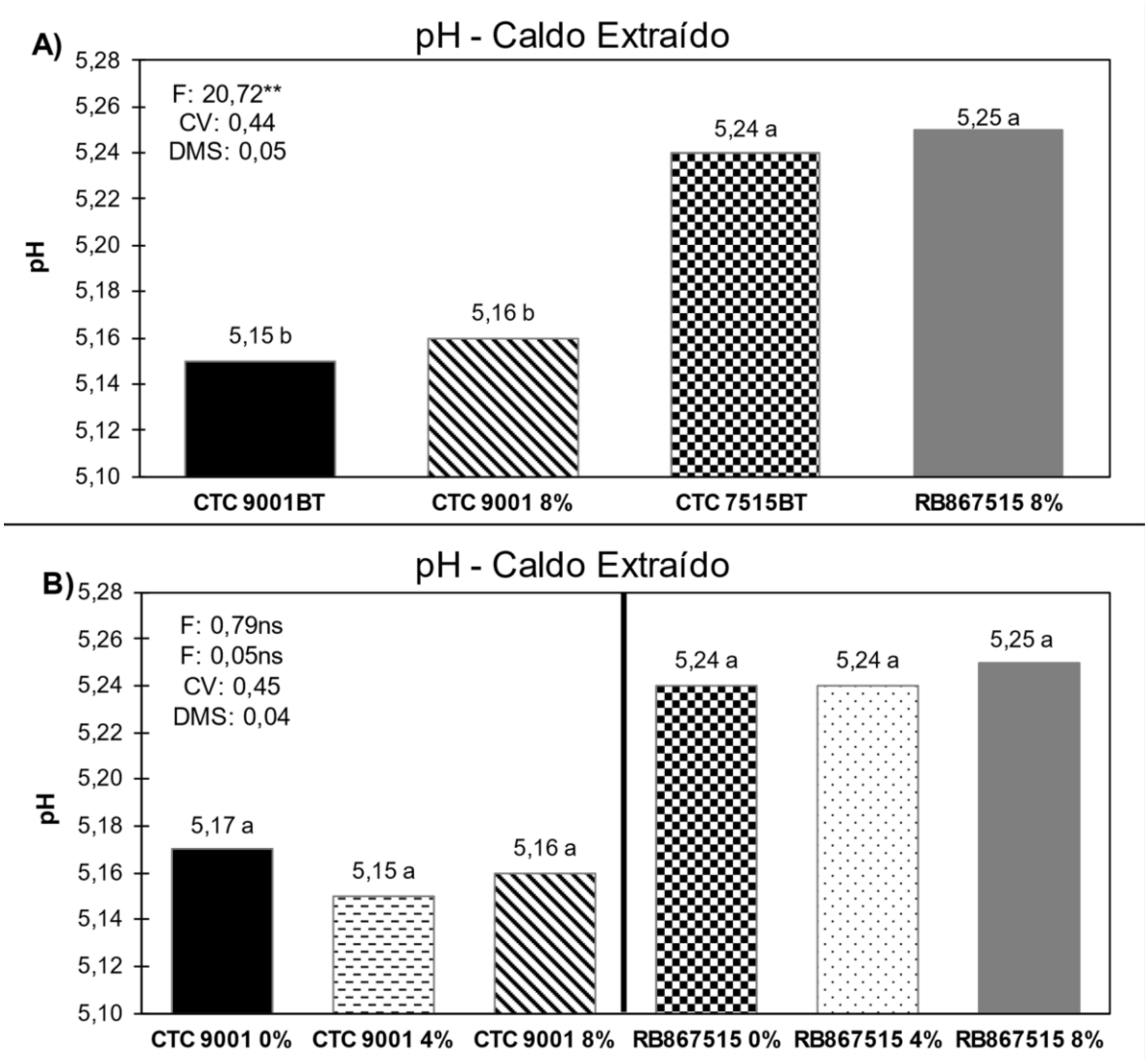


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Conforme se observa na Figura 06.A, os menores valores de AR foram determinados para CTC9001BT e CTC7515BT, apresentando uma diferença de 27,50 e 50,00% em relação as canas convencionais, respectivamente.

Os valores de pH dos caldos extraídos são excelentes indicadores da maturação e qualidade dos colmos colhidos. Os resultados médios obtidos (Figura 07) indicam que a matéria-prima de todos os tratamentos estavam aptas para processamento, apresentando valores entre 5,0 a 5,5 (AMORIM, 2005).

Figura 07 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para pH do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

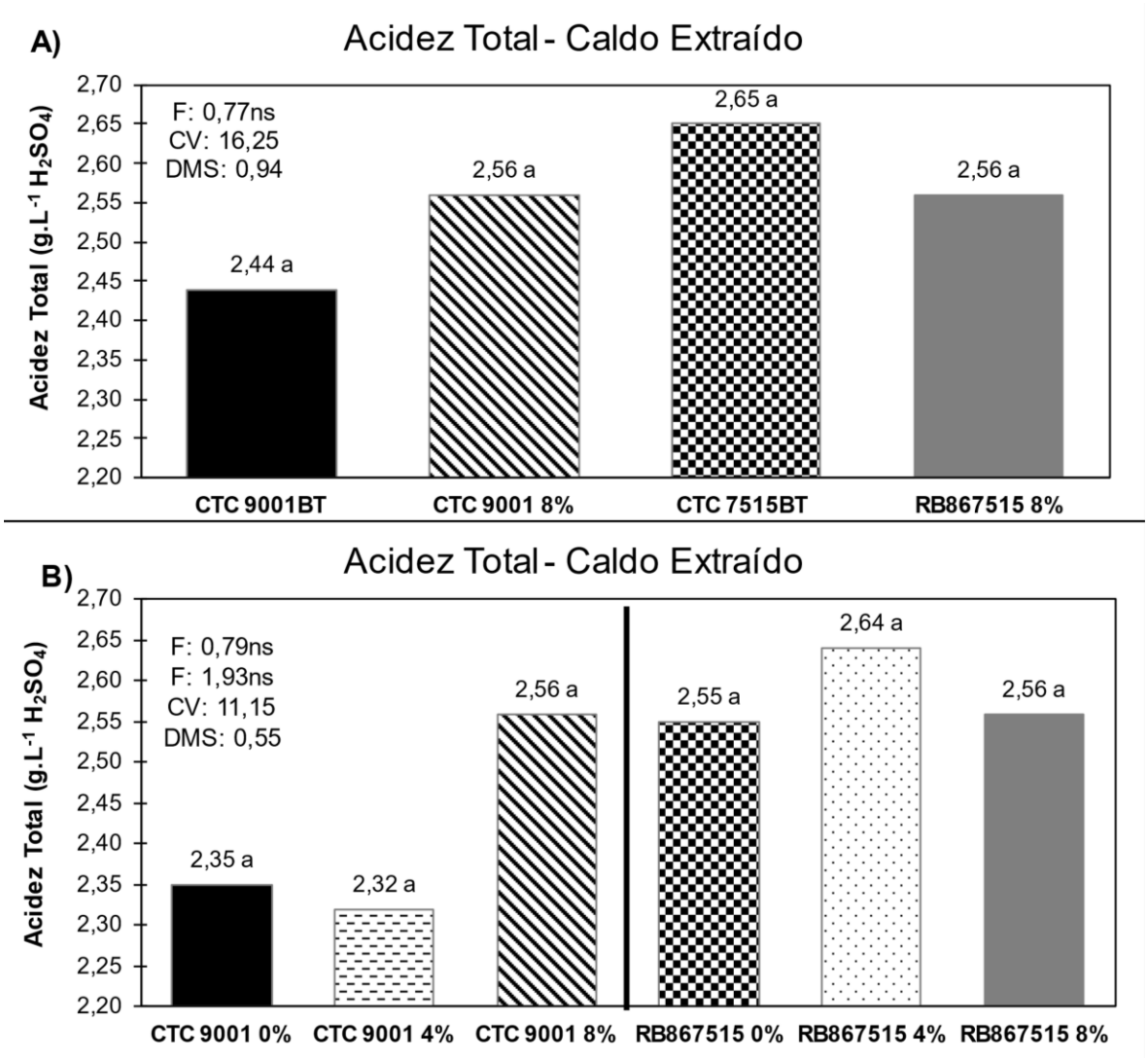


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Os ácidos orgânicos são compostos regularmente encontrados em pequenas quantidades nos caldos de cana-de-açúcar. Assim como o pH, a Acidez Total também pode ser utilizada para identificar se a matéria-prima está no ponto de maturação ideal ou deteriorada.

Os valores obtidos para o caldo extraído não apresentaram efeito significativo entre os tratamentos (Figura 08). Se considerarmos que os teores devem ser menores ou iguais a 0,8 g.L^{-1} H_2SO_4 (DELGADO e CÉSAR, 1977), as médias dos caldos estavam superiores a esta referência.

Figura 08 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Acidez Total do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

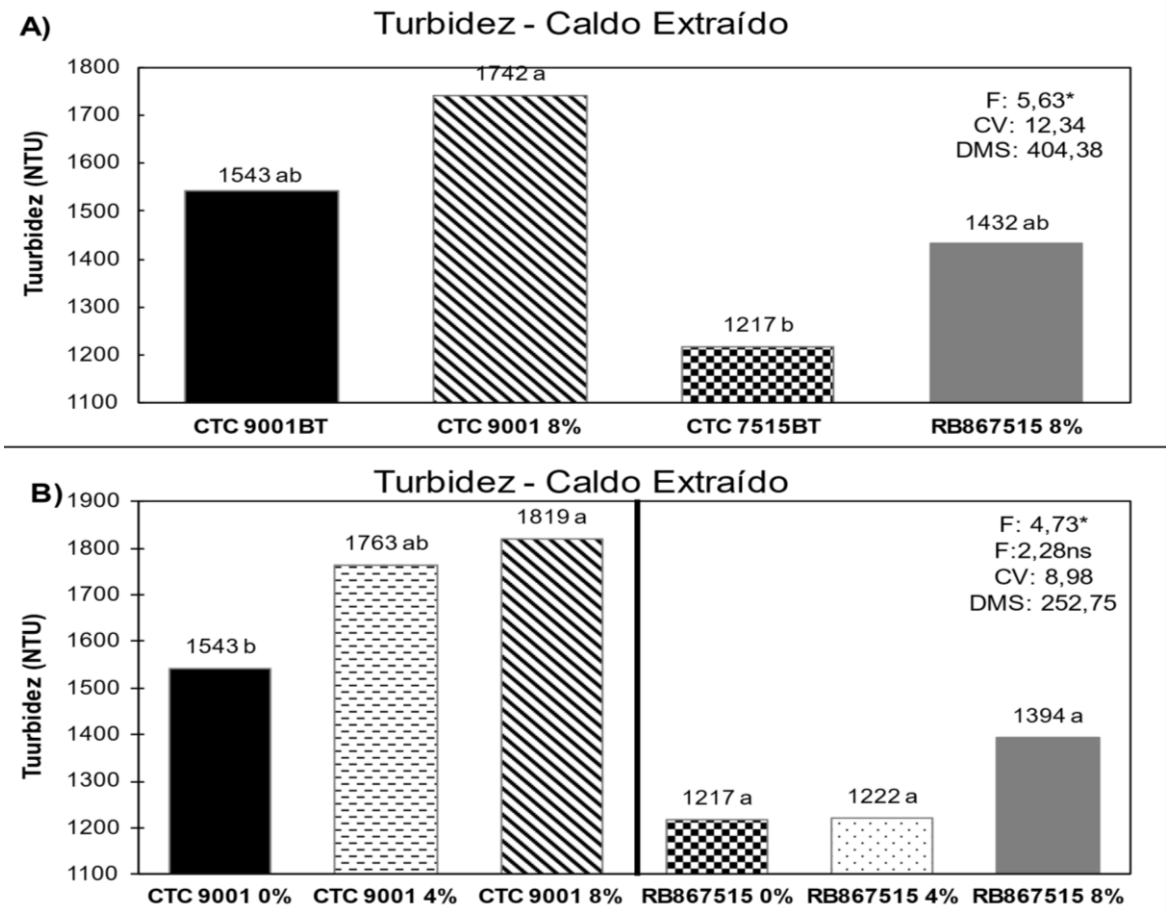


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Azevedo *et al.* (2018a), ao trabalharem com as variedades RB92579 e SP91-1049, relataram teores médios de 1,53 e 1,69 $g.L^{-1}$ H_2SO_4, respectivamente. Já Barizi (2021) ao trabalhar com a variedade CV 7870 obteve valores entre 1,85 e 2,15 $g.L^{-1}$ H_2SO_4. Tais resultados colaboram com as médias encontradas no presente estudo, sugerindo que dependendo da variedade e condições ambientais, o teor de ácidos orgânicos pode ser maior que a concentração citada por Delgado e César (1977).

A Turbidez representa os teores de substâncias em suspensão, presente em uma solução. Sendo assim, quanto menor o seu valor, mais límpido e transparente será o caldo extraído. Os resultados quantificados demonstram que as maiores médias foram determinadas para CTC9001 8% I.I.B. e RB867515 8% I.I.B., apresentando resultados 12,90 e 17,67% maiores que as suas BT engenheiradas, respectivamente (Figura 09).

Figura 09 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Turbidez do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

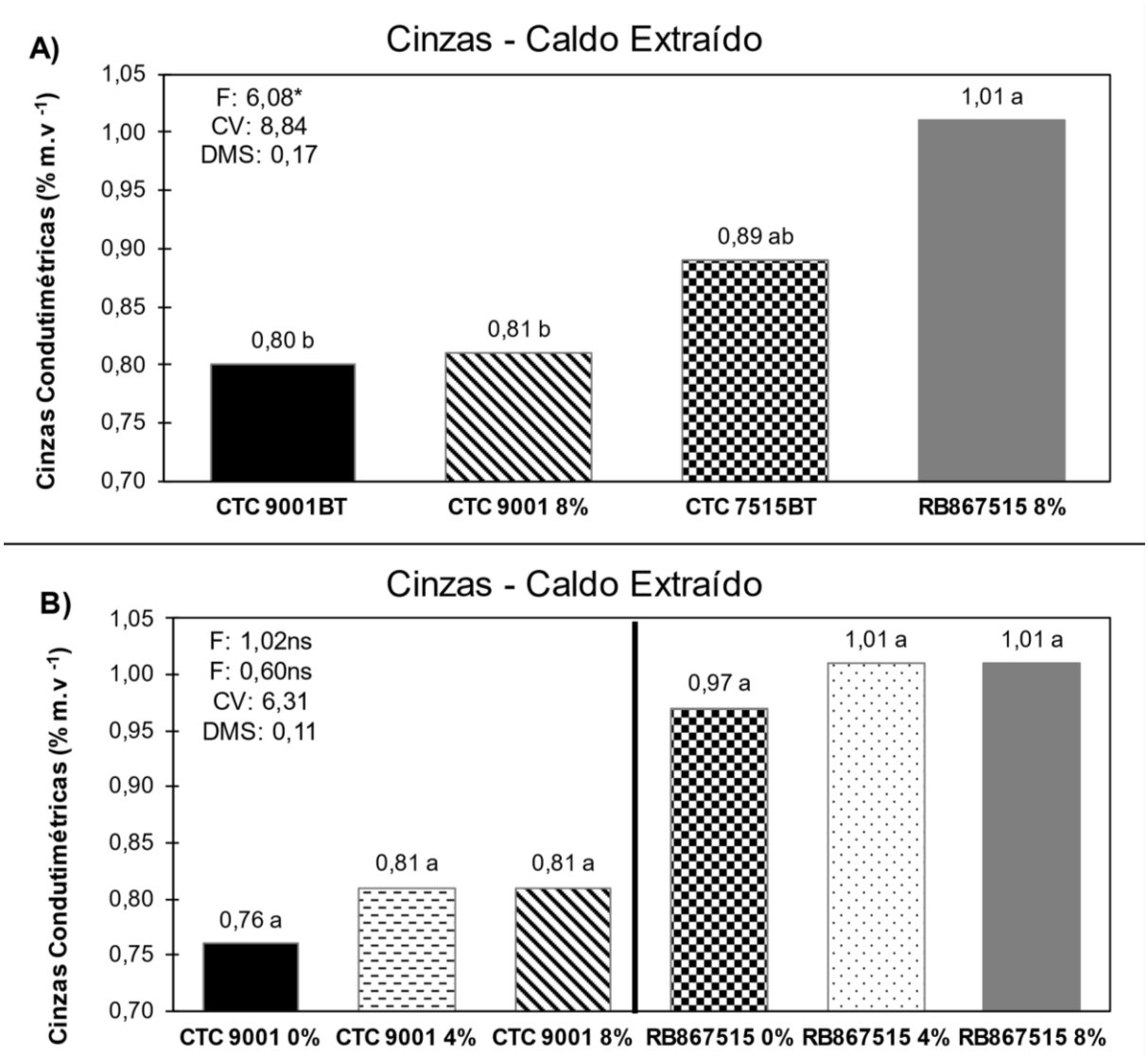


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Houve diferença estatística entre os teores médios de Turbidez para CTC9001 com 4 e 8% I.I.B., sendo 14,26 e 17,89% superiores ao caldo dos colmos com ausência de ataque de pragas (Figura 09.B).

A determinação dos teores de cinzas é utilizada para quantificar os teores de substâncias inorgânicas presentes no caldo da cana. Altas concentrações de cinzas é um fator negativo à cristalização do açúcar (VALSECHI, 1995), pois a recuperação da sacarose torna-se mais difícil de ser realizada.

Figura 10 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Cinzas Condutimétricas do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Analisando-se as concentrações de cinzas no caldo extraído (Figura 10.A), verifica-se que RB867515 8% apresentou teor médio 13,48% superior à CTC7515BT. Canas BT, embora não tenham apresentado diferenças significativas, tiveram maiores teores. Os resultados evidenciaram tendência semelhante aos observados para o teor de cinzas (Figura 09.A). Este comportamento evidencia certa relação entre estes parâmetros, ou seja, elevadas concentrações de substâncias inorgânicas normalmente comprometem a turbidez das soluções. Deve-se destacar a importância deste conhecimento, quando se pretende destinar este caldo para a produção de açúcar, em especial, tendo em vista os problemas que as cinzas podem provocar durante este processamento industrial.

O amido é polissacarídeo natural do metabolismo das plantas formado por moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas (AZEVEDO *et al.*, 2018b). De modo semelhante ao considerado para cinzas, deve-se ressaltar que elevados teores de amido contribuem para diversos prejuízos por ocasião do processamento industrial, desta matéria-prima. As dificuldades operacionais normalmente ocorrem desde o tratamento do caldo até as etapas de evaporação do caldo e cozimento do xarope, que são determinantes para a produção do açúcar. Menores teores de amido podem favorecer uma melhor recuperação da sacarose, resultando em cristais de açúcar de melhor qualidade (BORGES *et al.* 2016).

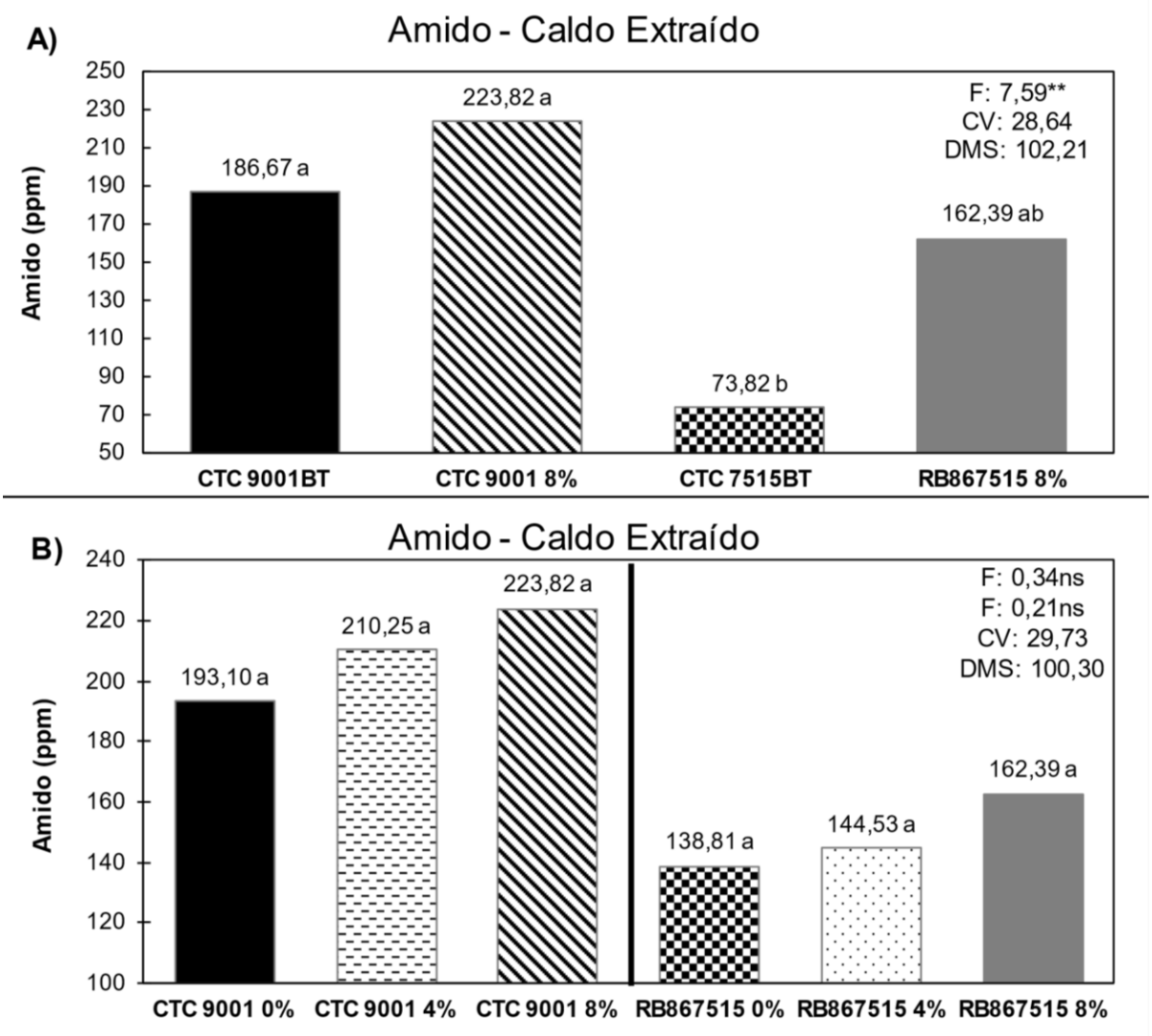
Os resultados determinados para teor de Amido, não apresentaram diferenças significativas entre os índices de infestação (Figura 11.B), embora apresentassem a tendência de com maiores I.I.B. terem maiores teores de Amido no caldo. O valor médio quantificado para CTC7515BT foi estaticamente menor que a RB867515, da ordem de 54,54%, sendo que a CTC9001BT também apresentou médias menores que a CTC9001, embora não significativa. Estas reduções são extremamente importantes, pois, num contexto de elevadas eficiências, rendimentos e produtividade de açúcar, é desejável que as concentrações estejam na faixa de 10 a 500 ppm no caldo extraído quando se objetiva o processamento industrial destes colmos (Amorim, 2005).

Os compostos fenólicos são substâncias presentes nos vegetais, que são mais intensamente produzidos quando a planta sofre ataques de pragas e doenças, ou injúrias mecânicas e/ou químicas. Estas biomoléculas são consideradas as que mais afetam a cor do caldo extraído dos colmos de cana. Como consequência da sua presença, em elevadas concentrações, verifica-se a produção de açúcares com colorações mais escuras, razão pela qual o cristal produzido é desqualificado quanto ao parâmetro qualitativo. De acordo

com Clarke e Legendre (1996) e Leite (2000), cerca de 60-75% da cor dos cristais é proveniente destes compostos.

Relatos de Ravaneli *et al.* (2011), apontam para concentrações de compostos fenólicos no caldo de cana da ordem de 400 ppm. Neste estudo, os valores quantificados foram muito superiores, conforme Figura 12.

Figura 11 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para teor de Amido do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

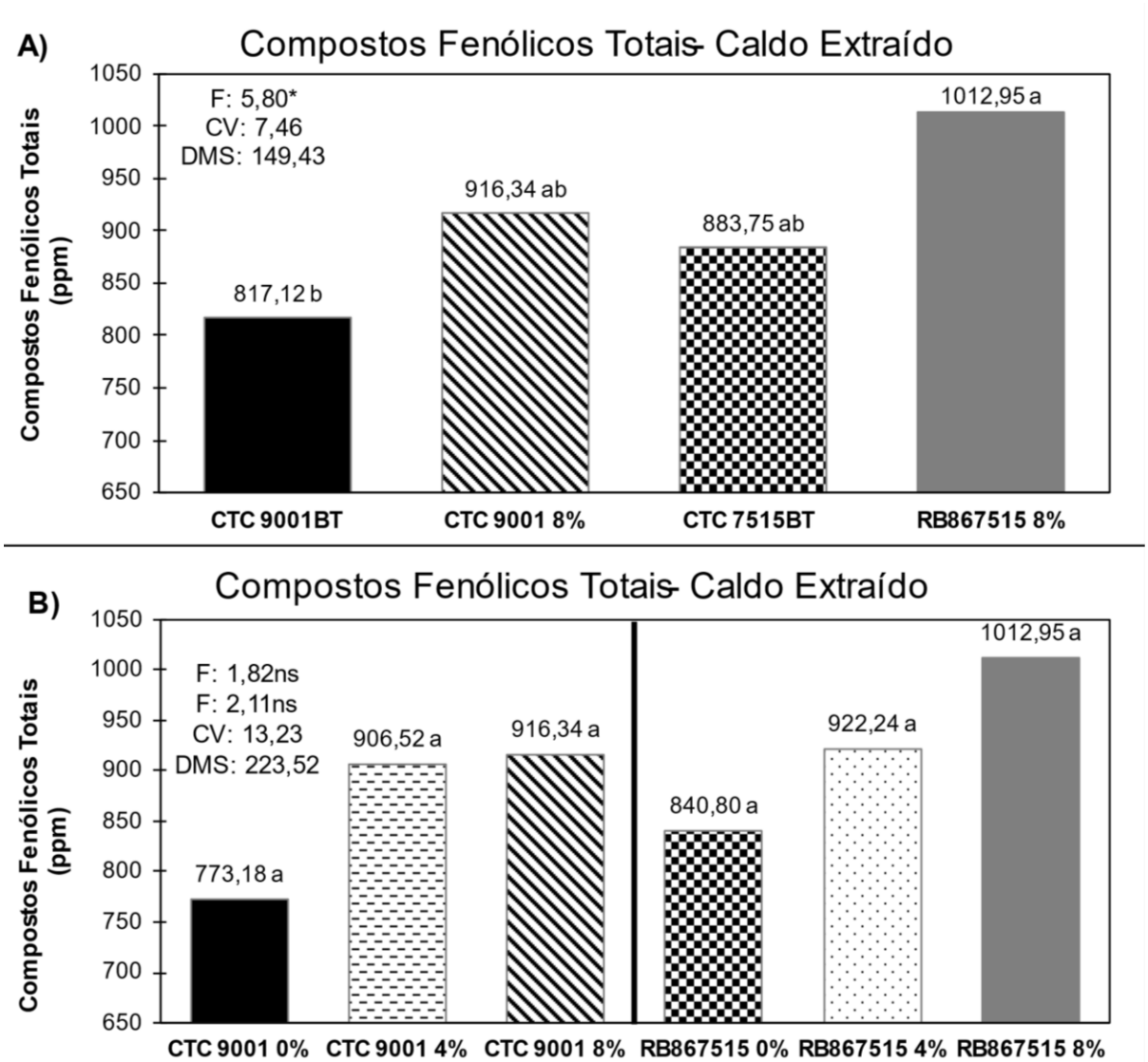


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

O caldo obtido dos colmos de CTC9001 e RB867515 infestados com 8% I.I.B., apresentaram valores de Compostos Fenólicos Totais 12,14 e 14,62% superiores, em

relação as canas BT (Figura 12.A). Apesar de não haver diferença significativa entre os índices de infestação nas canas convencionais, nota-se que com 8% de broca-da-cana houve um aumento de 18,52 e 20,24% em relação aos colmos sem ataque de pragas (Figura 12B).

Figura 12 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Compostos Fenólicos Totais do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



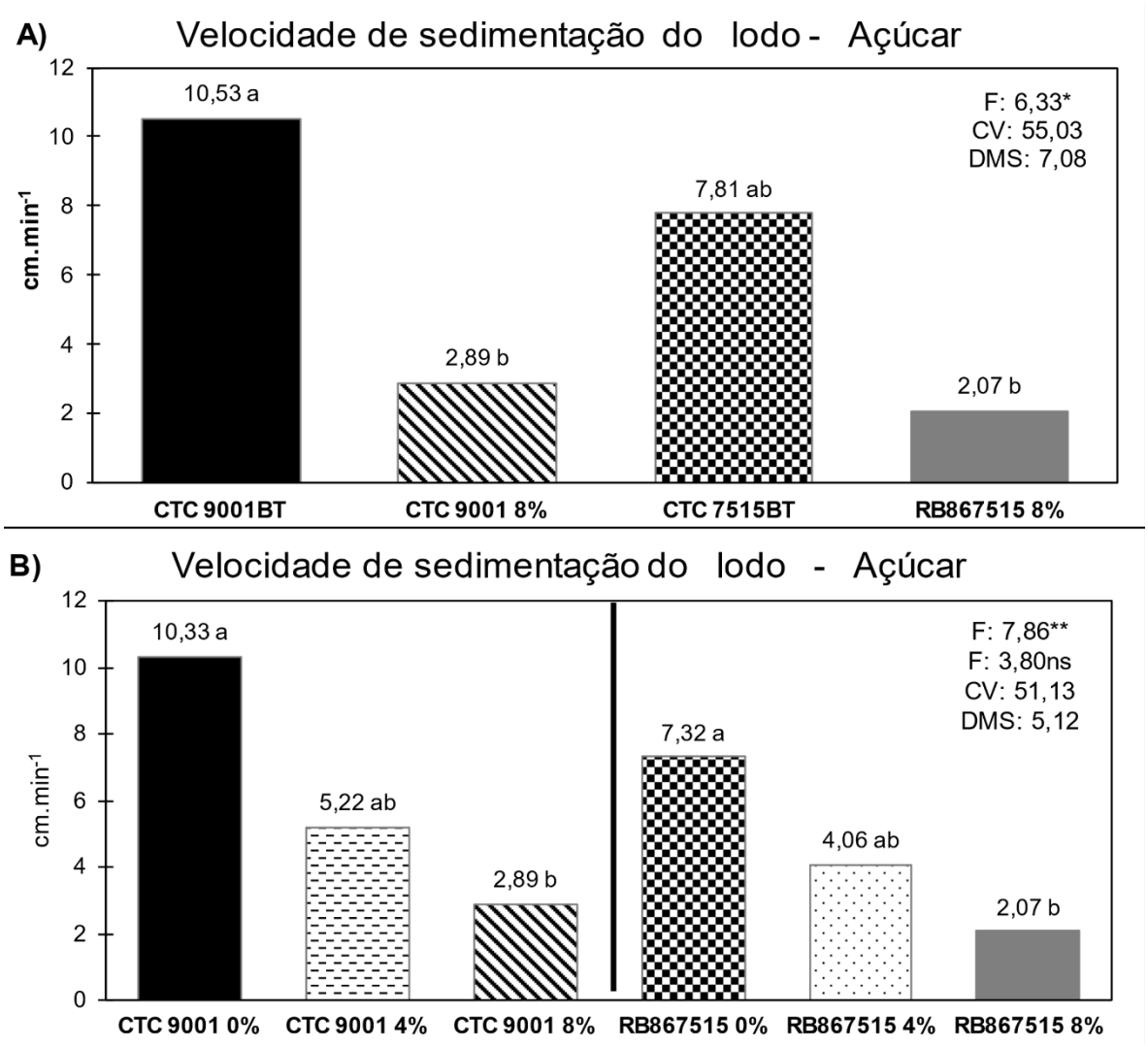
Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < 0,01). * significativo ao nível de 5% de probabilidade (0,01 =< p < 0,05). ns não significativo (p >=0,05). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Testes de velocidade de sedimentação permitem avaliar a qualidade da matéria-prima ou produtos utilizados pela Usina na etapa de clarificação. Desta forma, através de

comparações da eficiência deste processo, pode-se identificar as variáveis que afetam a decantação do lodo após a purificação do caldo extraído (CTC, 2005).

Os valores médios para velocidade de sedimentação do caldo proveniente de CTC9001BT e CTC7515BT exibiram diferença significativa em relação as variedades convencionais com 8% I.I.B., com velocidades 264,00 e 277,29% superiores, respectivamente (Figura 13.A).

Figura 13 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Velocidade de Sedimentação após clarificação do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Ao se estudar o comportamento de CTC9001, verifica-se que a velocidade de sedimentação do lodo é afetada diretamente pelo aumento do índice de infestação (13.B). Níveis de 4% I.I.B. comprometeram a velocidade em 49,47%, enquanto 8% I.I.B. provocou decréscimo de 72,02%. O mesmo pode ser observado para RB867515, que obteve redução na velocidade em 44,54 e 71,72% para níveis de 4% e 8% I.I.B., respectivamente.

Esta constatação é de grande importância, pois confirma o impacto positivo e direto que a qualidade da matéria-prima tem sobre os processos industriais. Neste caso, verifica-se que os menores I.I.B. colaboram para um processo de decantação mais rápido do caldo tratado, impactando em menor tempo para realização da operação.

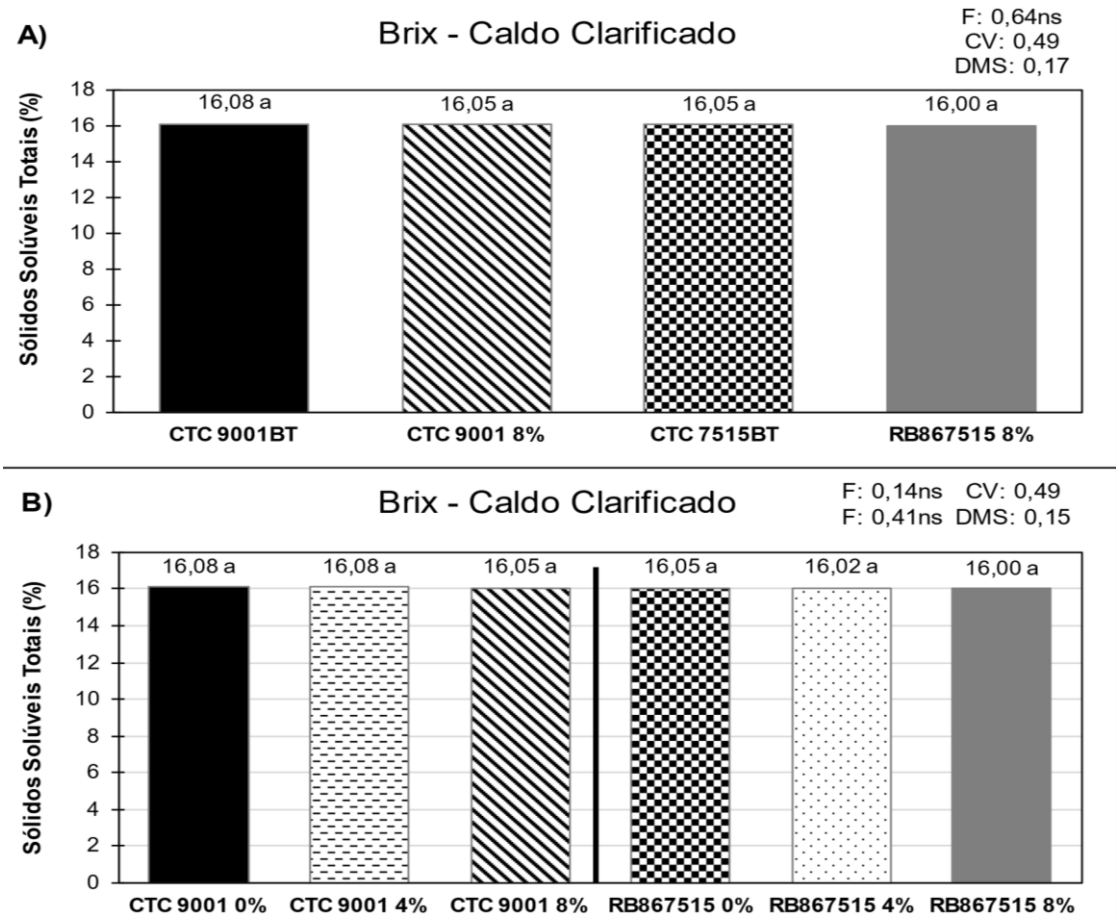
4.1.2 Caldo Clarificado

O caldo clarificado obtido após o processo de purificação foi submetido as seguintes análises: Brix, Pol, ART, Pureza, pH, Acidez Total, Cinzas, Turbidez, Teor de Amido e Compostos Fenólicos Totais. Os resultados encontrados estão representados graficamente nas Figuras 14 a 23.

Para otimizar o processo de clarificação, realizou-se a diluição do caldo extraído com água, padronizando-se a uma concentração de sólidos solúveis equivalente a 16°Brix. É desejado que o processo de tratamento do caldo promova a remoção de impurezas, sem afetar a concentração de açúcares. Conforme esperado, os resultados obtidos para Brix do caldo clarificado (Figura 14), indicam que não houve diferença significativa entre os tratamentos, uma vez que foram uniformizados.

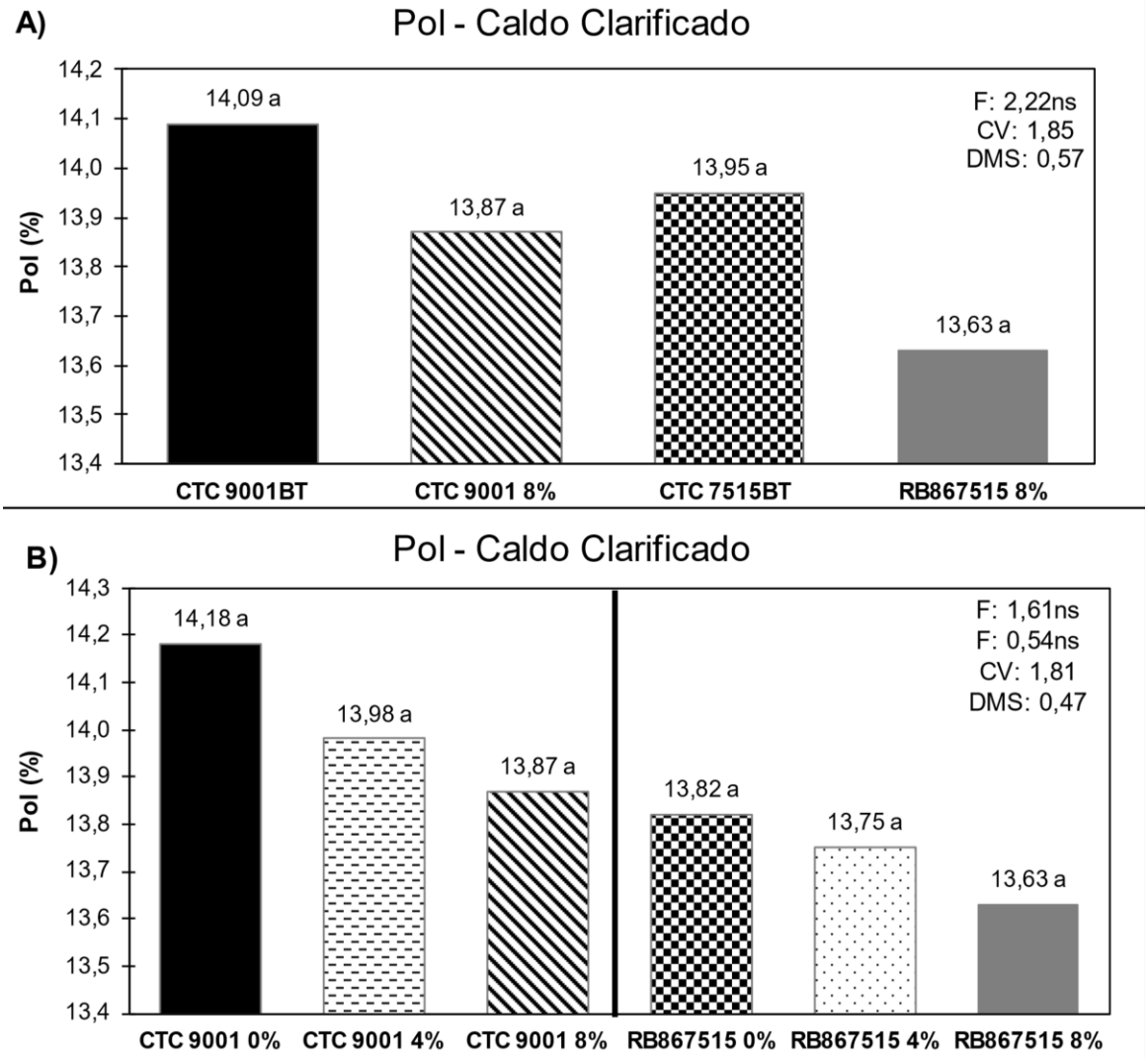
As médias de Pol e ART dos caldos clarificados foram menores do que os valores encontrados para o caldo extraído. Isto se deve a adição de água durante a purificação. Nesse contexto, analisando-se a Figura 15, observou-se que os tratamentos realizados, as médias de Pol do caldo clarificado não diferiu estatisticamente entre si, entretanto sem a presença de broca, sendo BT ou não, resultaram nos maiores valores médios. Comportamento a Pol do caldo clarificado ocorreu com o ART do caldo clarificado (Figura 16).

Figura 14 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Sólidos Solúveis Totais do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



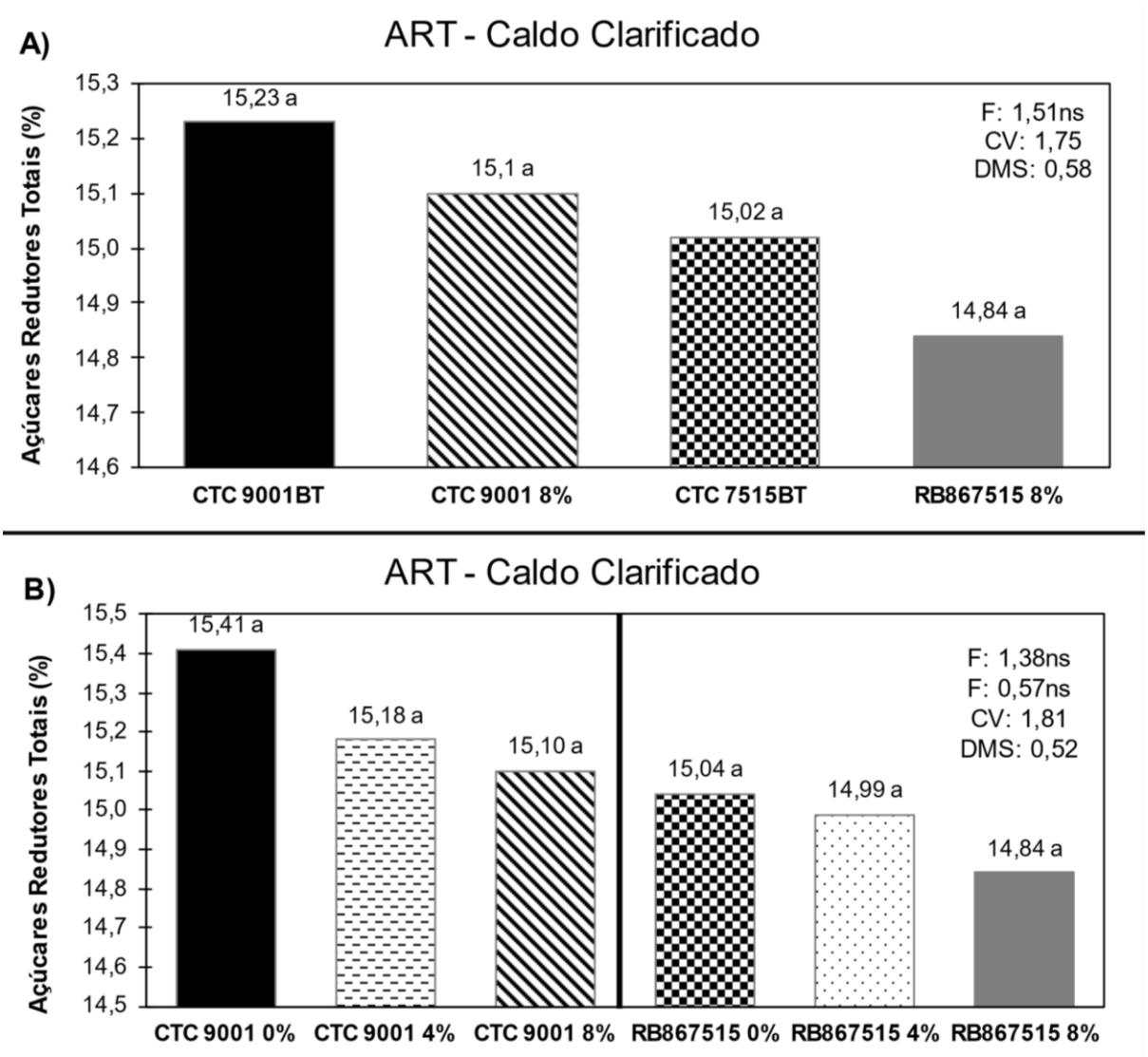
Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < 0,01). * significativo ao nível de 5% de probabilidade (0,01 =< p < 0,05). ns não significativo (p >=0,05). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Figura 15 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Pol Aparente do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

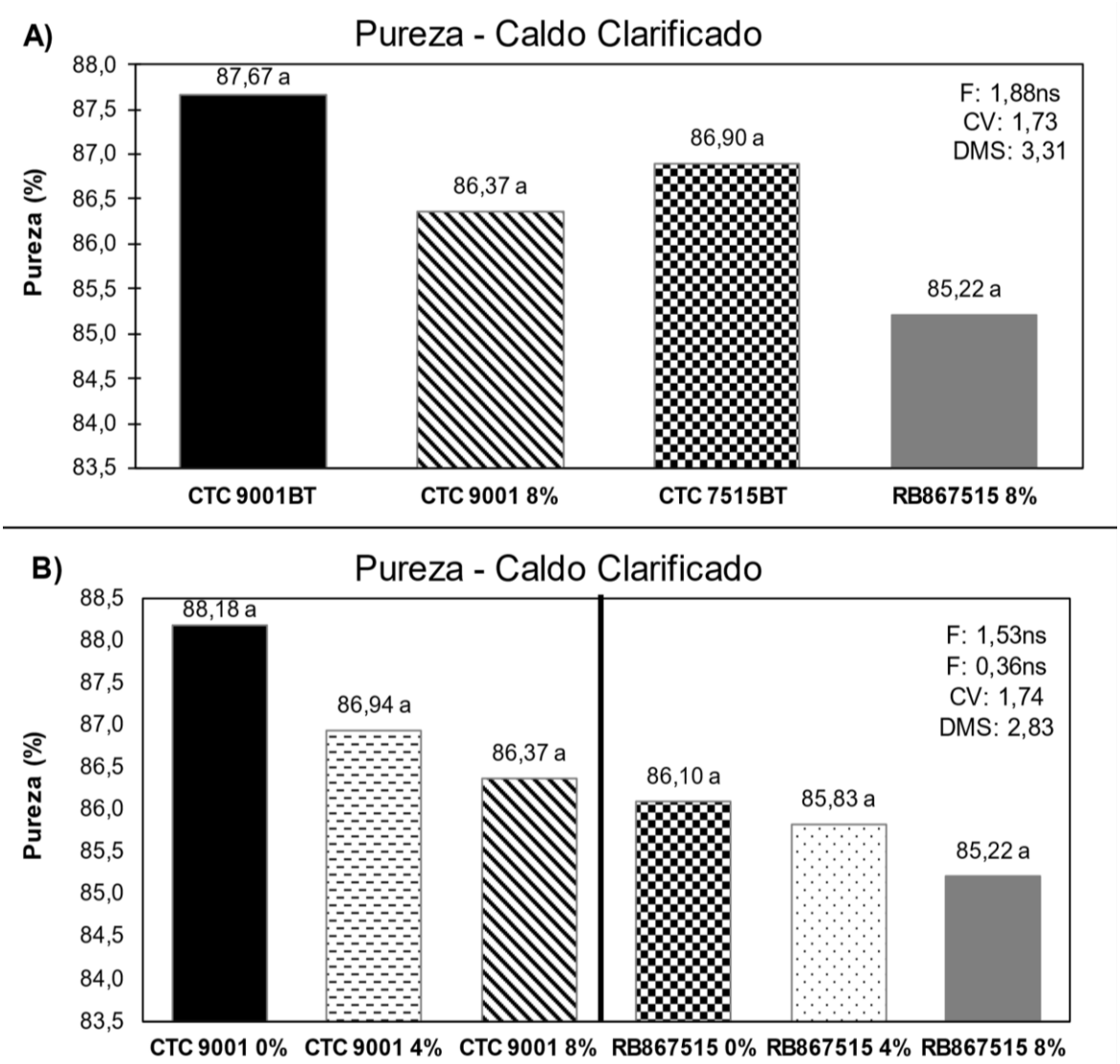
Figura 16 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Açúcares Redutores Totais do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

As concentrações determinadas para Pureza Aparente do Caldo clarificado (Figura 17), têm as mesmas tendências observadas para no caldo extraído (Figura 04). Apesar disto, não houveram diferenças significativos entre os tratamentos dos dois Ensaios, e do mesmo modo que para a Pol do caldo clarificado, as maiores médias foram observadas nos tratamentos sem a presença de broca nos colmos.

Figura 17 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Pureza Aparente do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

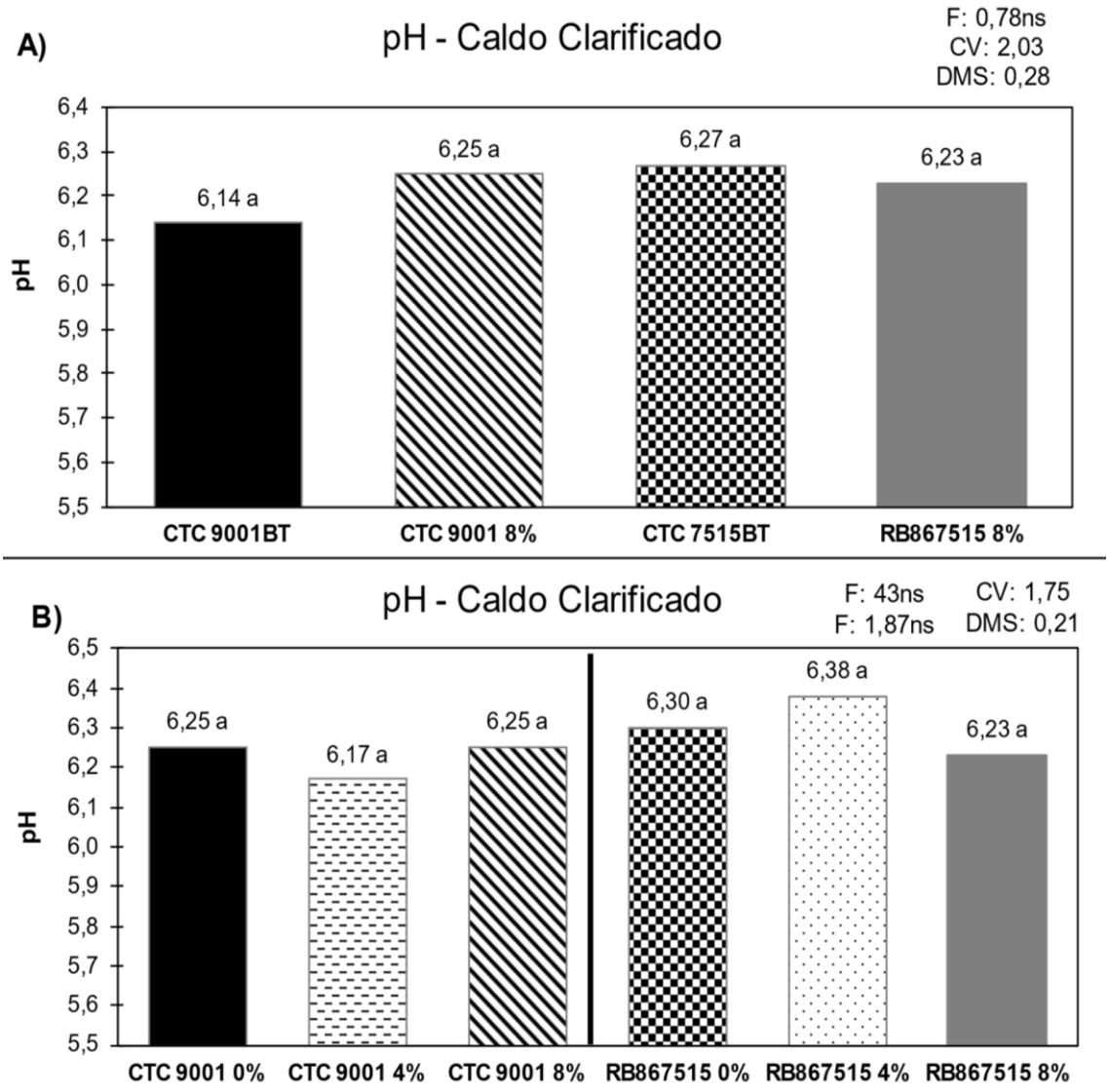


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < 0,01). * significativo ao nível de 5% de probabilidade (0,01 =< p < 0,05). ns não significativo (p >=0,05). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Para conservar e preservar a sacarose durante o processo de clarificação, é necessário que após a diluição do caldo extraído com água, o pH seja ajustado para 7,0 utilizando-se leite de cal. Os resultados apresentados na Figura 18, demonstram que todos os tratamentos tiveram uma redução do pH ajustado. Segundo Albuquerque (2011), tal fenômeno pode ocorrer devido a precipitação do hidróxido de cálcio que é eliminado junto ao lodo formado, durante a purificação do caldo.

Honig (1969) recomenda que os valores do pH do caldo não sejam inferiores a 6,0, uma vez que sob esta condição a sacarose pode sofrer hidrólise ácida e ser convertida em glicose e frutose (açúcares não-cristalizáveis). Os valores determinados no presente experimento apresentaram-se dentro da faixa recomendada para o processamento.

Figura 18 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para pH do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

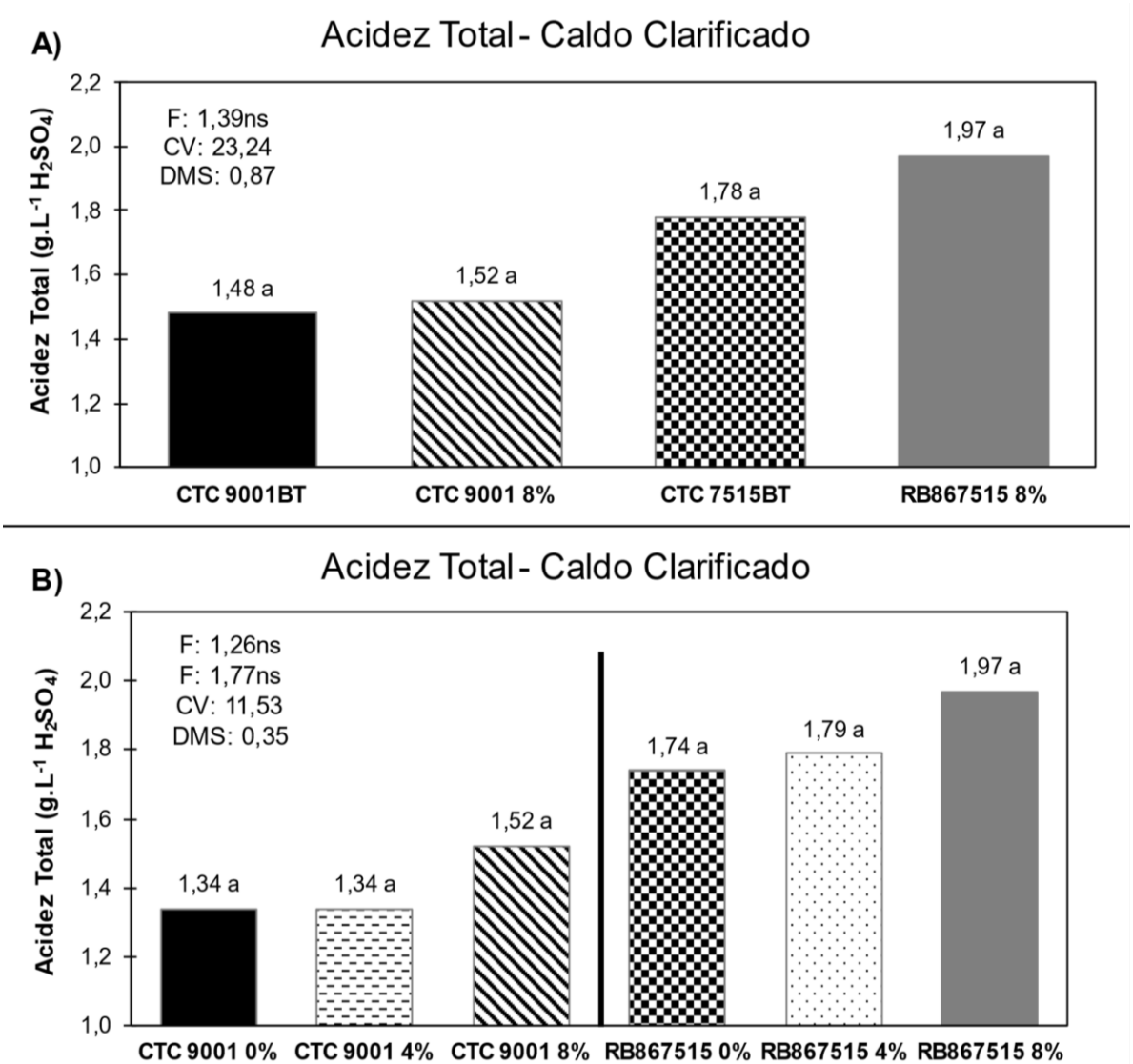


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Os teores de Acidez Total dos caldos clarificados (Figura 19) apresentaram reduções consideráveis em relação aos teores determinados para o caldo extraído (Figura 08). Este comportamento é esperado, uma vez que durante o processo de tratamento do caldo,

utiliza-se temperaturas na faixa de 100 a 105°C, que promovem a eliminação de diversos compostos voláteis, em especial ácidos orgânicos. Observa-se que as menores médias ocorreram para os tratamentos sem a ocorrência da broca ou com variedades BT.

Figura 19 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Acidez Total do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



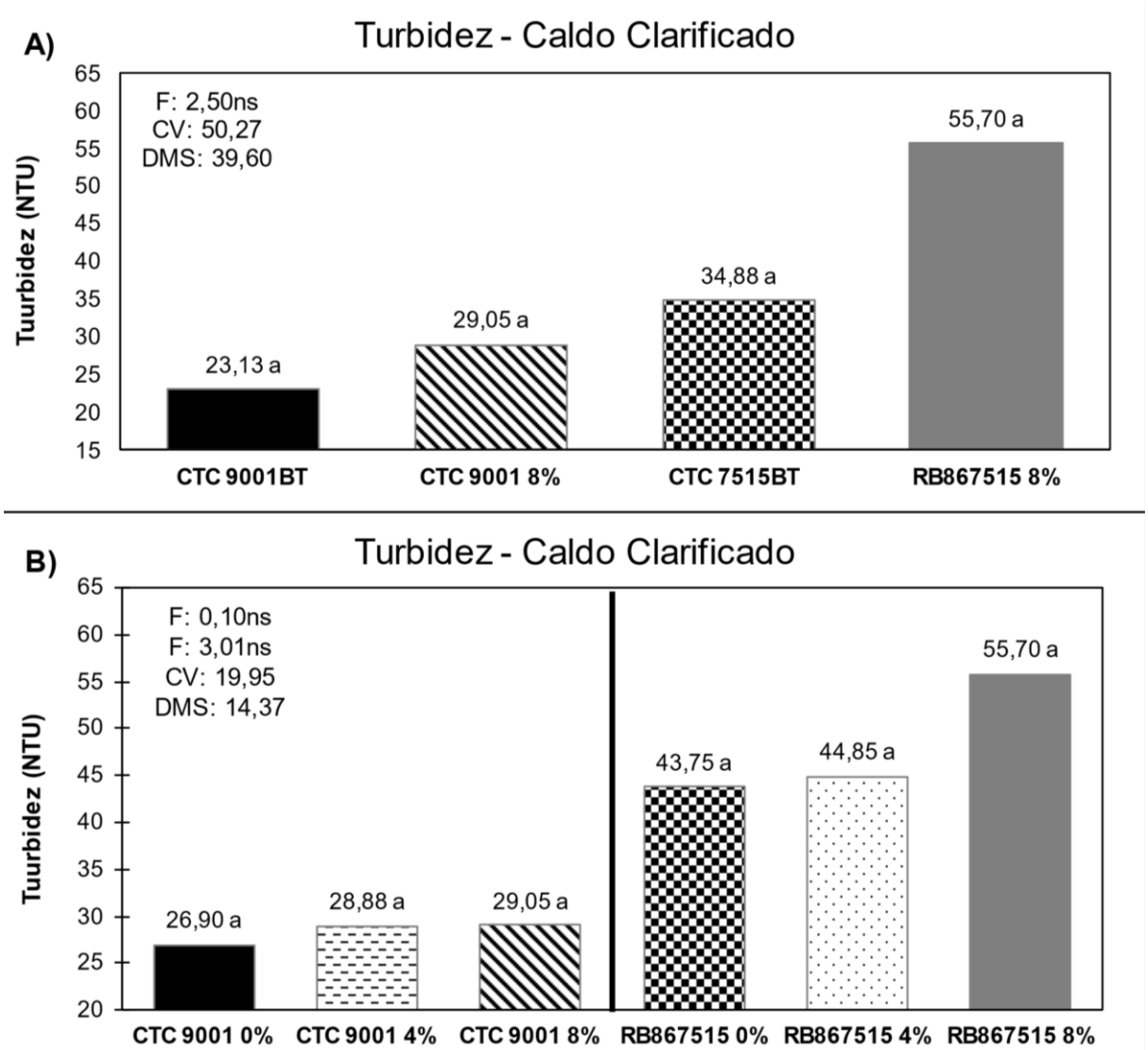
Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

A turbidez é a característica que determina a eficiência do processo de clarificação do caldo, graças a remoção de compostos não açúcares que estão dispersos no caldo,

como por exemplo gomas, amido, proteínas, cinzas, dentre outros, resultando numa solução mais translúcida (EGGLESTON, 2000).

Os resultados obtidos para Turbidez do caldo clarificado (Figura 20), demonstraram que, em relação ao caldo extraído, houve uma redução de mais de 96% da turbidez em todos os tratamentos. Não se verificou efeito significativo dos tratamentos efetuados, nos dois ensaios, entretanto, não houve diferenças entre os valores médios determinados (Figuras 20.A e 20.B). Pode-se constatar que os tratamentos com canas BT e 0% de I.I.B. apresentaram os menores valores médios de Turbidez.

Figura 20 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Turbidez do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

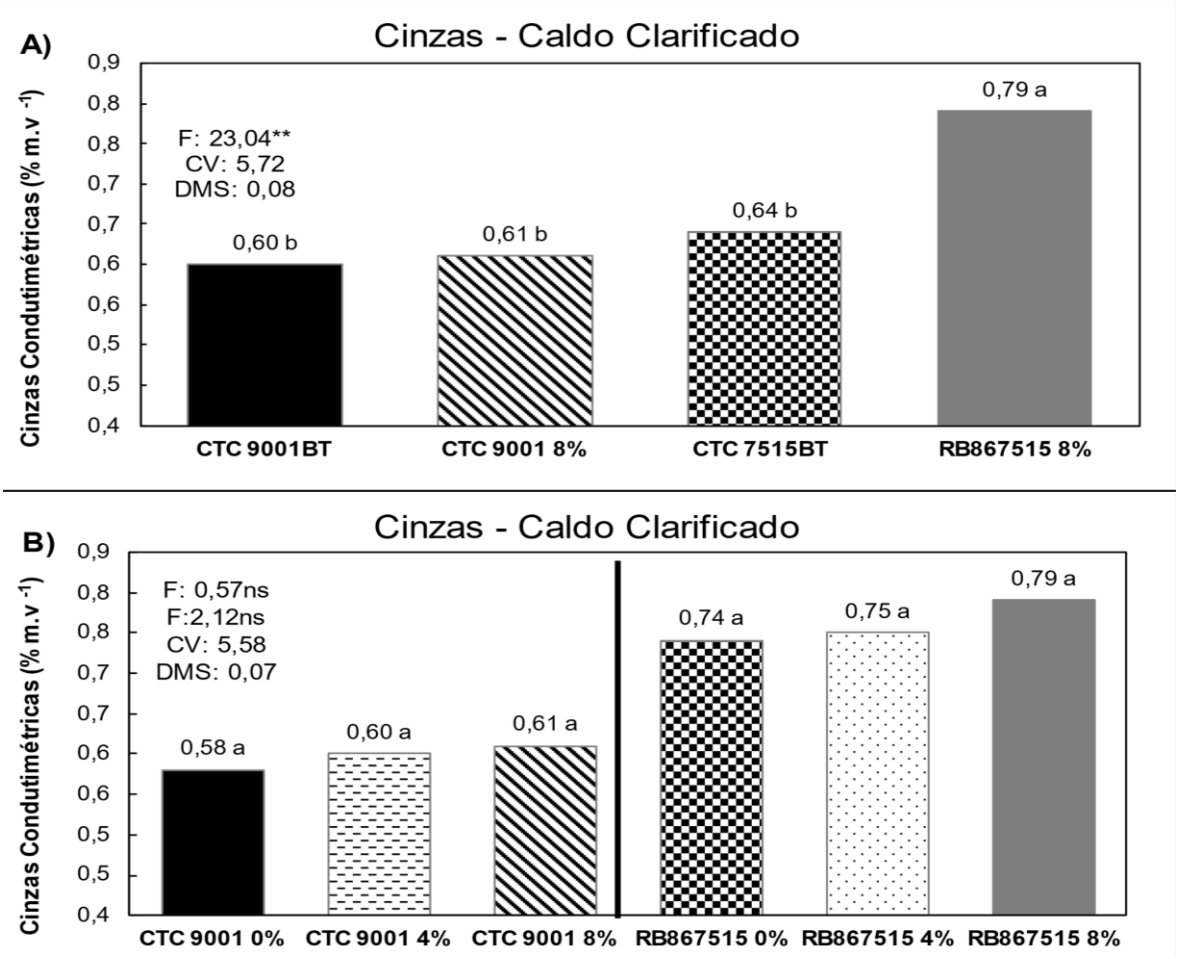


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

A determinação dos teores de Cinzas, tem como objetivo, avaliar a eficiência do tratamento do caldo, na redução dos percentuais destes componentes no caldo clarificado, uma vez que a presença destes elementos em grandes quantidades tem impacto negativo sobre a qualidade dos açúcares, trazendo consequências econômicas importantes às refinarias. Elevados teores de cinzas indicam a presença de matéria inorgânica e açúcar com menor pureza, e consequentemente menor valor comercial (EGGLESTON, 2000).

A análise comparativa das Figuras 10 e 21, evidencia a redução significativa dos teores de cinzas determinados no caldo clarificado, confirmando a importância da operação de clarificação. Os tratamentos que apresentaram os menores teores de Cinzas foram CTC9001 BT, CTC9001 0% I.I.B. e CTC7515BT.

Figura 21 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Cinzas Condutimétricas do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Quanto menor o teor de Cinzas encontrado nos caldos clarificados, melhor foi o processo de clarificação do caldo extraído. Caldos com baixos níveis de substâncias inorgânicas causam menor impacto na produção de açúcar, possibilitando melhor recuperação da sacarose.

Segundo Anyangwa *et al.* (1993) o amido é um polissacarídeo natural da cana-de-açúcar e sua concentração depende de diversos fatores como condições de crescimento, variedade da planta, solo de cultivo, método de colheita, dentre outros.

O amido é um polímero natural da glicose, pouco solúvel em água, a temperatura ambiente. Entretanto, por ocasião do processamento industrial, as temperaturas normalmente são superiores a 70°C, favorecendo a solubilização do amido e sua incorporação no caldo, na forma coloidal. Durante a operação de tratamento do caldo, visando a produção de açúcar e etanol as temperaturas atingem valores superiores a 95°C, favorecendo uma pequena remoção desse amido, sendo que a maior parte permanece no caldo.

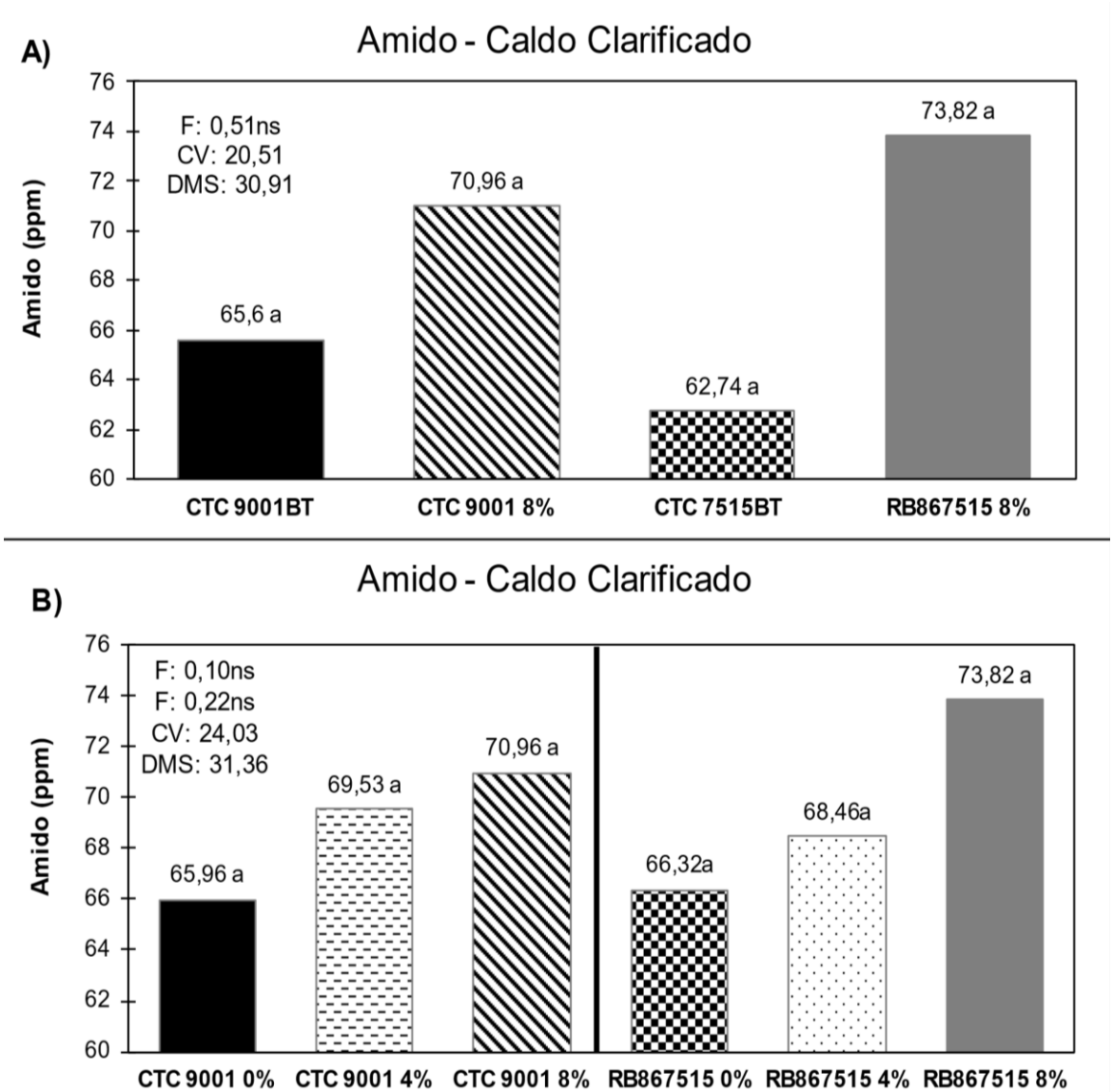
De acordo com Oliveira *et al.* (2007), os teores de amido no caldo para as variedades cultivadas no Brasil, variam entre 150 e 600 ppm. A presença do amido no caldo é indesejável para a produção do açúcar, em virtude dos efeitos negativos que promove no processo tecnológico de produção. Dentre estes, cabe destacar o efeito melassigênico positivo, ou seja, dificulta a recuperação da sacarose na forma de cristais, facilitando a solubilidade no mel, aumento da viscosidade dos méis, além de acarretar queda no rendimento da fermentação etanólica (MAGRO, 2005). Por esta razão, é fundamental que a remoção deste polissacarídeo, durante a clarificação do caldo extraído, seja eficiente.

Comparando-se com as concentrações de Amido do Caldo Extraído (Figura 11), com o Caldo Clarificado (Figura 22), observa-se que houve redução superior a 215% nos teores. Esta redução é decorrente do tratamento do caldo que favoreceu a eliminação desta biomolécula, resultando na melhoria do caldo clarificado, destinado ao processo produtivo. Os valores quantificados foram da ordem de 62,74 a 73,82 ppm estando dentro da faixa esperada em processos que não utilizam enzimas para a quebra deste polissacarídeo.

Analisando-se os resultados obtidos para teores de Amido no Caldo Clarificado (Figura 22), verifica-se que não houve efeito significativo entre os tratamentos efetuados nos dois ensaios, sendo que a CTC9001BT, CTC9001 0%I.I.B., CTC7515BT e RB867515 0%I.I.B. foram os tratamentos que apresentaram as menores médias.

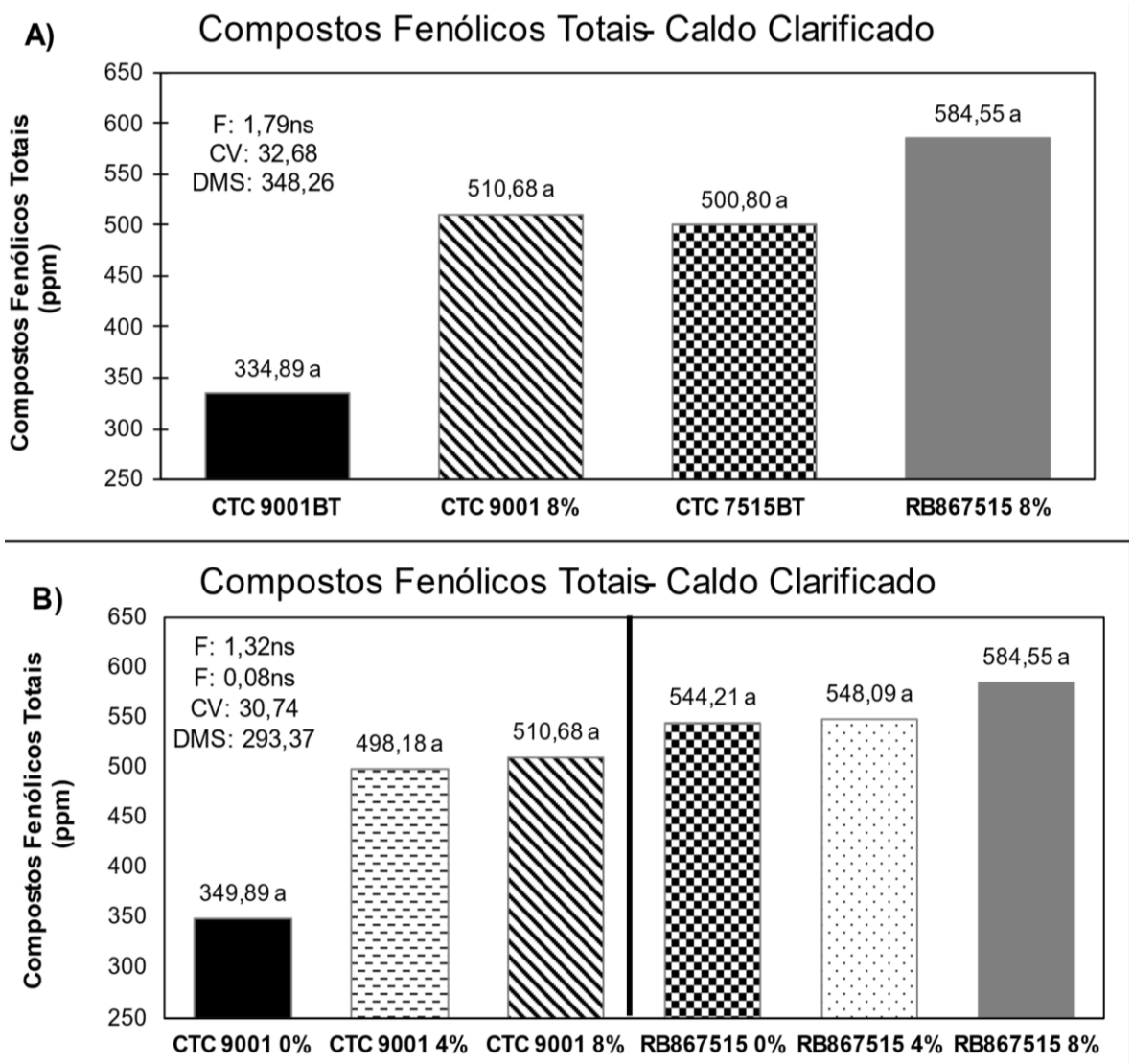
De acordo com a Figura 23, não houve efeitos significativos entre os tratamentos realizados para os teores de Compostos Fenólicos Totais no caldo clarificado. Os menores valores foram observados para CTC9001BT e CTC9001 0%I.I.B.

Figura 22 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para teor de Amido do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Figura 23 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Compostos Fenólicos Totais do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

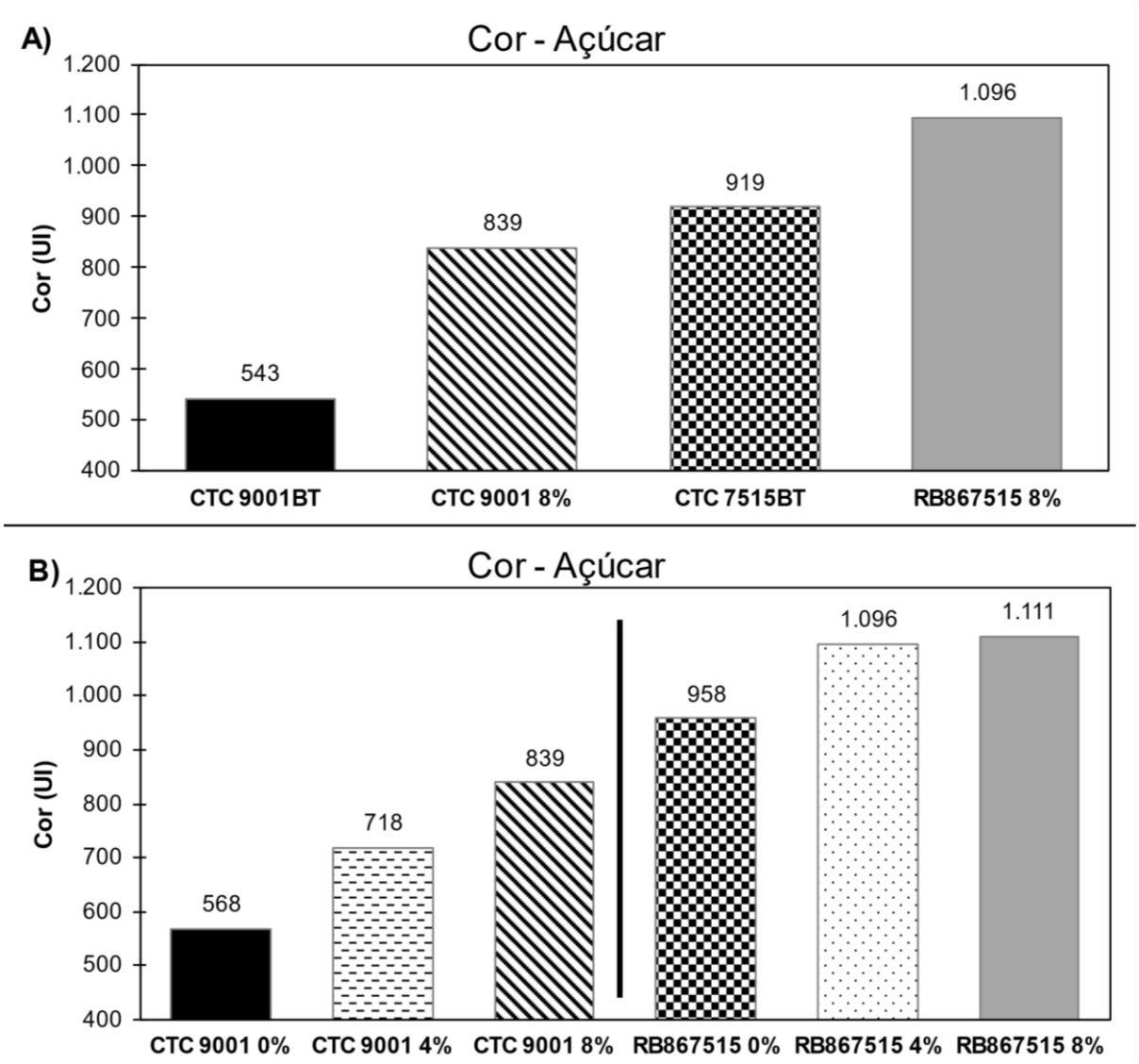
4.1.3 Qualidade do Açúcar

Uma vez preparado o xarope, realizou-se o cozimento e, através da cristalização, obteve-se a massa cozida, que foi submetida à centrifugação para separação dos cristais de açúcar e do melaço. Os cristais de açúcar foram secos e caracterizados quanto a Cor,

Pol, Cinzas, Turbidez, Teor de Amido e Compostos Fenólicos Totais. Os resultados médios obtidos estão representados através das Figuras 24 a 29.

O atual padrão oficial de classificação de cor ICUMSA dos açúcares (BRASIL, 2018; Anexo I), estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil, permite valores até 2500 UI para açúcar VHP (Figura 24). Desta forma, todos os cristais produzidos atenderam a legislação vigente.

Figura 24 - Valores determinados para Cor ICUMSA do açúcar VHP. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



De acordo com Santos (2008), a classificação do açúcar tem relação direta com as características físico-químicas e a coloração. Quanto menor for a cor, mais claro é o açúcar.

De modo semelhante, à medida que ocorre o amarelamento e/ou escurecimento dos cristais o valor aumenta (OLIVEIRA *et al.*., 2007), e a consequente redução da sua valorização comercial.

Açúcares com baixa Cor são essenciais para indústrias nas quais a presença de cor nos produtos acarreta impactos negativos ou prejuízos, tais como: bebidas alcoólicas, balas, refrigerantes, sorvetes, produtos farmacêuticos, entre outros (OLIVEIRA *et al.*, 2007). A cor pode influenciar também na decisão de compra do consumidor, que em geral opta por açúcares mais brancos (INMETRO, 2020).

Os cristais produzidos a partir do caldo das variedades transgênicas apresentaram baixa Cor, com valores 35,28 e 16,15% inferiores aos da CTC9001 8%I.I.B. e RB867515 8%I.I.B., respectivamente. Observando a Figura 24.B, podemos verificar que quanto maior o nível de infestação, maior é a cor dos cristais produzidos na indústria.

A Pol corresponde a porcentagem de sacarose presente no cristal de açúcar, sendo também utilizada para caracterizar e classificar, uma vez que cada tipo de açúcar possui um valor de Pol mínimo, expressa em °Z (graus Zucker). Neste sentido, de acordo com a legislação vigente, o açúcar VHP deve possuir teor mínimo em seus cristais de 99°Z (BRASIL 2018; ANEXO I). Os outros compostos que formam os cristais são representados por glicose, frutose, outros sacarídeos, polissacarídeos, amido, sais minerais, partículas sólidas minúsculas, água, entre outros (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Os cristais de açúcar produzidos durante esta pesquisa apresentaram valores de Pol da ordem de 95,77 a 98,68°Z, inferiores aos exigidos pela legislação para Açúcar VHP. Cabe destacar, que os cristais foram produzidos em escala de laboratório, em condições similares as de uma unidade industrial. Entretanto o cozedor em escala de laboratório não apresenta recursos técnicos que permitam a recirculação de méis (pobre e rico) possibilitando obter maior recuperação da sacarose nos cristais.

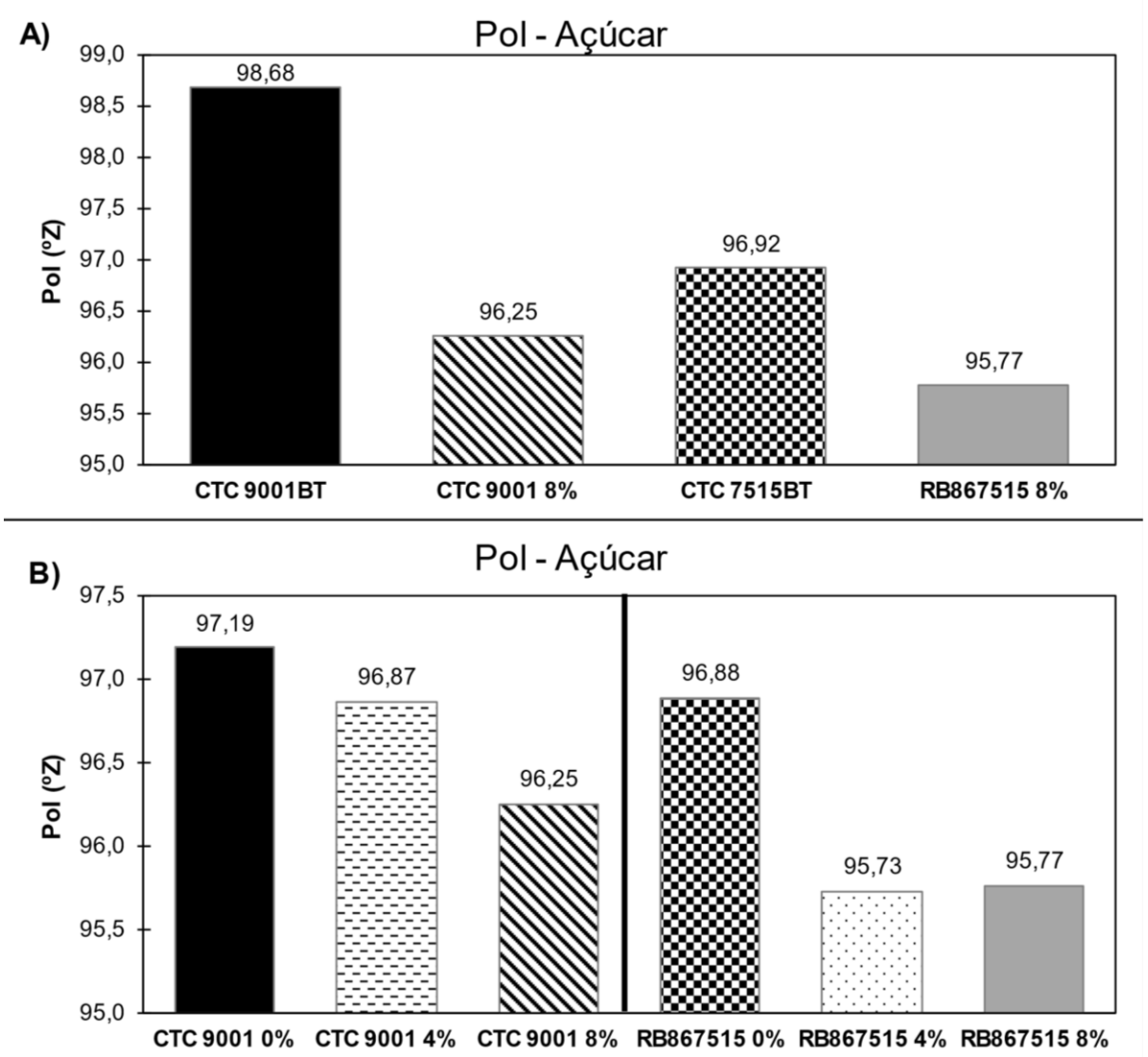
De acordo com os valores representados na Figura 25.A, o uso do caldo de CTC9001BT e CTC7515BT possibilitaram a produção de cristais com maior concentração de sacarose, que a CTC9001 8%I.I.B. e RB867515 8%I.I.B., respectivamente. Comportamento semelhante pode ser percebido com os tratamentos empregando-se variedades de cana convencionais, onde a ausência de danos por pragas levou a melhores teores de sacarose no açúcar (Figura 25.B).

O Teor de Cinzas (%) é determinado através da medida da condutividade elétrica do açúcar em uma solução aquosa de concentração conhecida (BRASIL, 2018). As cinzas presentes no açúcar representam o resíduo inorgânico que permanece, mesmo após o

processo de purificação do caldo, ou seja, é o resíduo inorgânico constituído pelos minerais presente nos caldos (CREXI, 2019). Segundo Madaleno (2011), estas são formadas principalmente por concentrações remanescentes de cálcio.

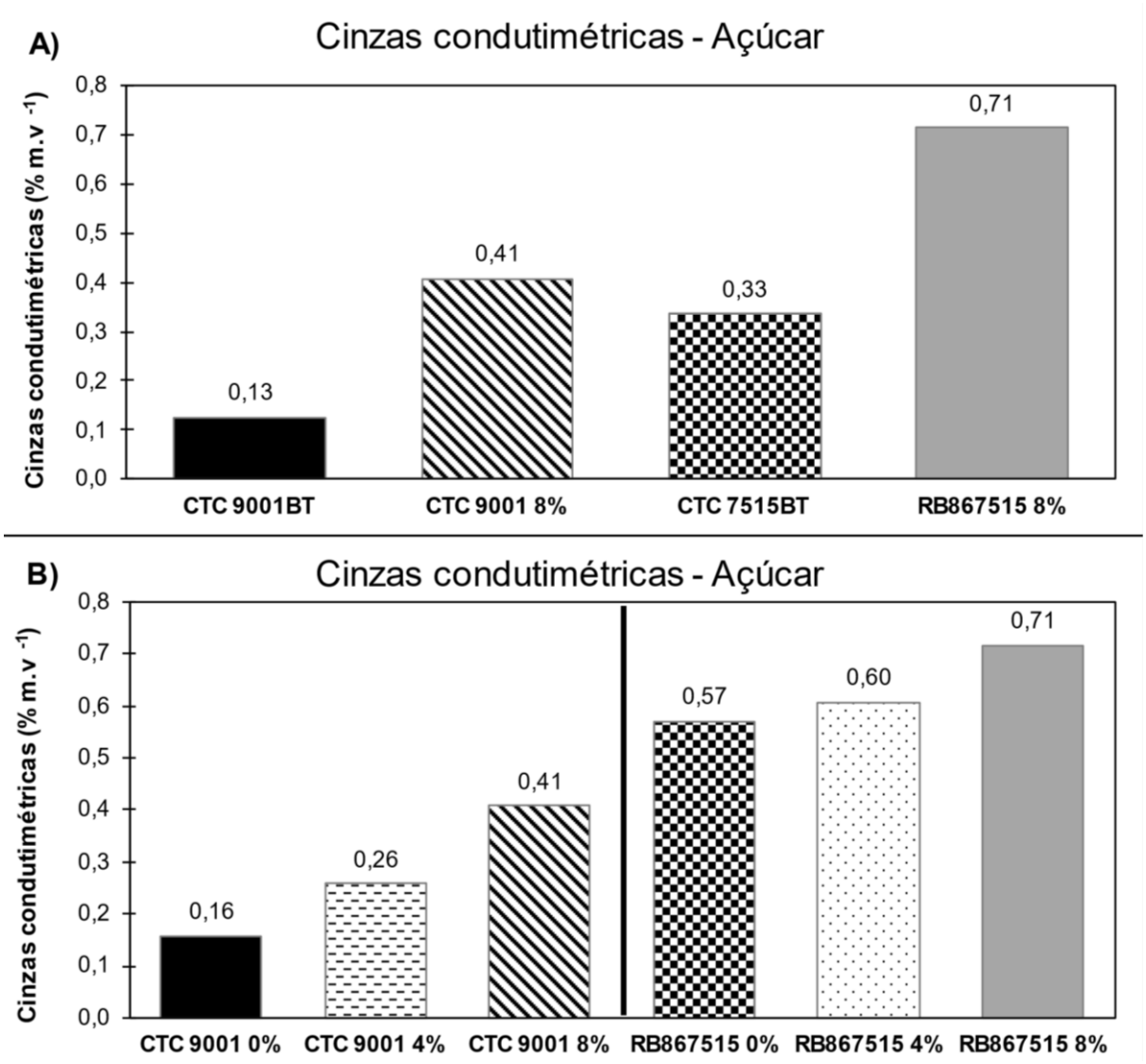
De acordo com a classificação estabelecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil, os valores máximos de cinzas para açúcares VHP são de 0,25% (BRASIL 2018; Anexo I).

Figura 25 - Valores determinados para Pol do açúcar VHP. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Observa-se que os valores obtidos para os cristais de CTC9001BT (Figura 26.A) e CTC9001 0%I.I.B. (Figura 26.B) foram os tratamentos que possibilitaram a produção de cristais com teores de cinzas menor que 0,25%. A CTC7515BT também apresentou menor valor que a RB867515 8%I.I.B.. Verifica-se na Figura 26.B que à medida que aumentou o I.I.B. da CTC9001 e da RB867515, ocorreu aumento do teor de Cinzas no açúcar, principalmente na 1ª. variedade. Estes resultados indicam que a presença de infestação da broca, influencia diretamente se o açúcar final atenderá as normas de cinzas vigentes.

Figura 26 - Valores determinados para Cinzas Condutimétricas do açúcar VHP. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



O amido é extraído durante o processo de moagem do colmo. No caldo frio ele não é solúvel, no entanto, se a moagem for realizada com embebição a quente, o amido é extraído do colmo, solubilizado e gelatinizado. Neste processo o amido é transformado de uma forma semicristalina para uma forma amorfa (TESTER e KARKALAS, 2004). A gelatinização e a solubilização dos grânulos de amido são completadas durante o tratamento do caldo e evaporação (GODSHALL *et al*., 1994; HOOVER, 2001). De acordo com Thomas e Atwell (1999) a gelatinização pode ser definida como o colapso de ordem molecular no grânulo de amido, com a ocorrência de mudanças irreversíveis nas propriedades físico-químicas e a sua solubilização do amido.

Por ocasião da clarificação e evaporação os grânulos de amido são ainda mais aquecidos causando o inchamento progressivo, com ruptura e liberação da amilose e da amilopectina, transformando o caldo numa solução viscosa e amorfa (TESTER *et al.*, 2004; EGGLESTON *et al.*, 2007). Sob estas condições o amido é incorporado ao cristal de açúcar, desde a semente, em todas as camadas e o filme de mel que o envolve, comprometendo a qualidade do produto obtido.

As concentrações de amido podem aparecer no açúcar final nos mais variados níveis, não havendo um valor máximo especificado para açúcar VHP. Os resultados obtidos (Figuras 27.A e 27.B), indicam que a presença de 4% I.I.B. não causa grandes alterações nos teores de amido nos cristais, entretanto à níveis de 8% de broca-da-cana observa-se um aumento considerável, principalmente para a CTC9001.

Da análise da Figura 28.A, observa-se que os menores valores de Turbidez do açúcar foram determinados para os tratamentos CTC9001BT e CTC7515BT, sendo 39,79 e 39,00% menores que as variedades convencionais, com 8%I.I.B., respectivamente. Estes resultados estão diretamente correlacionados com as concentrações de Cinzas e Amido no açúcar, que pode ser confirmado, através da comparação com as Figuras 26 e 27, que apresentaram comportamento similar. À medida que aumentou o I.I.B. (Figura 28.B) verificou-se aumento da Turbidez dos cristais de açúcar. Segundo Oliveira (2014), elevados valores de Turbidez em soluções de açúcar ocorrem principalmente em presença de altos teores de Amido e Cinzas.

Figura 27 - Valores determinados para teor de Amido do açúcar VHP. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

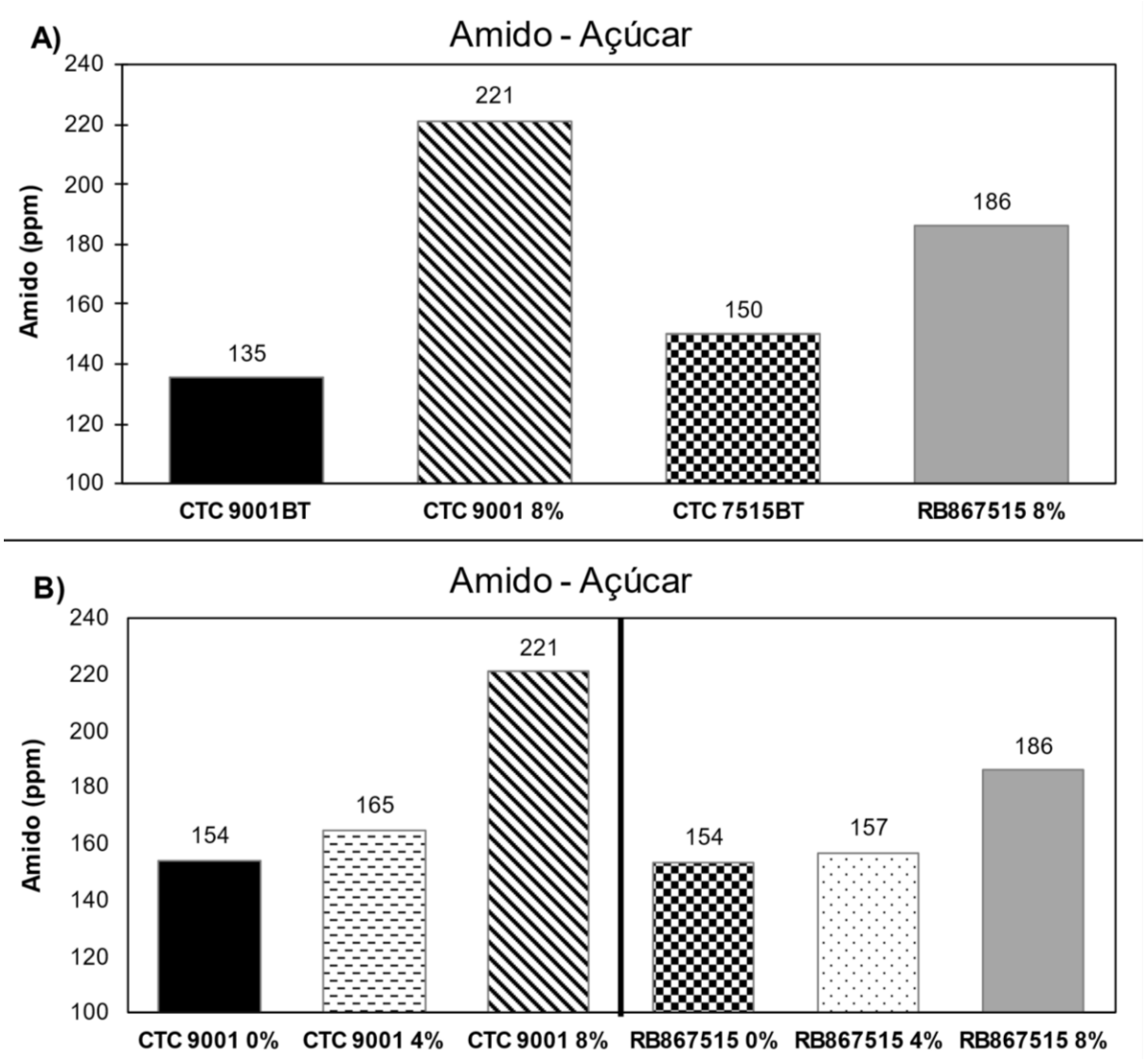
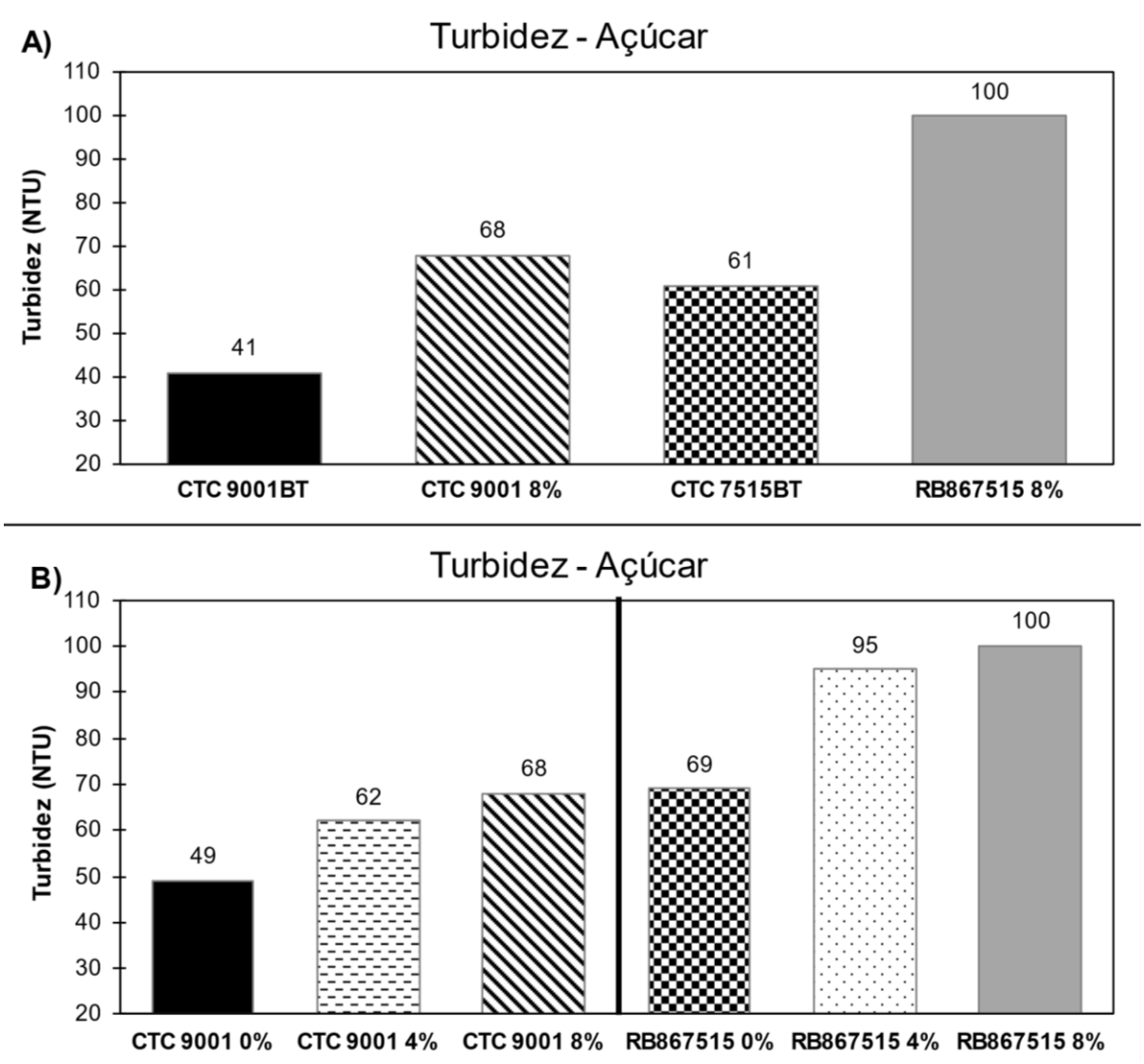


Figura 28 - Valores determinados para Turbidez do açúcar VHP. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

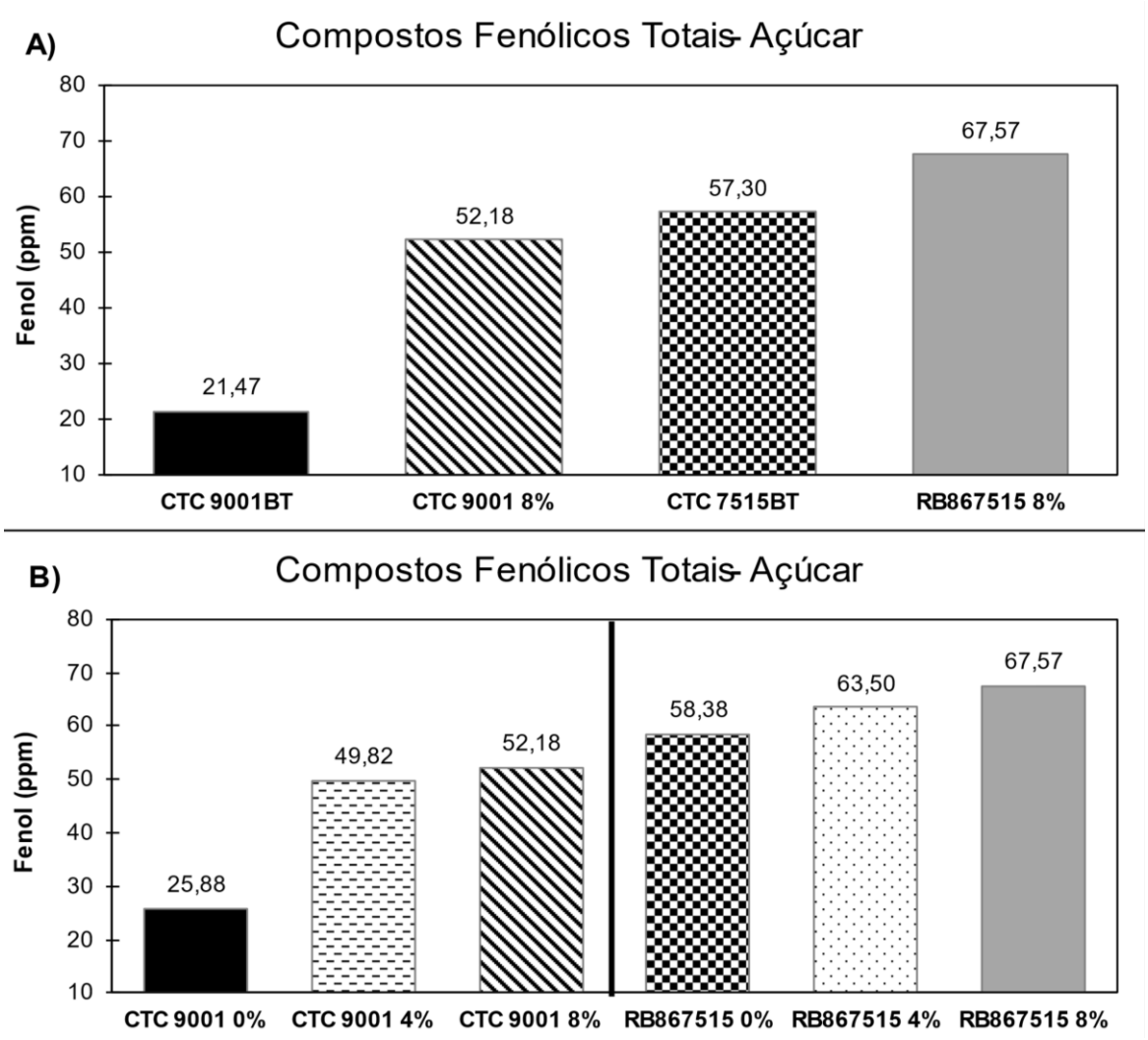


Os compostos fenólicos são pigmentos presentes nas plantas que podem formar substâncias de coloração amarelas claras a alaranjadas, quando reagem com outras moléculas, especialmente durante o cozimento do xarope. Pode-se observar também reações com ferro, originando compostos mais escuros (OLIVEIRA, 2014; VICKERS *et al.*, 2005).

Os resultados obtidos para Compostos Fenólicos Totais (Figura 29.A), indicam que os maiores teores foram determinados nos açúcares produzidos com caldo de CTC9001

8% I.I.B. e RB867515 8%I.I.B.. Nota-se também que quanto maior o nível de infestação de broca da cana, maior é o valor de fenol quantificado nos cristais de açúcar (Figura 29.B).

Figura 29 - Valores determinados para Compostos Fenólicos Totais do açúcar VHP. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Quando se compara este comportamento com a Cor ICUMSA (Figura 24), verifica-se a correlação direta entre estes parâmetros, indicando a ação negativa dos Compostos Fenólicos sobre a Cor dos cristais de açúcar. Estes resultados corroboram Vickers *et al.* (2005), que relataram que a presença de compostos fenólicos influencia negativamente na qualidade dos cristais de açúcar produzidos.

4.2 PRODUÇÃO DE ETANOL

4.2.1 Caldo Extraído

Os resultados representados através das Figuras 30 a 39, correspondem aos parâmetros convencionais que caracterizam a qualidade do caldo extraído. Da sua avaliação pode-se evidenciar os efeitos negativos da broca-da-cana sobre os colmos a serem processados industrialmente. Foram estudadas as características químico-tecnológicas: Brix, Pol, Pureza, ART, AR, pH, Acidez Total, Teor de Amido e Compostos Fenólicos Totais.

Avaliando-se a Figura 30.A, verifica-se que colmos da variedade RB867515 com 8%I.I.B. apresentou o menor valor médio de Brix para caldo extraído, correspondendo a um decréscimo significativo de 7,94% em relação à CTC7515BT. De modo semelhante, empregando-se variedades convencionais, tem-se que o incremento no I.I.B. provoca redução nos teores de Brix do caldo da ordem de 3,4% para CTC9001 e 7,2% para RB867515, ambas com 8%I.I.B..

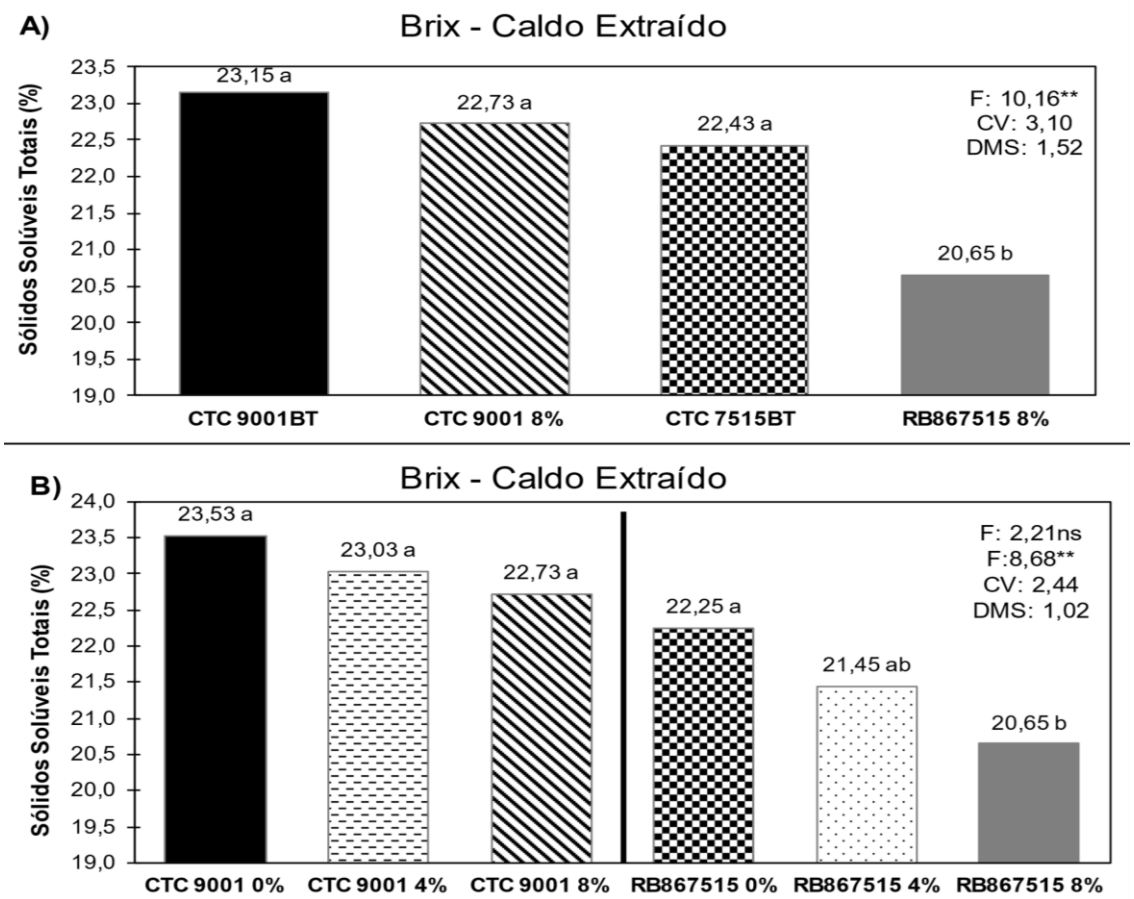
Para o teor de Sacarose Aparente (Pol do caldo), observa-se que somente a variedade CTC9001BT conseguiu alcançar valores superiores à 18% (Figura 31.A), desejados quando se considera o processamento industrial. Da análise desta figura, verifica-se também um decréscimo significativo de 16,19% no valor determinado para a variedade RB867515 8%I.I.B. em relação à CTC7515BT. Independentemente da variedade estudada, sabe-se que a presença de broca provoca perdas na sacarose presente nos colmos proporcionalmente ao nível de infestação manifestado nas culturas convencionais (Figura 31.B).

Segundo Amorim (2005), a Pureza Aparente do caldo deve ser igual ou superior a 85%, para que seja industrializada com maiores rendimentos. Da análise da Figura 32, verifica- se que somente CTC9001BT apresentou teor dentro do esperado. A presença de broca provocou uma queda média de 8,99% sobre as concentrações de Pol dos caldos das canas convencionais em relação as canas transgênicas. À medida que o I.I.B. aumentou, verifica-se queda da Pureza Aparente do caldo (Figura 32.B), da ordem de 5 a 6% quando se compara 0%I.I.B. com 8%I.I.B., independentemente da variedade considerada.

A Pureza Aparente representa a porcentagem de Sacarose Aparente (Pol) presente no teor de Sólidos Solúveis Totais (Brix). Este parâmetro é de fundamental importância

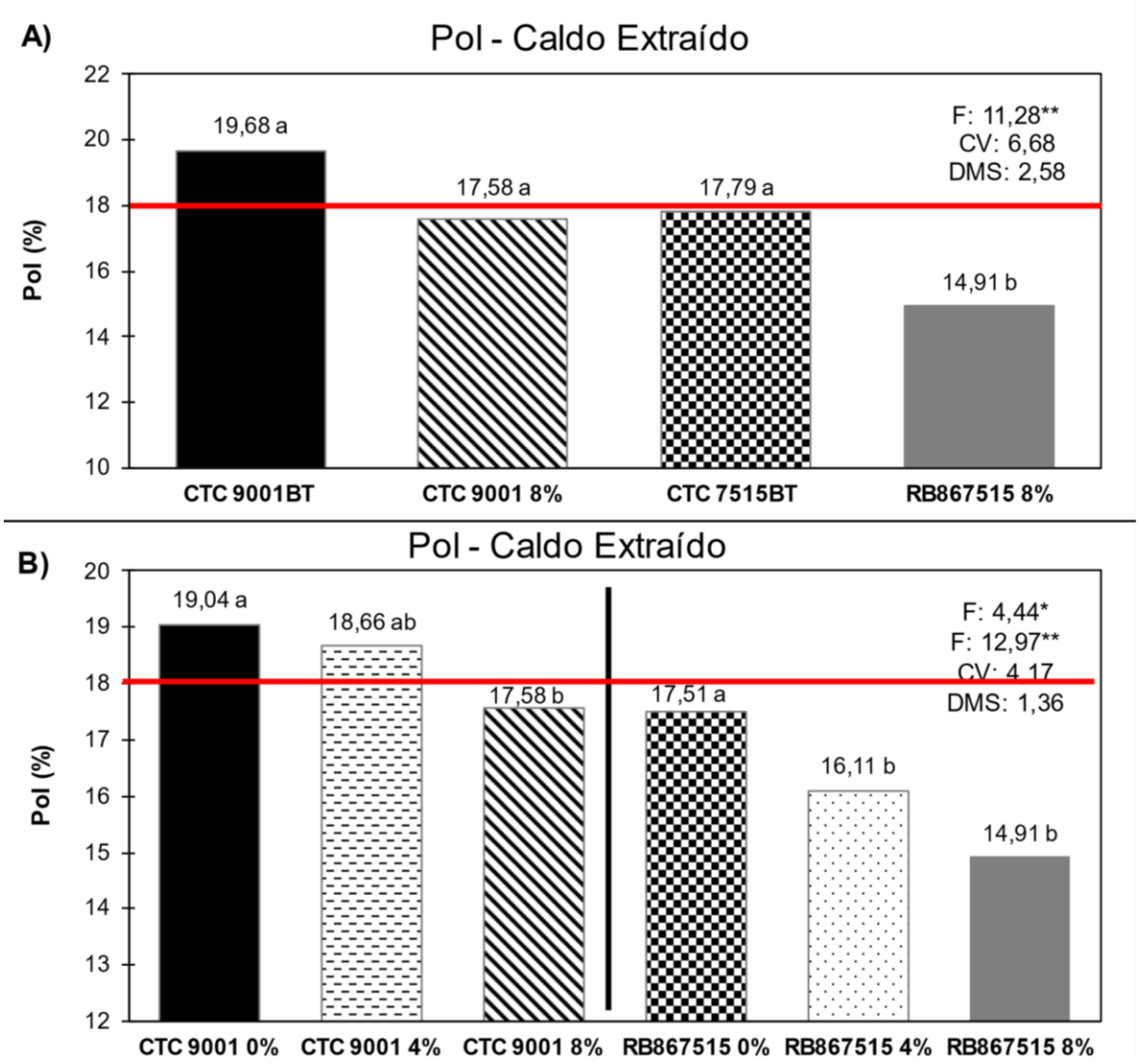
quando se objetiva a produção com qualidade, pois reflete de modo direto o incremento do teor de açúcares na matéria-prima, proporcionando melhorias na eficiência e incrementos nos rendimentos de processo.

Figura 30 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Sólidos Solúveis Totais do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



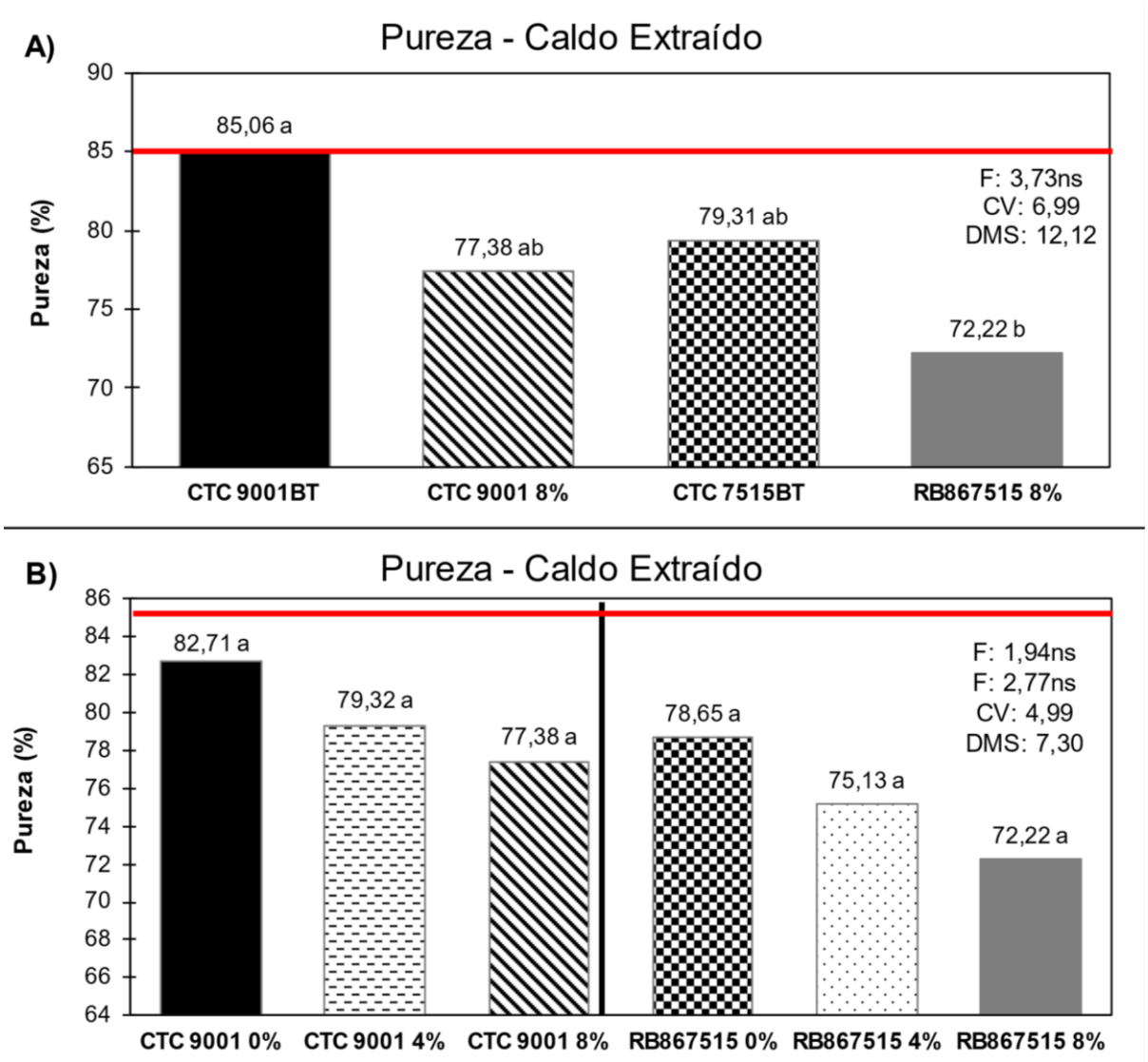
Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Figura 31 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Pol Aparente do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Figura 32 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Pureza Aparente do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

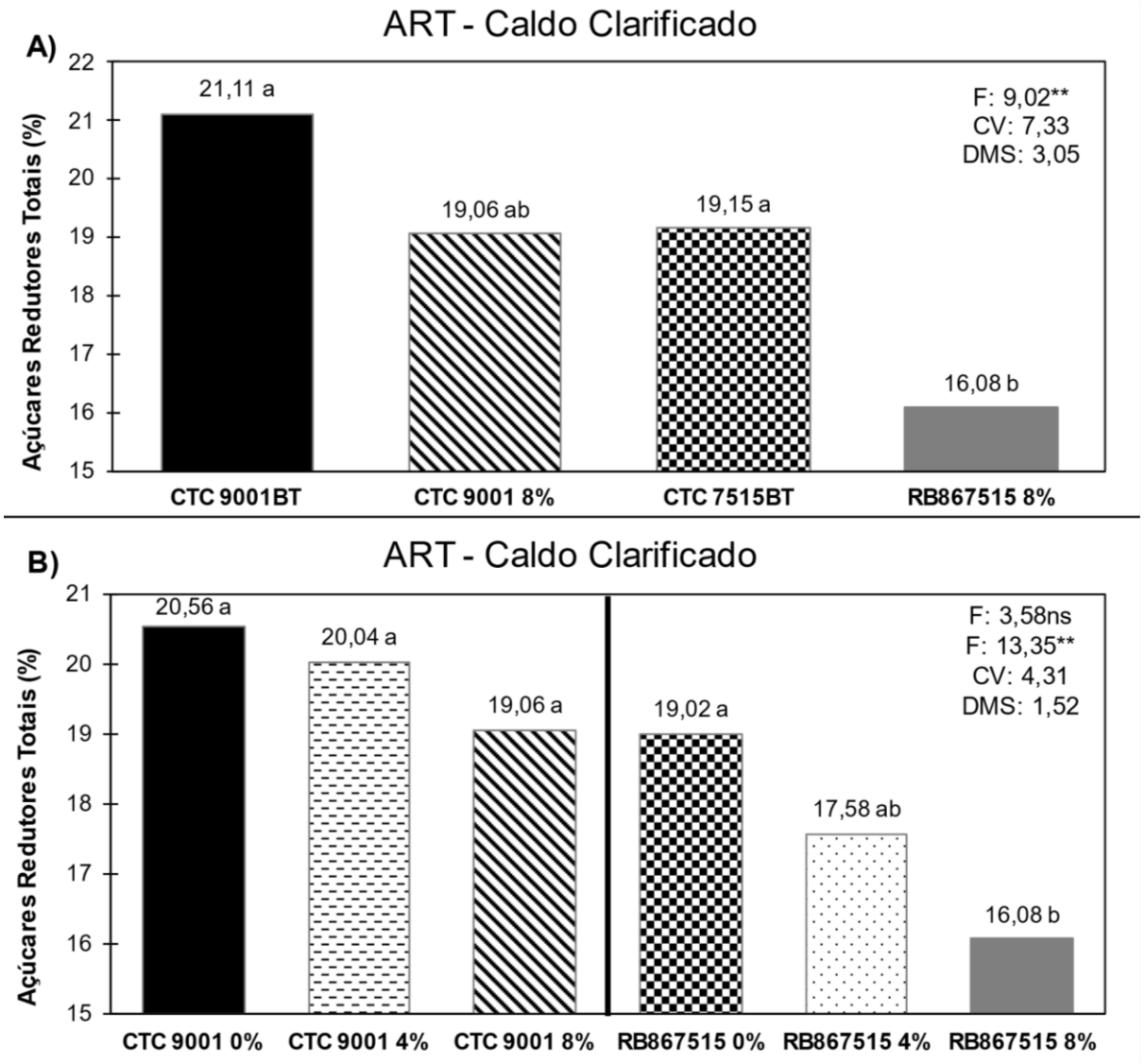


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

O Teor de Açúcares Redutores Totais (ART), é considerado um dos mais importantes parâmetros pelas usinas, por estar diretamente relacionado com o potencial de etanol a ser produzido. Neste sentido, para que a produção seja econômica e sustentável, os valores devem ser os maiores possíveis, com um teor mínimo de 15% (AMORIM, 2005; MUTTON e MUTTON, 2015).

Da análise dos resultados médios obtidos, verifica-se que todos os tratamentos suplantaram este valor de referência (Figura 33). Pode-se verificar uma redução significativa de 9,7% e 16% quando se compara os teores de ART determinado para os caldos extraídos das variedades CTC9001BT e CTC7515BT com as respectivas variedades convencionais com 8%I.I.B. (Figura 33.A).

Figura 33 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Açúcares Redutores Totais do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Comportamento semelhante pode ser verificado na Figura 33.B, que apresentou a mesma tendência de redução dos valores de ART com o aumento de I.I.B.. Estas variações são muito significativas e deverão refletir diretamente sobre as determinações de rendimentos e eficiências.

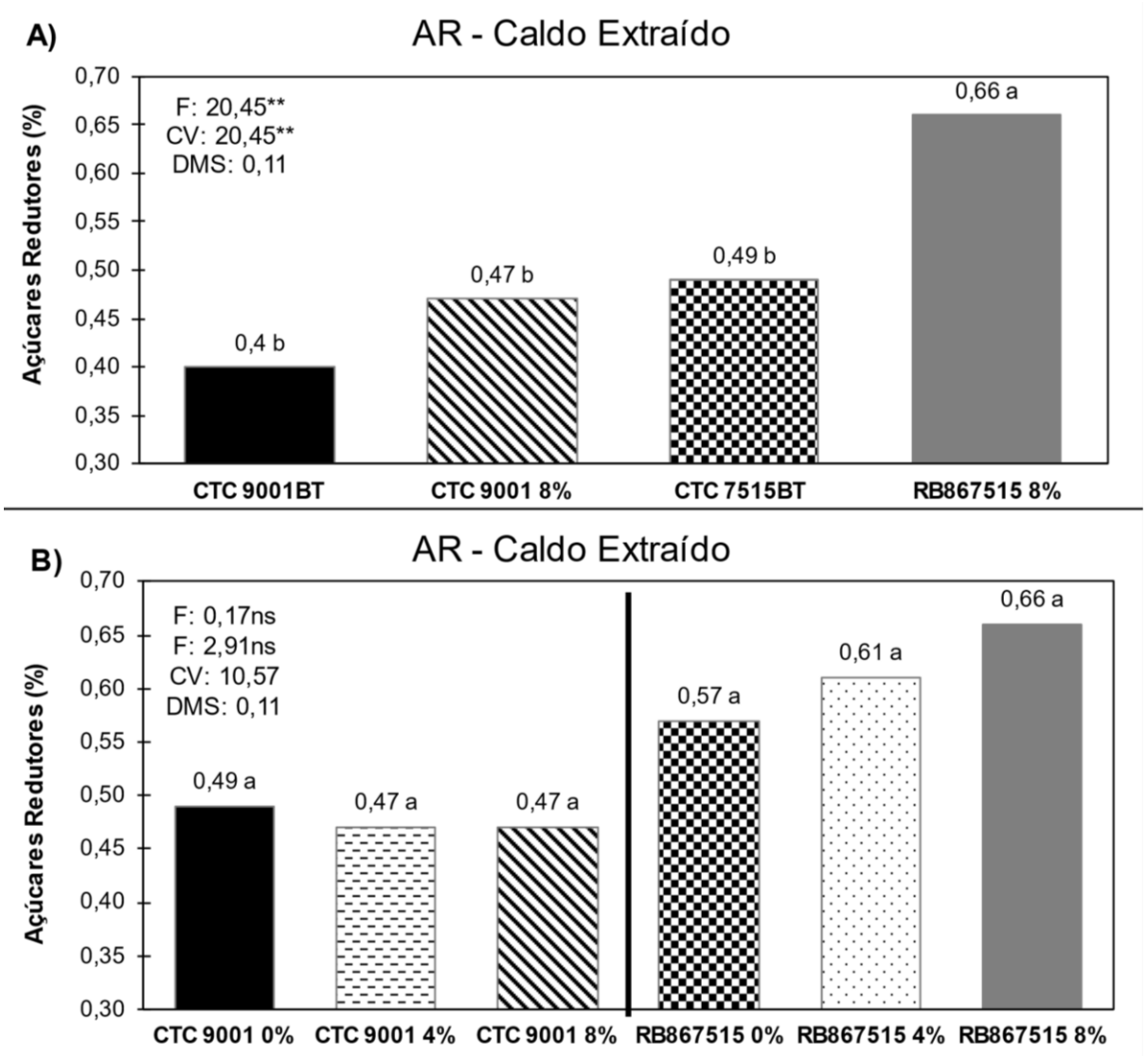
Os Açúcares Redutores representam os teores de glicose e frutose presentes nos caldos. Tais carboidratos podem ser utilizados no processo de produção de etanol, uma vez que são facilmente metabolizados pelas leveduras. Da análise da Figura 34, verifica-se que todos os tratamentos apresentaram concentração de AR dentro da faixa ideal para processamento, que é ≤ 0,8% (MUTTON e MUTTON, 2015). A análise das médias determinadas, indicam menores valores para os tratamentos BT em relação às canas convencionais com 8%I.I.B. (Figura 34.A). Considerando-se o aumento do I.I.B., verifica-se que somente a variedade RB867515 apresentou maiores teores de AR (Figura 34.B).

Os valores de pH dos caldos extraídos são excelentes indicadores da maturação e da qualidade dos colmos colhidos. De acordo com a Figura 35, verifica-se que todos os tratamentos se apresentavam valores na faixa de 5,0 a 5,5 considerada ideal para o processamento industrial, segundo (AMORIM, 2005). Pode-se constatar que a CTC7517BT apresentou pH significativamente menor que a RB867515 com 8%I.I.B..(Figura 36.A). Não obstante, à medida que se elevou o I.I.B. nas variedades convencionais, observou-se aumento significativo do pH do caldo (Figura 35.B).

Os ácidos orgânicos são biomoléculas encontradas em pequenas quantidades, nos caldos de cana-de-açúcar. Representam porcentagem significativa dos não-açúcares, sendo responsáveis pela acidez titulável do caldo (HONIG, 1969). Assim como o pH, a Acidez Total pode ser utilizada para identificar se a matéria-prima está com maturação ideal ou até mesmo deteriorada.

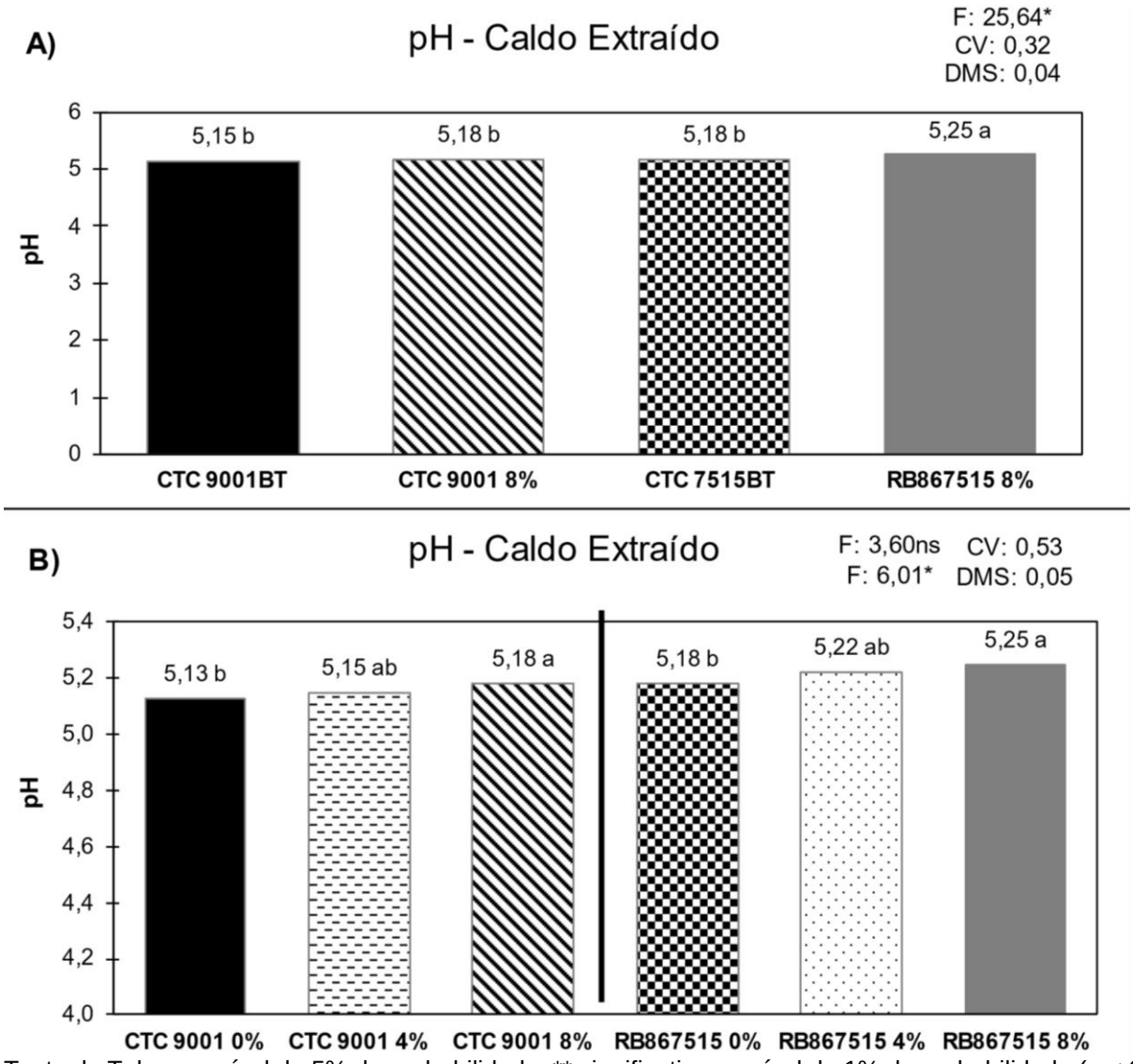
Os resultados obtidos, apresentados através da Figura 36.A, caracterizam que os tratamentos cana BT versus convencional com 8%I.I.B. não diferiram significativamente. Com relação a maiores I.I.B. nos tratamentos convencionais, somente a RB867515 8% apresentou diferença significativa em relação a mesma variedade com 0% de infestação (Figura 36.B). Apesar disto, todos os valores determinados se encontravam dentro das concentrações relatadas na literatura (valores citados na seção 4.1.1 do presente relatório).

Figura 34 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Açúcares Redutores do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



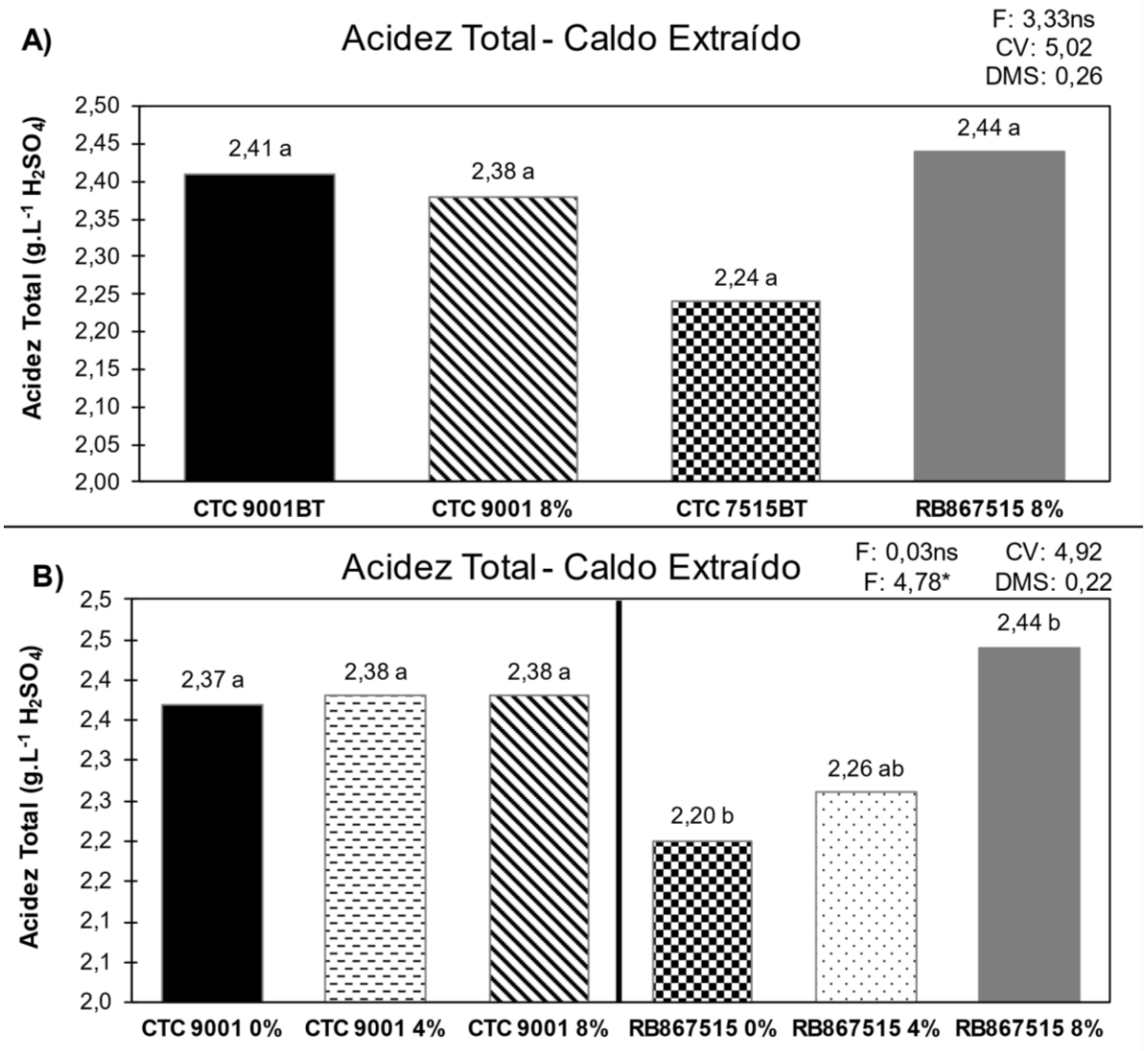
Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Figura 35 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para pH do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Figura 36 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Acidez Total do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

O Amido é um polissacarídeo natural do metabolismo das plantas que quando presente no caldo, pode causar uma série de problemas operacionais, resultando em perdas na fábrica, como queda significativa no rendimento da fermentação alcoólica (STUPIELLO, 2010). A literatura apresenta riqueza de informações sobre os teores de Amido no caldo, que podem variar de 275 a 1867 ppm (GODSHALL *et al.*, 1996) até 1658 a 2581 ppm (FIGUEIRA *et al.*, 2011). Tais variações podem estar relacionadas com a variedade utilizada, condições de manejo e/ou ambientais e desenvolvimento da cultura.

Apesar disto, considerando-se que o processamento industrial tem por objetivo elevadas eficiências e rendimentos, Amorim (2005) sugere que estes valores sejam de 10 e 500 ppm no máximo.

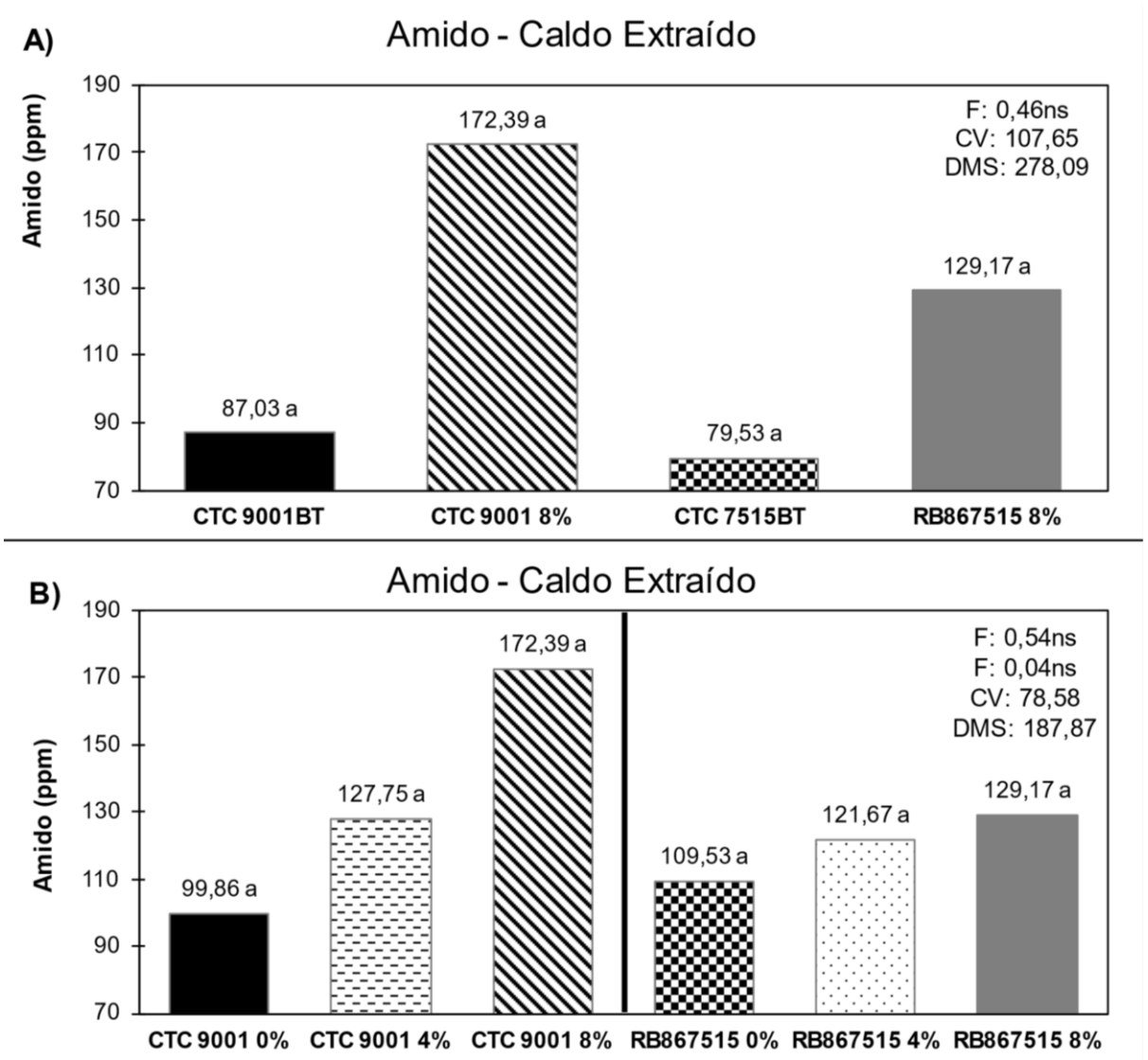
A análise da Figura 37.A, indica que não houve diferenças significativas entre os teores de amido determinados para os tratamentos cana BT versus 85I.I.B.. Os resultados obtidos encontram-se dentro da faixa sugerida como adequada para o processamento, com valores inferiores a 180 ppm. Entretanto, considerando-se as diferenças observadas entre os valores, tem-se que estes teores podem provocar interferências relevantes no processamento industrial. De modo similar, o aumento no I.I.B. provocou aumento nos teores de amido, principalmente na CTC9001 (Figura 37.B).

Os Compostos Fenólicos Totais são biomoléculas sintetizadas pelo metabolismo secundário das plantas, derivados da fenilalanina e da tirosina. Estas substâncias são produzidas com maior intensidade quando a planta é submetida a condições de estresse, como a ocorrência de pragas e doenças, injúrias mecânicas e/ou químicas (SHAHIDI e NACZK, 2004; LIMA, 2012). Estes compostos são capazes de causar a inibição do processo fermentativo, uma vez que afetam o metabolismo microbiano, inibindo o crescimento das células de leveduras, podendo comprometer a assimilação de açúcares e consequente produção de etanol (RAVANELI *et al.*, 2011).

De acordo com Palmqvist e Hahn-Hägerdal (2000) e Silva (2013), os fenóis podem provocar a perda da integridade da membrana celular, prejudicando a função de atuar como barreira seletiva. Compostos fenólicos como os flavonoides, o ácido caféico e o seu derivado fenetil éster, além de inibir a divisão celular, também podem interferir na motilidade de microrganismos como as leveduras (SILVA, 2013). Desta forma, baixas concentrações desses compostos são necessárias para correta condução do processo fermentativo.

A análise da Figura 38.A indica que o menor valor determinado foi para a CTC9001BT que diferiu significativamente da RB867515 8%I.I.B., que apresentou o maior teor. De modo geral, canas convencionais apresentaram maiores valores em relação a canas BT. Embora não tenha sido observado efeito significativo entre os tratamentos estudados no segundo ensaio (Figura 38.B), pode-se constatar que à medida que aumentou o I.I.B., ocorreu aumento do teor de compostos fenólicos pelas plantas.

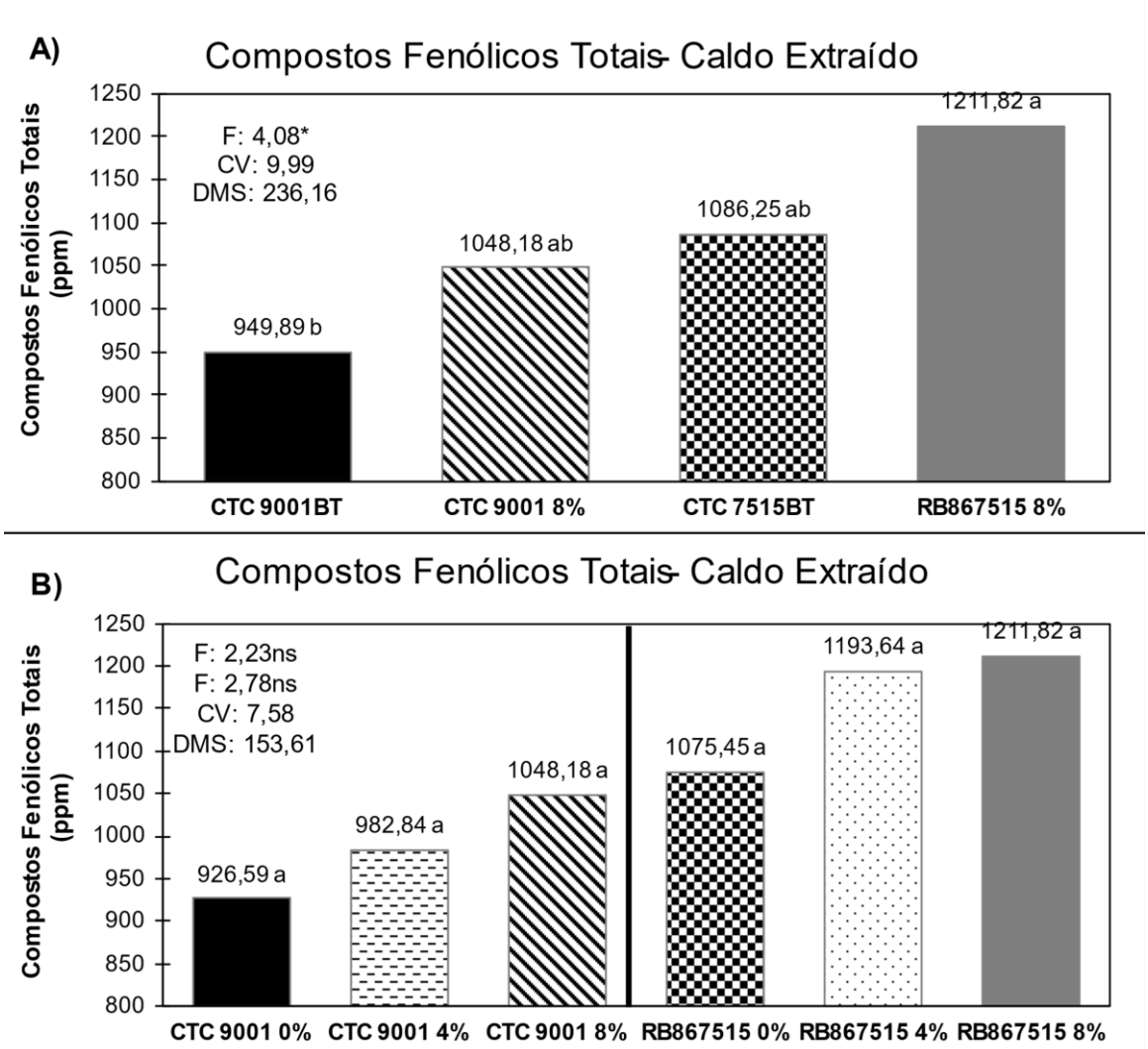
Figura 37 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para teor do Amido do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Após o processo de clarificação, o caldo ainda quente pode ser colocado em provetas e o deslocamento do lodo formado pode ser cronometrado ao longo do tempo e através de interpretação gráfica pode-se calcular a velocidade de sedimentação por zona. Esta análise é importante para a interpretação da condição operacional do processo de decantação (CTC, 2005).

Figura 38 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Compostos Fenólicos Totais do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

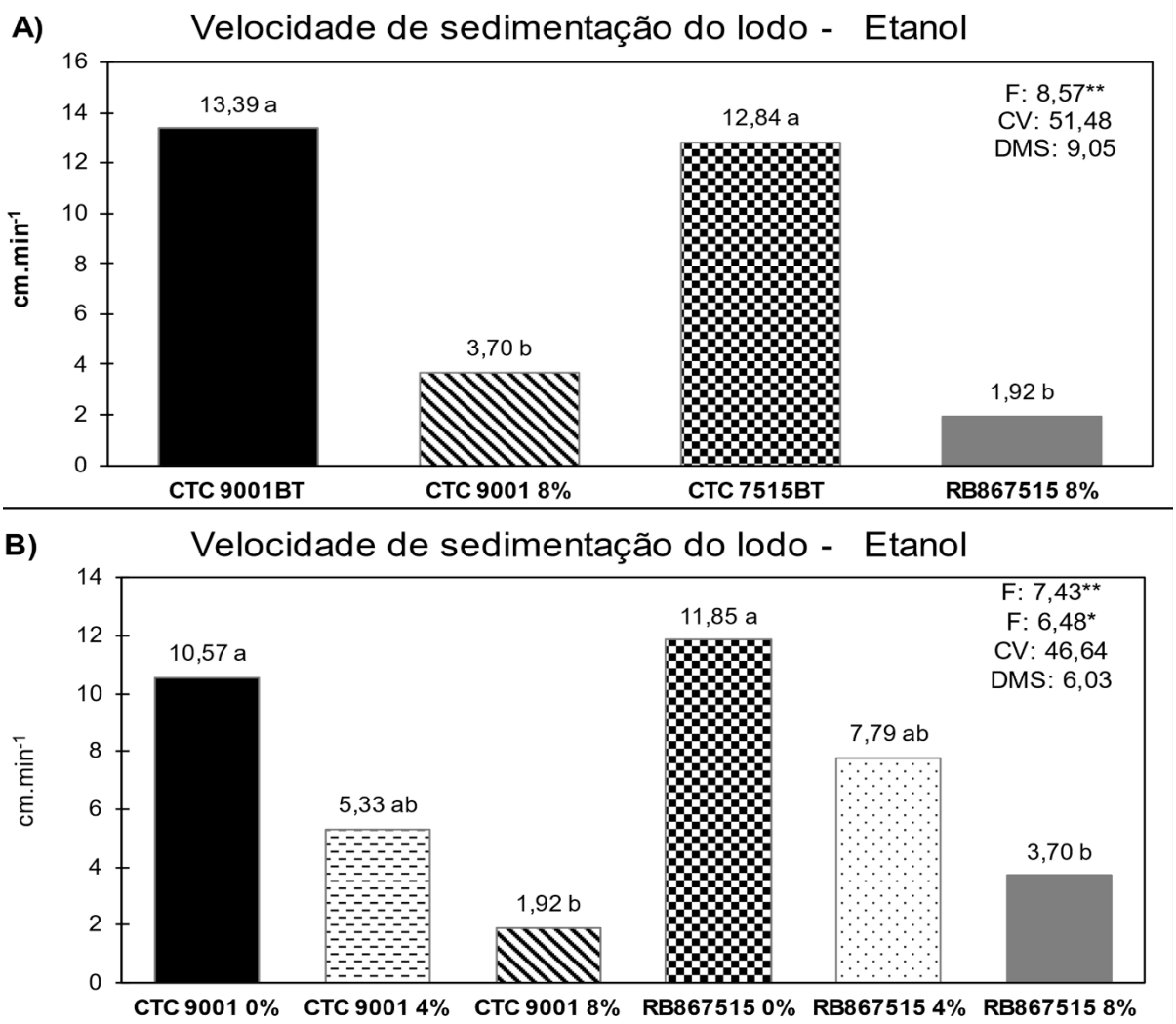
Os valores médios para velocidade de sedimentação do caldo proveniente de CTC9001BT e CTC7515BT exibiram diferença significativa em relação as variedades convencionais com 8% I.I.B., com velocidades 261,89 e 568,75% superiores, respectivamente (Figura 39.A).

Ao se estudar o comportamento de CTC9001 e RB867515, verifica-se que a velocidade de sedimentação do lodo é afetada diretamente pelo I.I.B. (Figura 39.B). Níveis de 4%I.I.B. comprometeram a velocidade de decantação do lodo em 49,57 e 34,26%,

respectivamente; enquanto 8% I.I.B. provocou decréscimo de 81,84 e 68,78%, respectivamente.

Os valores de velocidade de sedimentação determinados neste estudo, indicam que o processo de floculação e adsorção de partículas e coloides presentes no caldo extraído, é favorecido quando os colmos se encontram sadios. Desta forma, o caldo tratado apresenta menor tempo de retenção dentro dos decantadores, tornando o processo mais rápido e eficiente.

Figura 39 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Velocidade de Sedimentação após clarificação do caldo extraído. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >=0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

4.2.2 Caldo Clarificado

O caldo clarificado obtido após o processo de purificação foi submetido as seguintes análises: Brix, Pol, ART, Pureza, pH, Acidez Total, Teor de Amido e Compostos Fenólicos Totais. Os resultados obtidos estão representados graficamente nas Figuras 40 a 47.

Em virtude da diluição do caldo extraído com água deionizada até 16°Brix, as médias de Brix, Pol e ART dos caldos clarificados foram menores quando comparadas aos valores determinados para o caldo extraído.

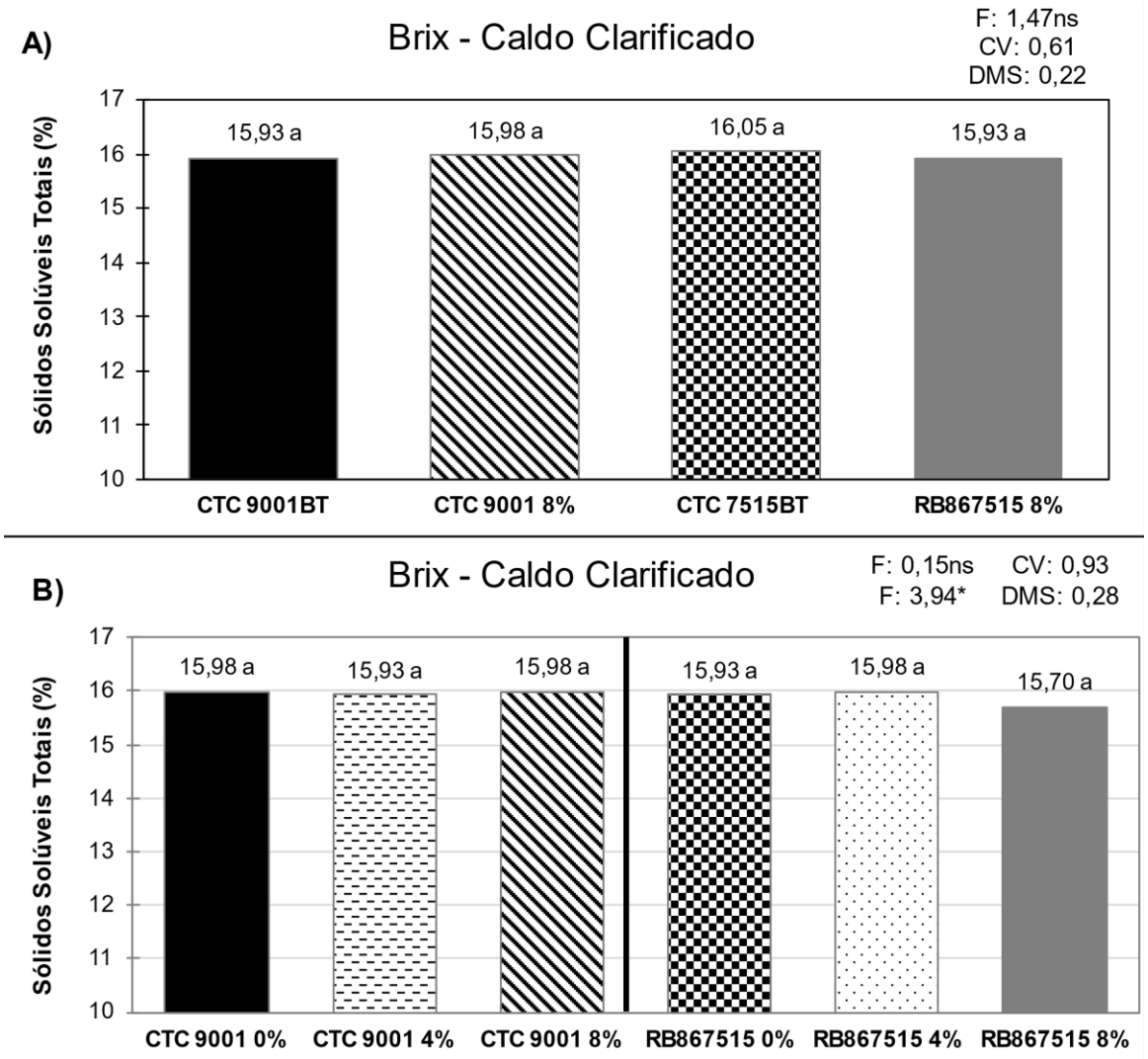
Em relação a concentração de Sólidos Solúveis Totais e Açúcares Redutores Totais, não houveram diferenças significativas entre os tratamentos (Figuras 40 e 41). Entretanto, para os teores de ART, a presença de broca nos tratamentos, resultou em menores valores.

Analisando-se a Figura 42.A, observou-se que os resultados obtidos para Pol do caldo clarificado apresentaram decréscimo de 2,97 e 5,74% para a CTC9001 e RB867515 com 8%I.I.B., em relação as correspondentes variedades transgênicas, respectivamente. De modo semelhante, a maior porcentagem de açúcares presentes no caldo para CTC9001 foi obtida nos colmos saudáveis, não havendo diferenças significativas para os tratamentos com RB867515 (Figura 42.B).

A Pureza Aparente do caldo clarificado é utilizada para demonstrar a porcentagem de sacarose presente nos Sólidos Solúveis Totais do caldo (FERNANDES *et al.*, 2002). Desta forma, quanto maior a pureza do caldo clarificado, maior será a quantidade de açúcares disponíveis para as leveduras fermentarem e produzirem etanol. Os resultados apresentados na Figura 43, demonstram que só houve diferença significativa entre CTC9001 0% I.I.B. em relação a mesma variedade com 4 e 8%I.I.B..(Figura 43.B). Cabe destacar que embora não significativos, no Ensaio I (Figura 43.A), as maiores purezas do caldo clarificado foram determinadas para as variedades transgênicas.

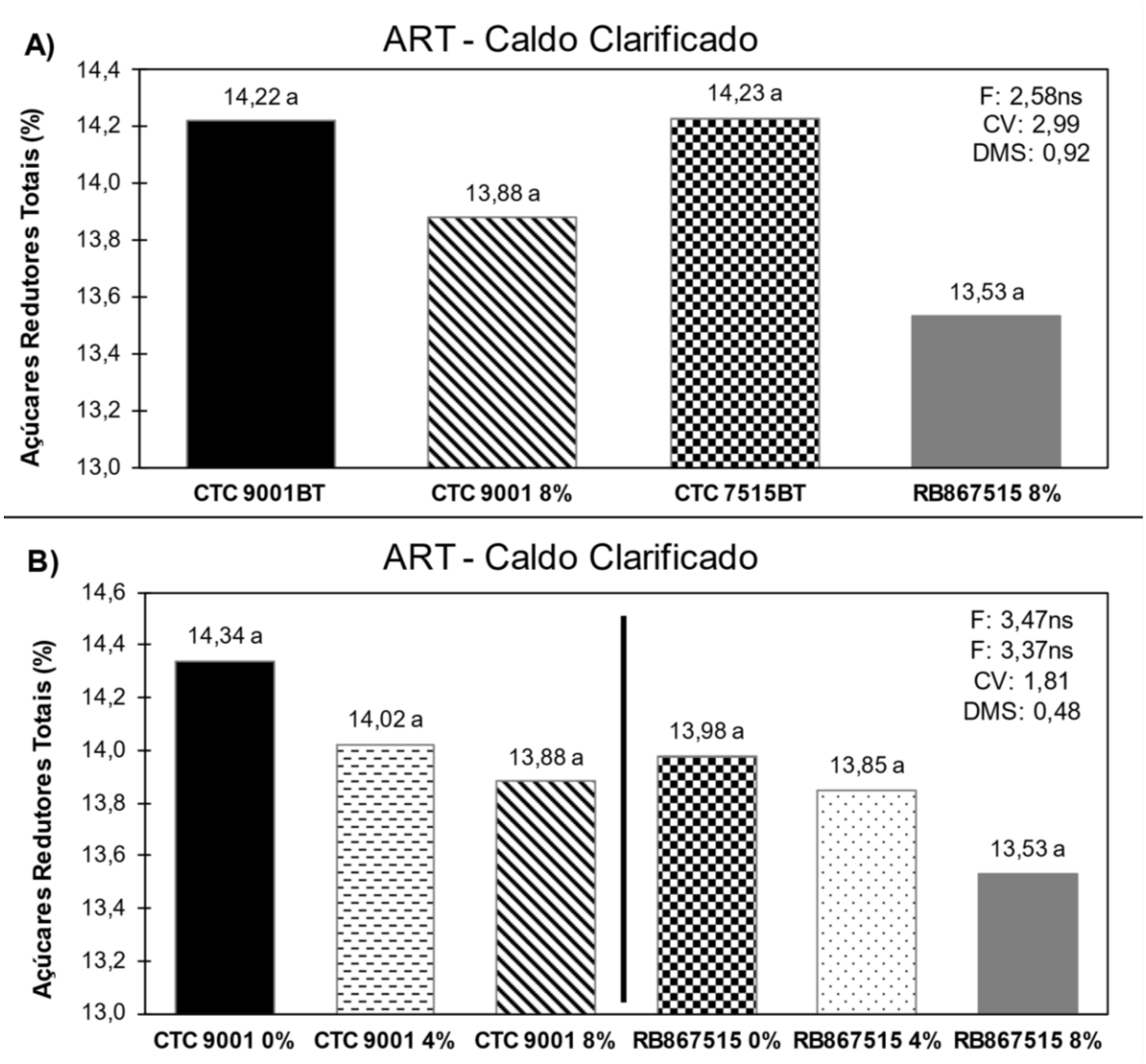
A adequação do caldo extraído a pH 6,0 é fundamental para garantir um excelente processo de clarificação com a preservação dos nutrientes. Considerando os resultados obtidos, verifica-se que os valores médios para RB867515 com 0, 4 e 8%I.I.B., apresentaram diferenças significativas entre si (Figura 44.B), sendo os maiores valores determinados para 8%I.I.B.. Entretanto todas as médias se encontram dentro da faixa esperada de pH, uma vez que durante o processo de clarificação pode ocorrer a adsorção e consequente remoção de ácidos orgânicos presentes no caldo, podendo levar a pequenas variações deste parâmetro. O processo de caleagem simples realizado no início da clarificação proporciona a adsorção e precipitação de ácidos no decantador (ALBUQUERQUE, 2011).

Figura 40 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Sólidos Solúveis Totais do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



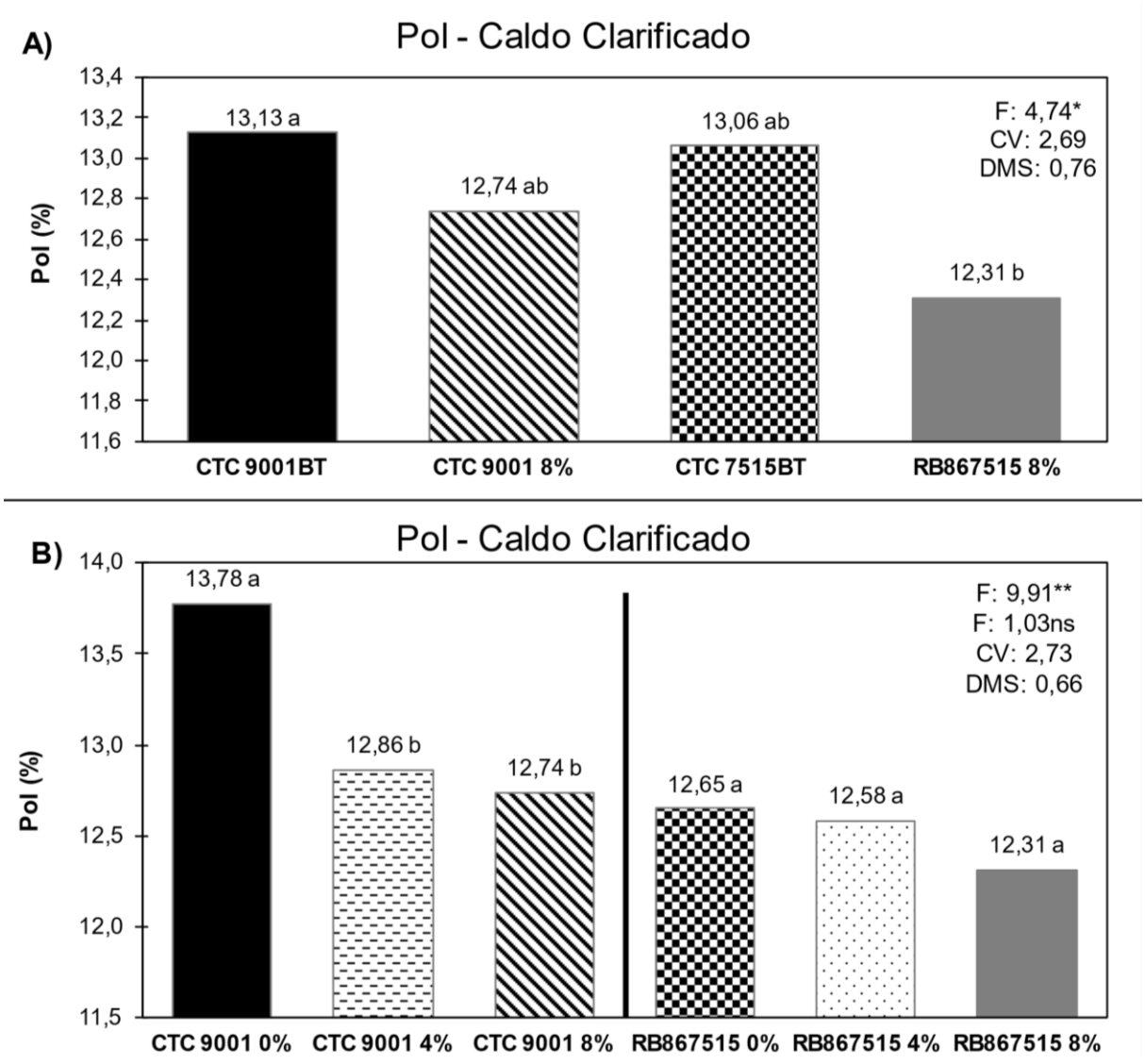
Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Figura 41 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Açúcares Redutores Totais do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



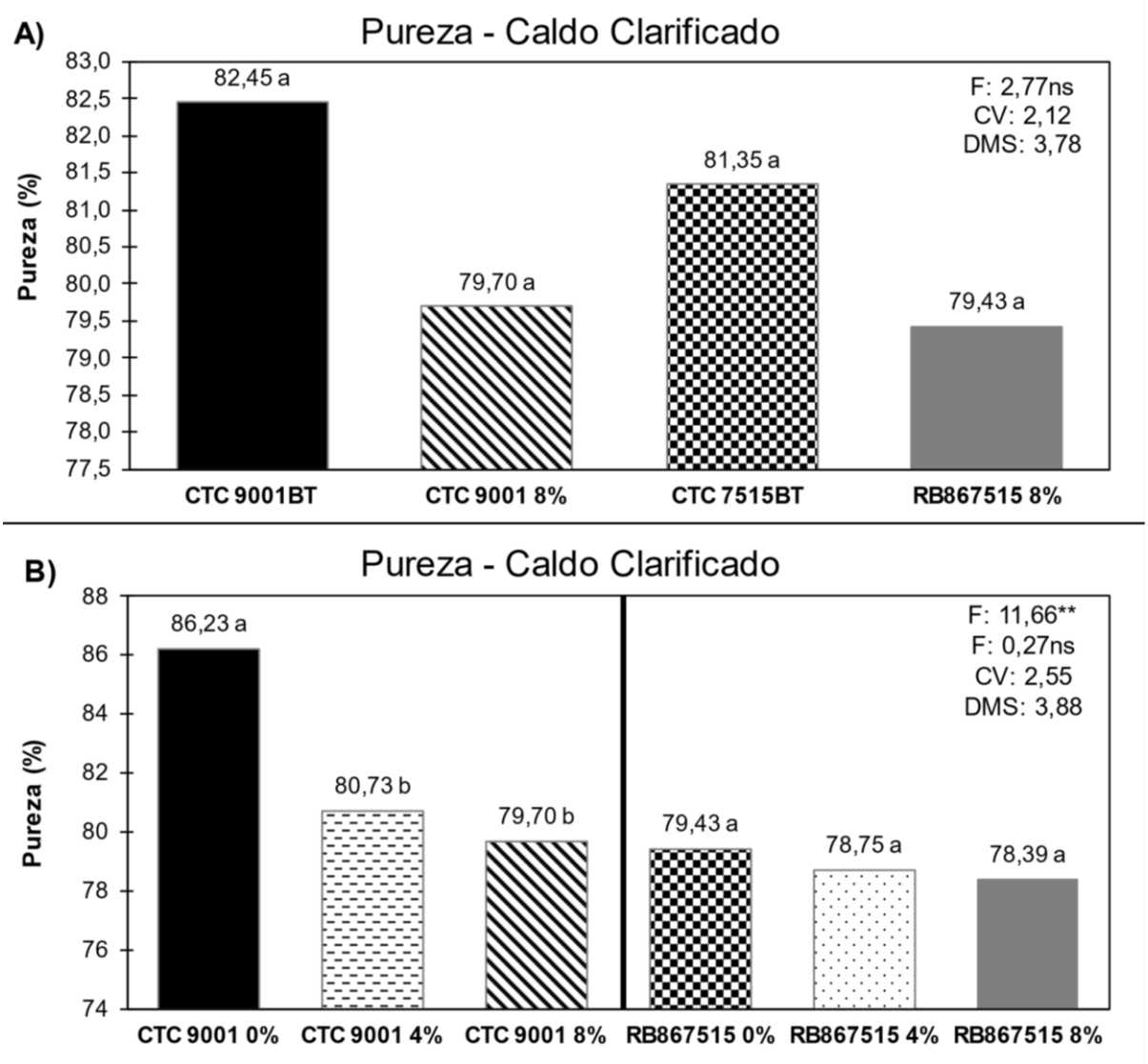
Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Figura 42 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Pol Aparente do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



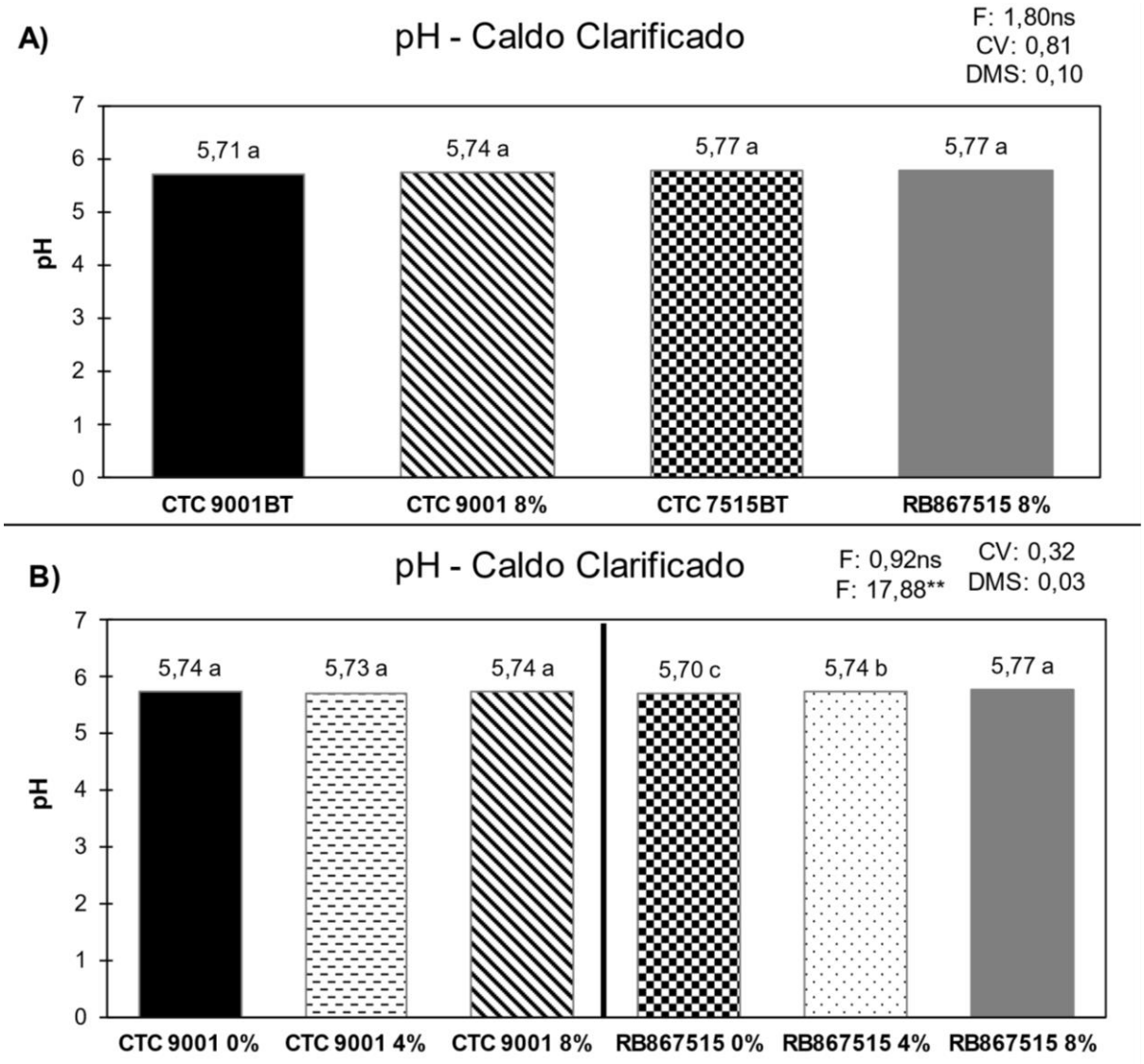
Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Figura 43 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Pureza Aparente do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

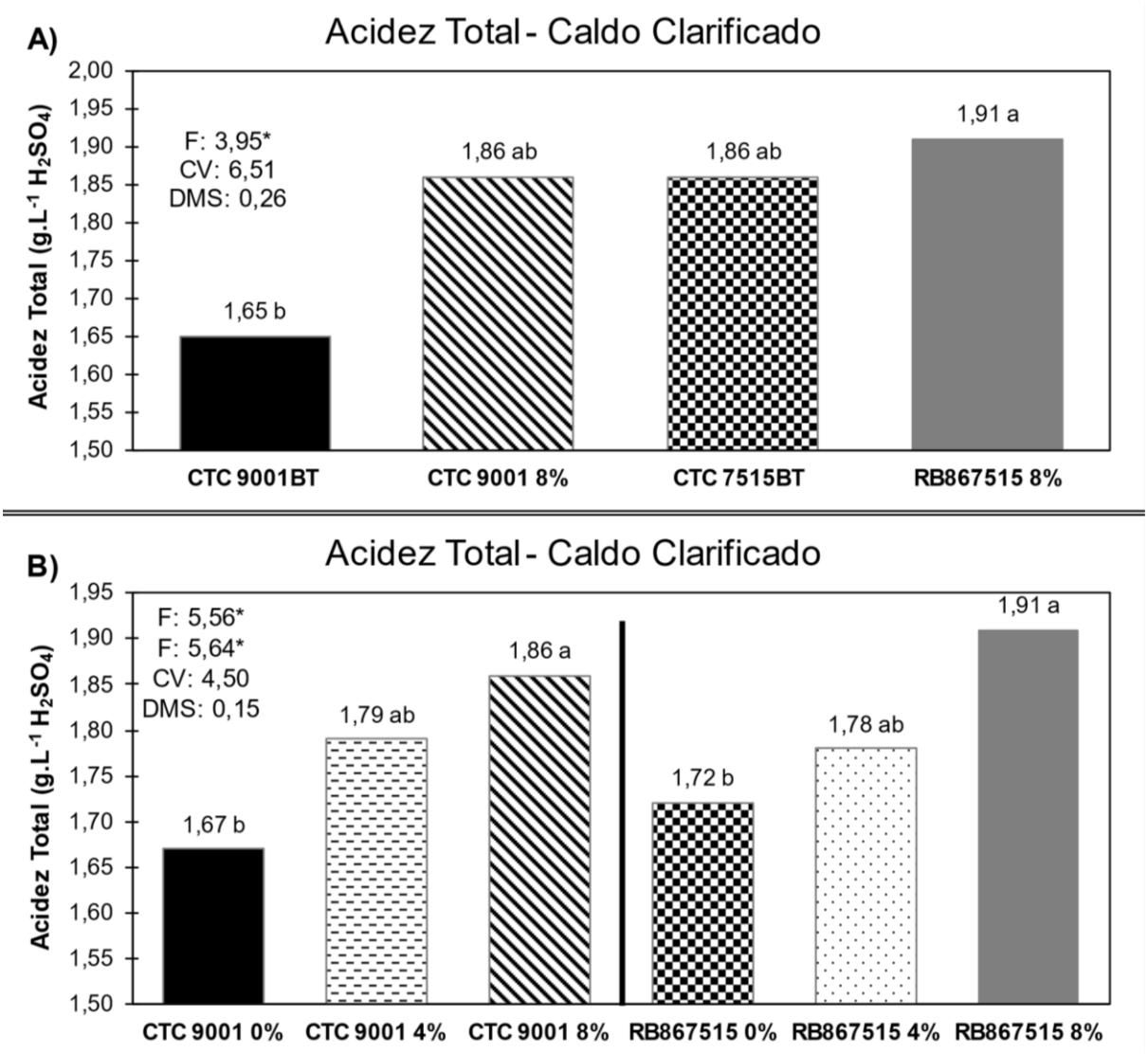
Figura 44 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para pH do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Os resultados determinados para os teores de Acidez do Caldo clarificado (Figura 45) demonstram que CTC9001 e RB867515 8%I.I.B., apresentaram decréscimo de 11,29 e 2,62%, em relação as suas versões transgênicas (Figura 45.A). Ao analisar os resultados da Figura 45.B, nota-se que para tanto para CTC9001 como para RB867515 0%I.I.B., apresentaram os menores valores de Acidez dos Caldo Clarificado.

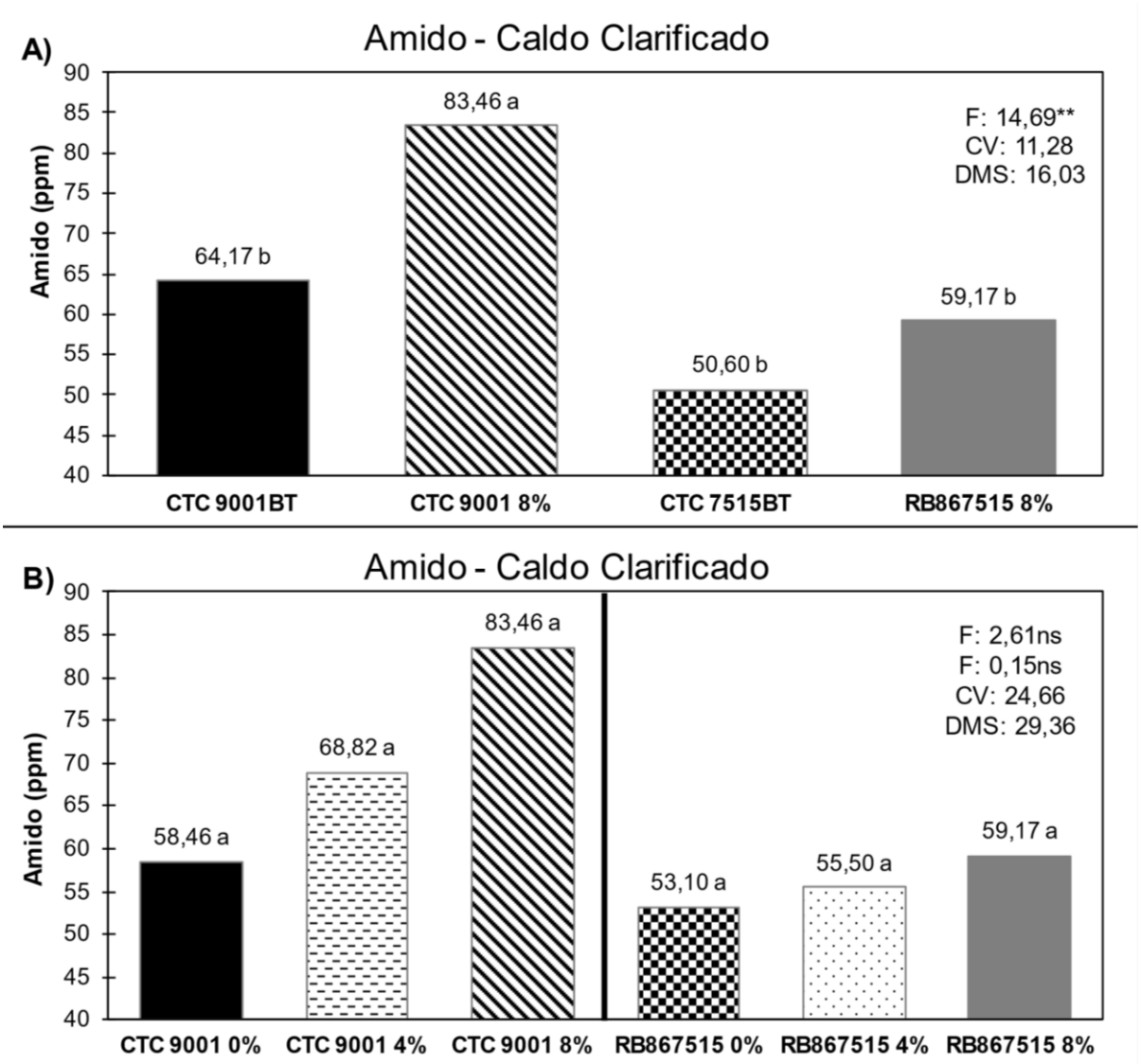
Figura 45 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Acidez Total do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Os teores de Amido do caldo clarificado (Figura 46.A) exibiram efeito significativo para CTC9001BT, apresentando valor 33,09% menor que para a CTC9001. Apesar de não haver diferença estatística, nota-se que as variedades convencionais apresentaram maior concentração de amido no tratamento com 8%I.I.B., principalmente para a variedade CTC9001.

Figura 46 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para teor de Amido do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

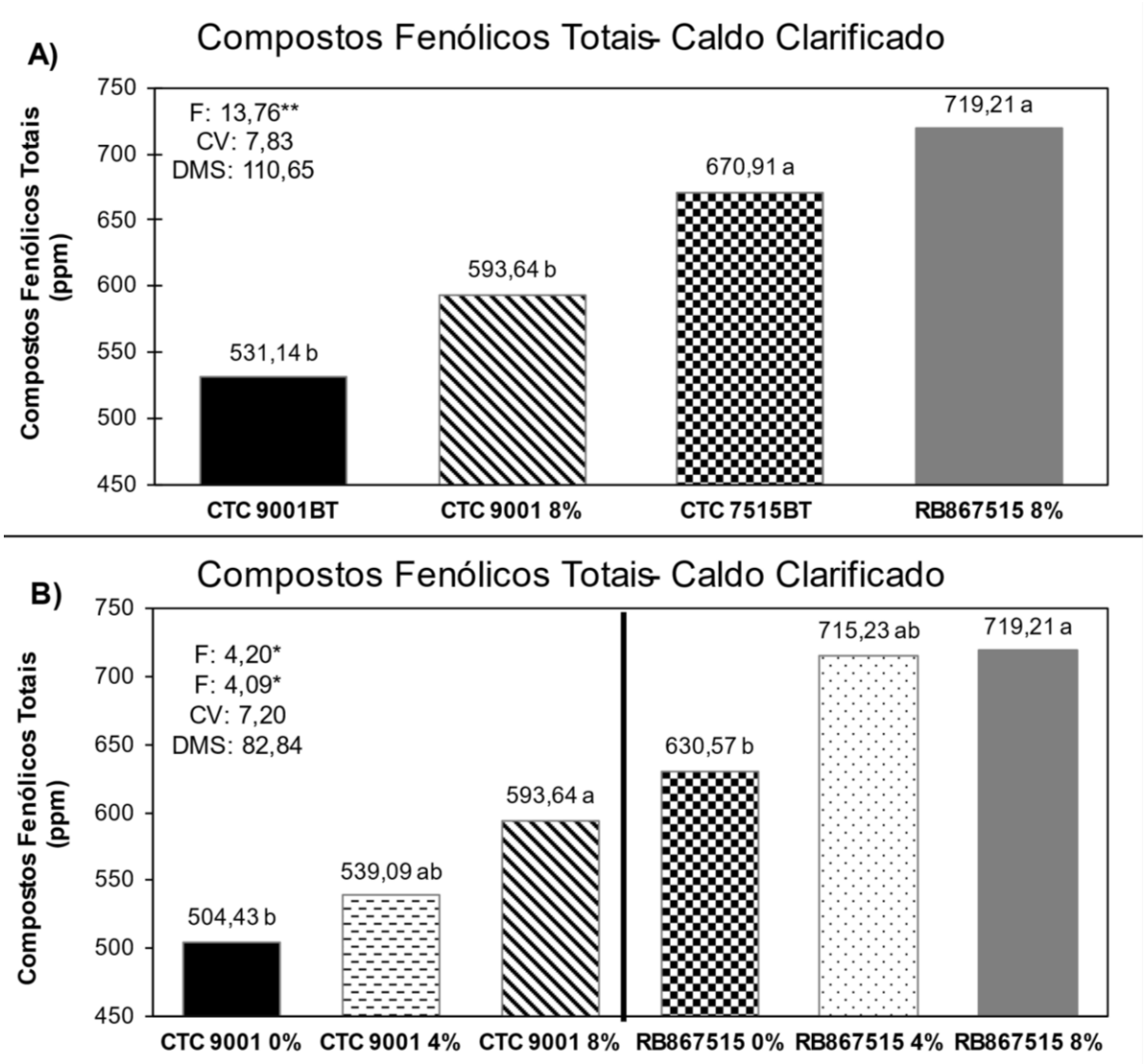


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Quanto aos níveis de Compostos Fenólicos Totais presentes no caldo clarificado, embora estes não tenham apresentado efeito significativo, entre a variedade BT e sua correspondente convencional, deve-se destacar que as transgênicas sempre apresentaram menores valores médios (Figura 47.A). A CTC9001 e RB867515 0%I.I.B., apresentaram valores 15,03 e 12,32% significativamente menores em relação à presença de 8%I.I.B. nas mesmas variedades.

A atividade fermentativa é favorecida sob baixos teores de Compostos Fenólicos Totais, pois tais substâncias atuam como inibidores da microbiota fermentativa. No presente estudo foram determinadas concentrações na faixa de 504,43 a 719,21 ppm. Valores elevados considerando-se os relatos de Madaleno (2011) que descreveu valores de 400 ppm no caldo clarificado.

Figura 47 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Compostos Fenólicos Totais do caldo clarificado. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

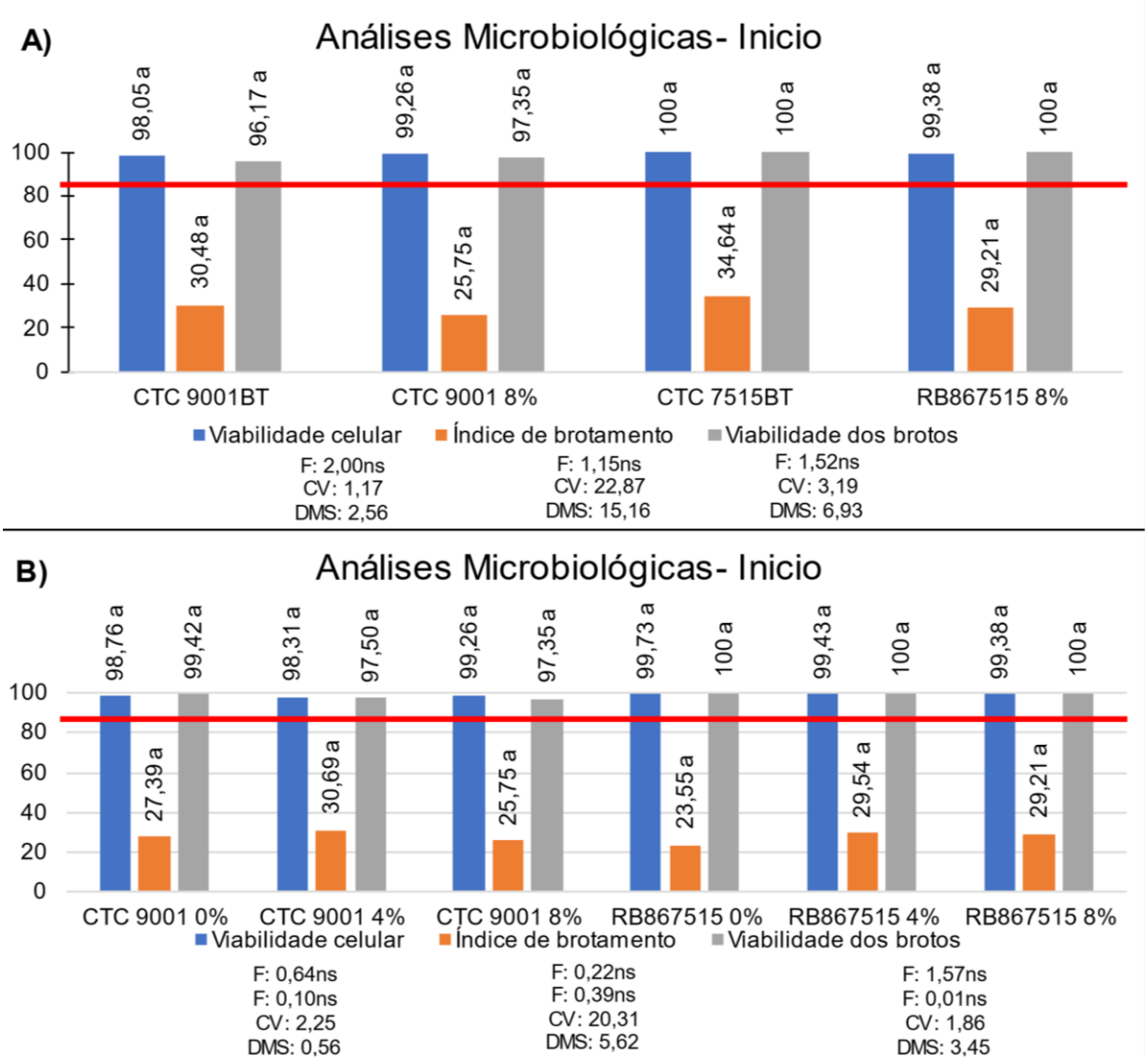


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

4.2.3 Análises Microbiológicas

Os resultados obtidos para viabilidade de células, índice de brotamentos e viabilidade de brotos da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, determinados durante o processo fermentativo estão apresentados nas Figuras 48 e 49.

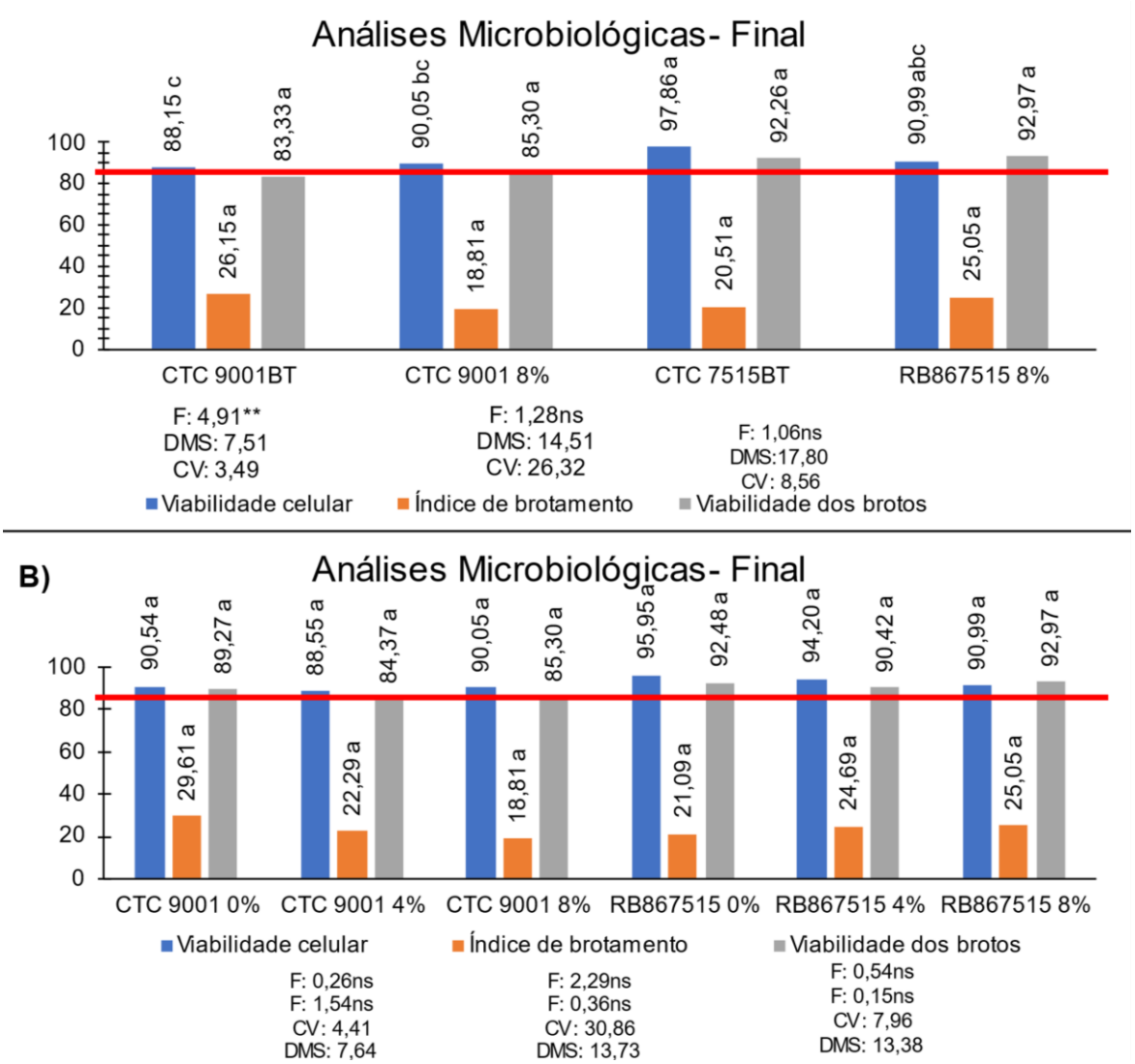
Figura 48 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para análises microbiológicas iniciais do processo fermentativo. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Para obtenção de fermentações com altos índices de rendimento é de extrema importância que as células das leveduras apresentem viabilidade celular igual ou superior a 85% no início do processo fermentativo (AMORIM, 2005). Analisando-se os valores obtidos para viabilidade celular e viabilidade dos brotos inicial (Figura 48), verificou-se que os valores médios apresentados pelos tratamentos superaram o parâmetro recomendado, demonstrando que a levedura estava apta a desenvolver o processo fermentativo.

Figura 49 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para análises microbiológicas finais do processo fermentativo. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

O sistema de condução do processo fermentativo predominante no Brasil é denominado Melle-Boinot; cuja principal característica é recuperação das leveduras através do processo de centrifugação do vinho, e posterior tratamento para retorno às dornas. Neste sentido verifica-se que é essencial que o fermento utilizado para produção de etanol apresente altas concentrações de células e de brotos vivos ao longo do processo. O fermento viável possibilita a obtenção de altos rendimentos e economia do sistema produtivo através dos sucessivos ciclos fermentativos (AMORIM, 2005).

Após estabilização do Brix dos mostos no processo fermentativo, considerava concluído o processo fermentativo. Nesta oportunidade determinou-se a viabilidade das células de leveduras, índice de brotamento e viabilidade dos brotos. Estas objetivaram caracterizar o efeito dos tratamentos estudados sobre a microbiota fermentadora.

De acordo com os resultados obtidos (Figura 49), todos os tratamentos apresentaram valores médios de viabilidade celular e viabilidade dos brotos final superior a 85%, demostrando que o fermento se manteve viável durante todo o processo fermentativo.

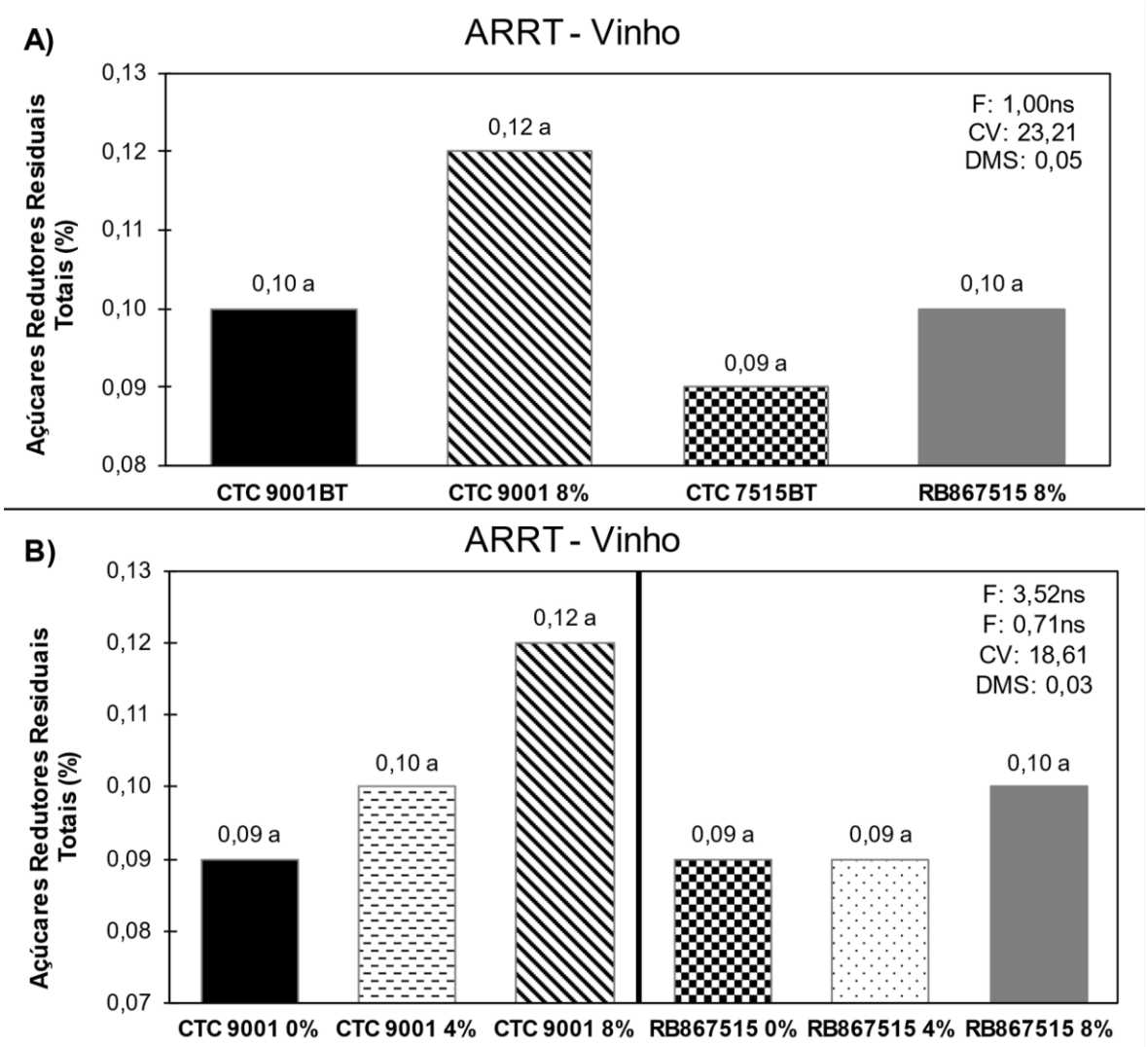
4.2.4 Análises dos Vinhos

Os vinhos obtidos após a fermentação dos mostos foram analisados quanto a concentração de Açúcares Redutores Residuais Totais, Acidez Total, Glicerol e Teor Alcoólico. Os resultados encontrados estão representados graficamente nas Figuras 50 à 53.

As concentrações de Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT) presentes nos vinhos (Figura 50), não apresentaram efeito significativo entre os tratamentos estudados. Verifica-se de modo geral que os valores foram inferiores a 0,15%, indicando que houve uma boa fermentação em todos os tratamentos. Os resultados apresentados no Ensaio I (Figura 50.A), indicam que, embora não significativo, a presença da broca resultou em maior ARRT, bem como se verifica no Ensaio II (Figura 50.B)

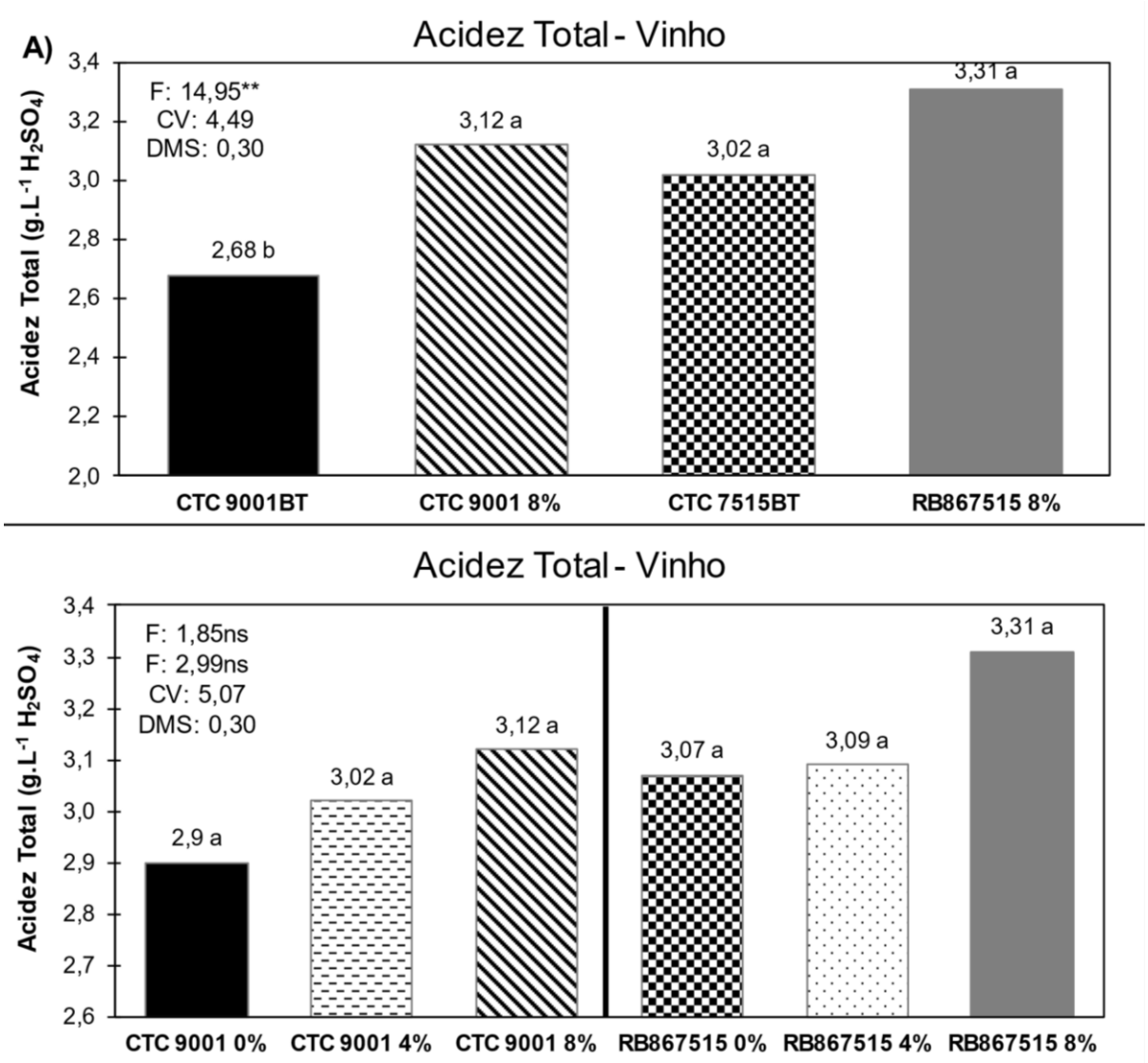
Os teores de Acidez Total dos vinhos variaram de 2,68 a 3,31 $g.L^{-1}$ H_2SO_4 (Figura 51). Relatos de Mutton *et al.* (2012) informaram valores de Acidez Total ao longo de 12 ciclos fermentativos com variações de 2,2 $g.L^{-1}$ H_2SO_4.. Freita (2017) constatou teores da ordem de 2,62 $g.L^{-1}$ H_2SO_4.

Figura 50 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Açúcares Redutores Residuais Totais do vinho. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Figura 51 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Acidez Total do vinho. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



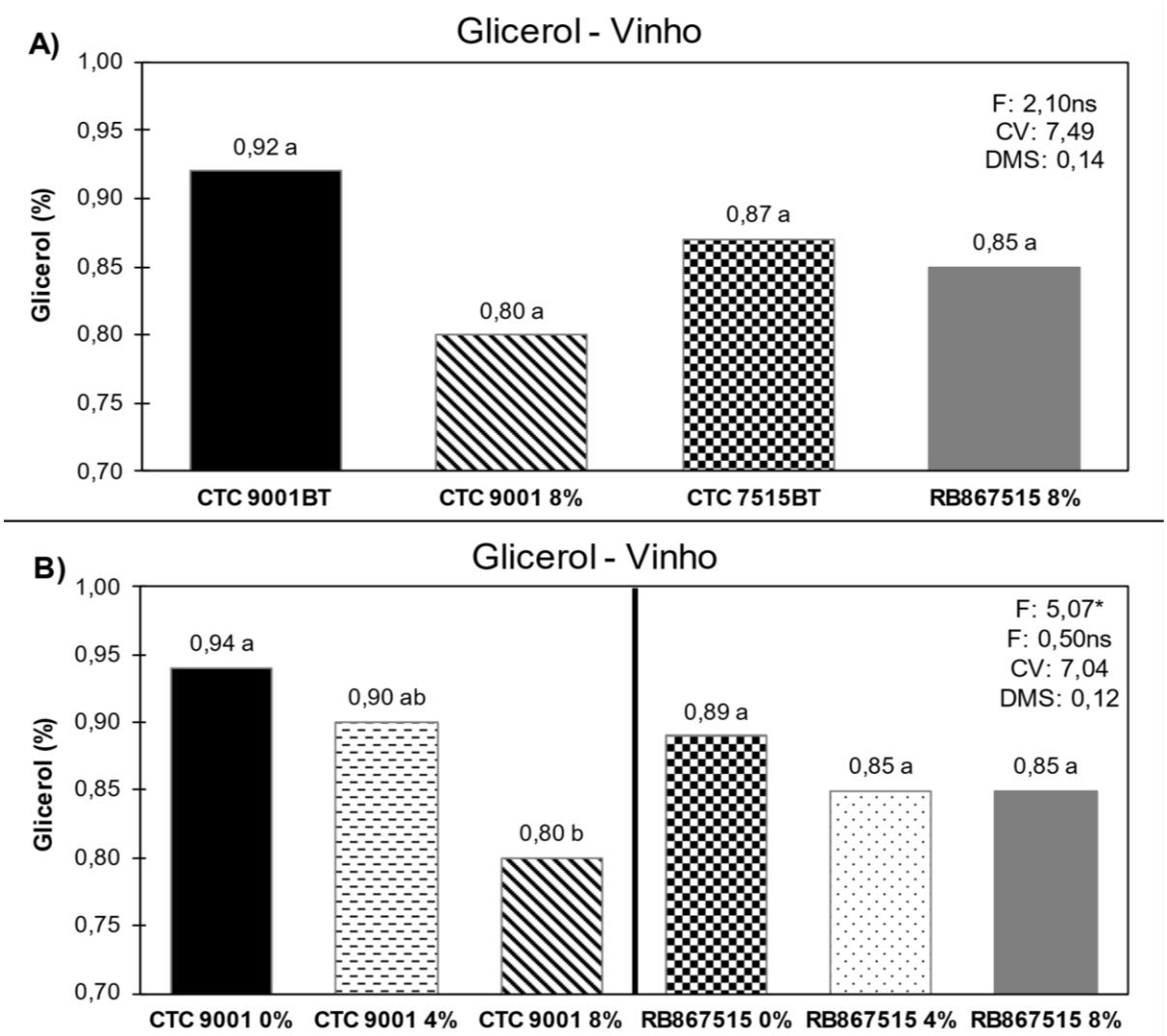
Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

O glicerol é um metabolito naturalmente produzido por leveduras em situações de estresse osmótico (AMORIM, BASSO e ALVES, 1996). Sabe-se que é o produto secundário gerado em maior proporção durante a fermentação, cujo objetivo central é a produção de etanol. Entretanto para que o processo se mantenha, o NADH+ H+ gerado deve ser consumido para conservar o equilíbrio de oxido-redução em anaerobiose. Neste caso,

verifica-se que sua produção ideal da ordem de 2 a 9% do ART consumido na reação pelas leveduras fermentadoras (AMORIM *et al.*, 1998).

De acordo com a Figura 52, os valores determinados foram inferiores a 1,00%. Relatos de Costa (2015) descreve concentrações entre 0,60 e 0,76% e Mendes (2019) teores de 0,66 à 0,70%. Estes resultados corroboram com o presente estudo e demonstram baixa produção deste metabólito.

Figura 52 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Glicerol do vinho. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Considerando-se o rendimento do processo fermentativo, é desejável que a síntese de glicerol seja pequena, uma vez que, para produção, é necessário que parte dos açúcares presentes no mosto sejam desviados da rota fermentativa. Entretanto, sabe-se que a produção de etanol somente ocorre com a formação deste subproduto, de forma a proporcionar equilíbrio ao processo (NELSON e COX, 2019; MUTTON et al., 2019).

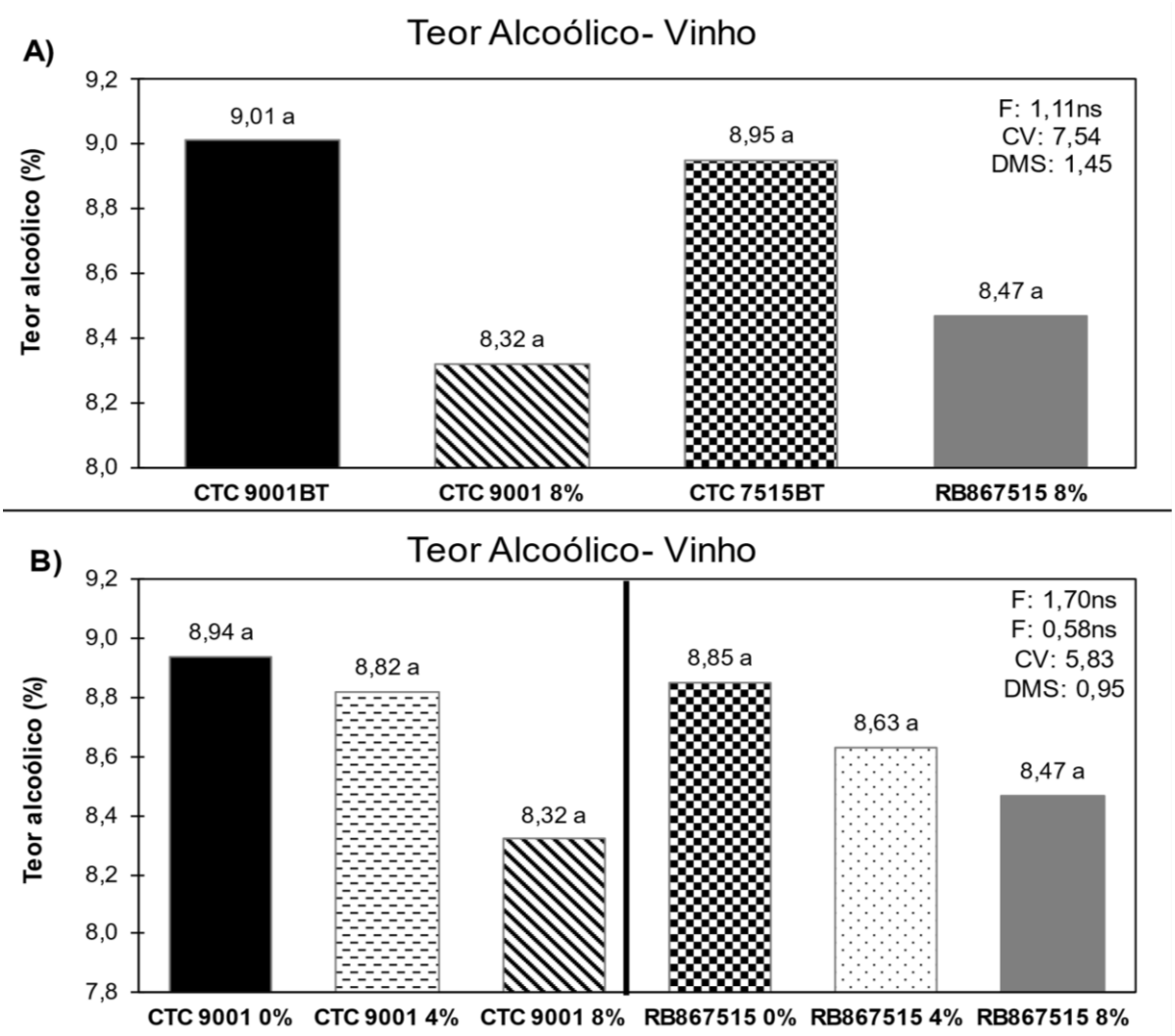
Com relação ao teor alcoólico do vinho (Figura 53), não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos. Da sua análise verifica-se que a utilização de CTC9001BT e CTC7515BT apresentaram teores de álcool no vinho de 8,29 e 5,67% superiores as variedades convencionais (Figura 53.A). Embora diferenças estatísticas não tenham sido identificadas, estas diferenças são relevantes e importantes sob a ótica da produção industrial.

A Figura 53.B demonstra que 8%I.I.B. pode provocar reduções de 6,93 e 4,29% no teor alcoólico de vinhos provenientes de CTC9001 e RB867515, respectivamente. Estes resultados demonstram a possibilidade do aumento da produção de álcool etílico com a utilização das variedades transgênicas, uma vez que pequenos incrementos na concentração alcoólica do vinho geralmente resultam em maior rendimento e eficiência fermentativa do processo.

Todo e qualquer processo industrial preza pela eficiência de suas etapas produtivas, para que haja um melhor aproveitamento de todos os recursos utilizados até a obtenção do produto final. A eficiência da fermentação foi calculada dividindo-se o rendimento real de etanol pelo rendimento prático, de acordo com metodologia de Fernandes (2011, Anexo II).

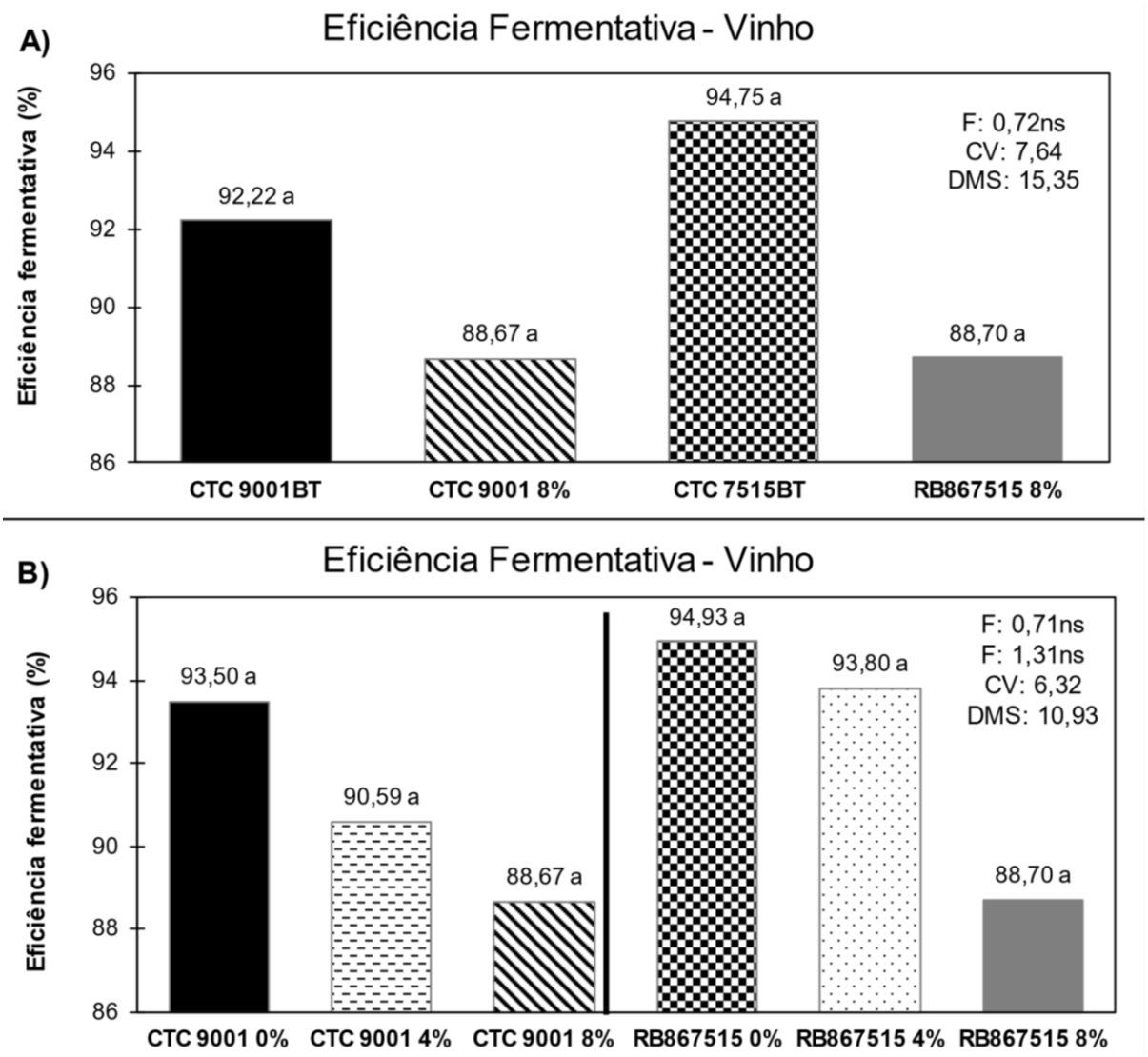
Da análise da Figura 54 verifica-se que o tratamento com CTC9001BT e CTC7515BT proporcionaram acréscimo de 3,85 e 6,39% na Eficiência Fermentativa comparando-se com as variedades convencionais com 8%I.I.B. (Figura 54.A). De modo semelhante, a presença de níveis de infestação de broca da ordem de 8% pode causar perdas de 5,17 e 6,56% para as variedades CTC9001 e RB867515, respectivamente.

Figura 53 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Teor Alcoólico do vinho A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** 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 ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

Figura 54 - Valores médios, resultados da análise de variância e Teste de Tukey para Eficiência Fermentativa do vinho. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.

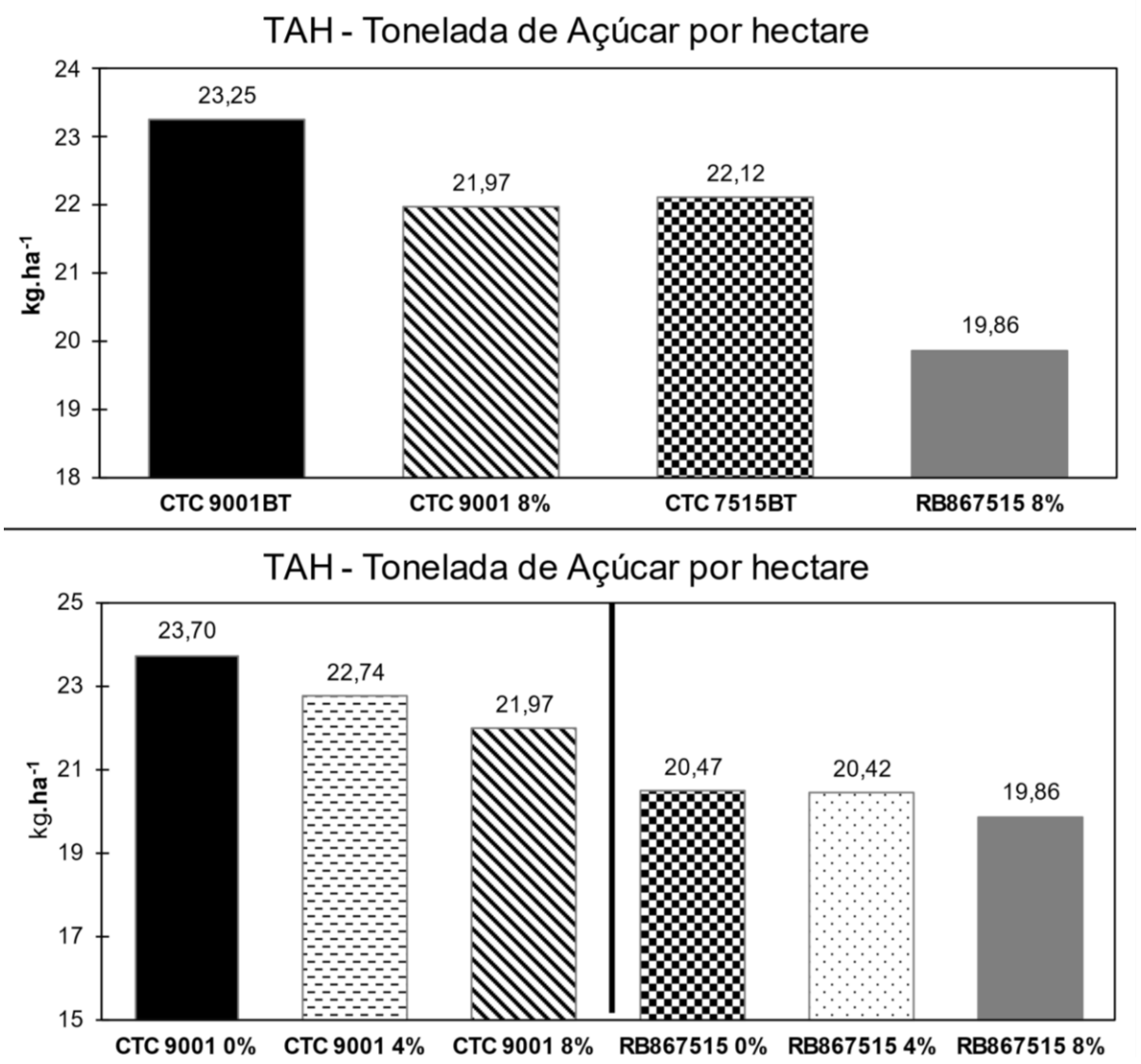


Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 =< p < 0,05$). ns não significativo ($p >= 0,05$). CV = Coeficiente de variação. DMS = Diferença mínima significativa.

4.3 PRODUTIVIDADE INDUSTRIAL

Considerando-se que os rendimentos industriais refletem os efeitos dos tratamentos realizados no campo, foram realizados cálculos para estimar a produtividade de uma Usina, considerando-se que 100% da matéria-prima fosse destinada à produção de açúcar ou 100% para a produção de etanol (FERNANDES, 2011; Anexo II). Para isto, considerou-se uma produtividade de 100 $t_{cana}.ha^{-1}$ para todas as variedades utilizadas no presente estudo. Os resultados obtidos estão apresentados nas Figuras 55 e 56.

Figura 55 - Estimativa da Produção de Açúcar Puro ($t.ha^{-1}$) para os tratamentos estudados com 100% do caldo da matéria-prima destinado à produção de açúcar. A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.



Avaliando-se os resultados das estimativas, com 100% da cana destinada para a produção de açúcar puro, e somente os efeitos na qualidade da matéria-prima e seus reflexos sobre o processamento industrial, verifica-se que CTC9001BT e CTC7515BT podem superar as variedades convencionais contendo 8%I.I.B. em 1.280 kg.ha-1 e 2.260 kg.ha-1, respectivamente (Figura 55.A). Desta forma, o uso destas variedades transgênicas pode gerar ganhos de 25,6 e 45,2 sacas de açúcar por hectare ou R$3.368,96 ha^{-1} e R$5.948,32. ha^{-1}. Considerando-se somente as variedades convencionais (Figura 55.B), percebe-se que a presença de 8%I.I.B. pode gerar perdas da ordem de R$4.553,36.$ha^{-1}$ para CTC9001 e R$1.605,52.$ha^{-1}$ para RB867515.

A Figura 56.A demonstra que o uso de variedades transgênicas e seus efeitos na qualidade da matéria-prima e reflexos industriais, pode proporcionar a produção de 3.170 e 4.740 L.ha^{-1} de etanol a mais que CTC9001 e RB867515 com índices de 8%I.I.B.. Considerando-se o preço de R$ 2,9910 por litro de etanol, o uso das canas BT podem proporcionar acréscimo de R$9.481,47 e R$14.177,34.ha^{-1} no faturamento da usina.

Analisando-se as variedades convencionais, verifica-se que infestações de 8%I.I.B. pode promover a queda na produção de etanol na ordem de R$6.939,12.$ha^{-1}$ para CTC9001 e R$13.579,14.$ha^{-1}$ para RB867515 (Figura 56.B).

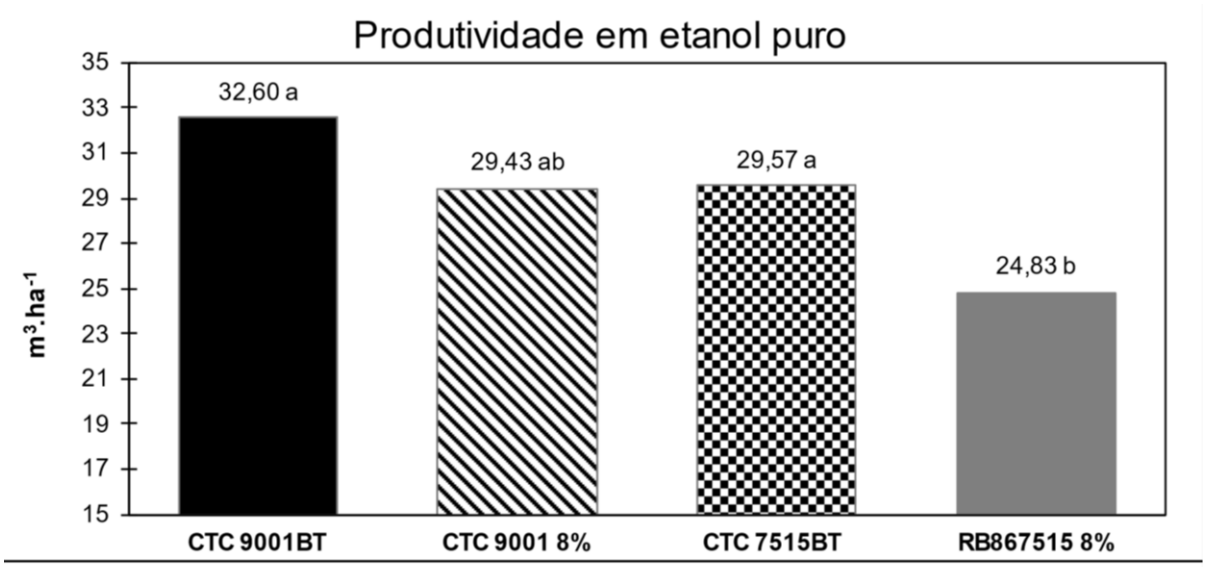
Mesmo se considerarmos o pagamento anual de royalties (R$661,16.$ha^{-1}$) , o uso dessas cultivares mostra-se lucrativo. Se contabilizarmos a redução de custos de inseticidas, combustível e mão de obra necessários para os controles químicos e biológicos, os valores se tornam ainda mais animadores.

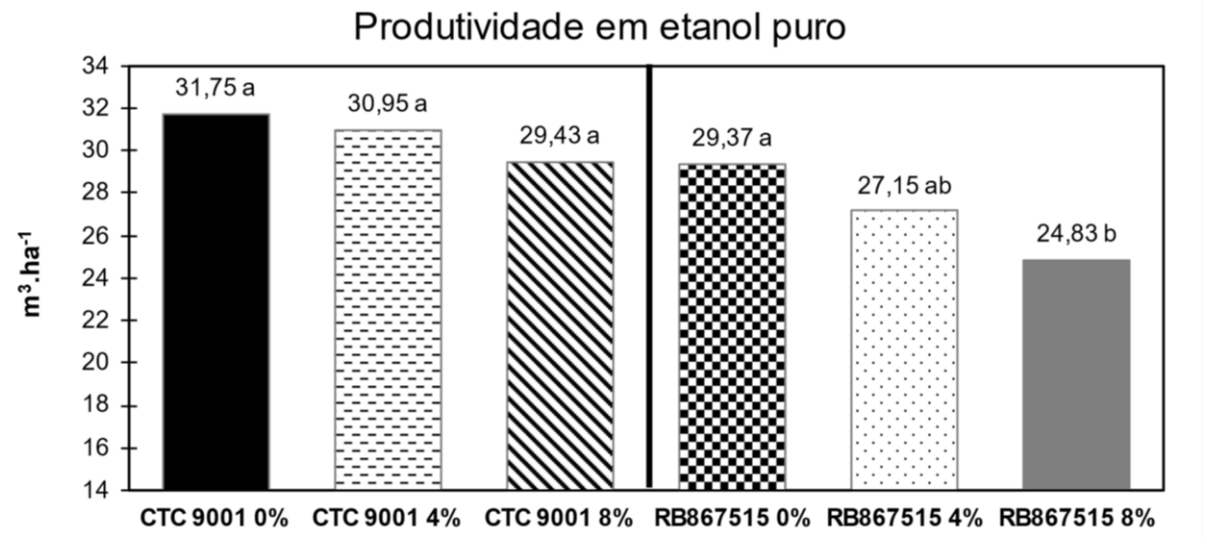
O aumento da eficiência agrícola da cultura da cana-de-açúcar é o maior desafio da cadeia produtiva, sendo um dos principais pontos de apoio de crescimento do setor sucroenergético. Desta forma, iniciativas que resultam na promoção de ganhos na produtividade dos canaviais são de grande importância e apresentam significativa relevância no cenário produtivo nacional.

[1] Preço do etanol em 23-27 de janeiro de 2023, de acordo com Cepea/Esalq.

[1] Valores (R$.$ha^{-1}$) do licenciamento das cultivar CTC 9001 para a safra 2019/20.

Figura 56 - Estimativa da Produção de Etanol ($m^3.ha^{-1}$) para os tratamentos estudados com 100% do caldo da matéria-prima destinado à produção de etanol. . A). Representa a comparação dos tratamentos CTC9001BT, CTC9001 com 8% de I.I.B., CTC7515BT e RB867515 com 8% de I.I.B. B). Representa a comparação de CTC9001 e RB867515 com 0, 4 e 8% I.I.B.. Jaboticabal-SP, 2022.





5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando-se as condições experimentais e a metodologia utilizada na condição dos ensaios, os resultados obtidos suportam as seguintes conclusões:

Considerações gerais

a) O emprego de CTC9001BT e CTC7515BT impactaram positivamente a qualidade da matéria-prima comparativamente a canas com ataque de broca;

b) Colmos de canas das variedades CTC9001 e RB867515 com 4 e 8%I.I.B. apresentaram redução na qualidade da matéria-prima, impactando negativamente os processos industriais e a qualidade dos produtos finais;

c) Caldos extraídos das canas BT proporcionaram maiores teores de Brix, Pol, Pureza, Açúcares Redutores Totais (ART), maior velocidade de sedimentação do lodo e menores concentrações de Açúcares Redutores (AR), Turbidez, Cinzas, Amido e Compostos Fenólicos Totais;

d) Caldos clarificados das canas transgênicas apresentaram maiores teores de Pol e menores concentrações de Acidez Total, Amido e Compostos Fenólicos Totais;

Açúcar

a) Os cristais de açúcar produzidos através do emprego do caldo de CTC9001BT e CTC7515BT apresentaram maior qualidade em relação aos demais tratamentos. Tais açúcares proporcionaram maior teor de Pol e menores concentrações de Cinzas, Amido, Compostos Fenólicos Totais, Turbidez e baixas colorações (Cor ICUMSA);

b) A utilização de canas transgênicas pode proporcionar maior produtividade de açúcar ($t.acúcar.ha^{-1}$).

Etanol

a) A viabilidade das células de leveduras, viabilidade dos brotos e o índice de brotamentos da levedura fermentadora, durante a realização do processo fermentativo, manteve-se em níveis considerados ideais para todos os tratamentos estudados;

b) Vinhos provenientes de fermentações com mosto de variedades BT apresentaram maior teor alcoólico e maior eficiência fermentativa;

c) A utilização de CTC9001BT e CTC7515BT pode proporcionar maior rendimento de etanol ($t.etanol.ha^{-1}$).

5. BIBLIOGRAFIA CITADA

BIBLIOGRAFIA CITADA

ALBUQUERQUE, L. M. **Processo de Fabricação de Açúcar.** EMBRAPA, 2015. V.1. 586 p 2. Ed. UFPE: Recife, 2011.

ALMEIDA JUNIOR, J. J.; SILVA FILHO, E. T.; MARTINS, A. C.; SMILJANIC, K. B. A.; MATOS, F. S. A.; FERREIRA, L. L. Influência da adubação mineral nas variáveis tecnológicas da cultura de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*). In: Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar, 1., 2016, Mineiros, Goiás, **Anais do I Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar**, Mineiros: Centro Universitário de Mineiros, 2016.

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

AMORIM, H. V.; FERNANDES, E. A. N.; NEPOMUCENO; M. F.; TREVIZAN, A. B. From potential to reality: yeasts derived from ethanol production for animal nutrition. **J Radioanal Nucl Chem**, v. 234, p. 113-118, 1998.

AMORIM, H. V.; BASSO, L. C.; ALVES, D. G. **Processos de produção de álcool – controle e monitoramento**. Piracicaba: FERMENTEC/FEALQ/ESALQ-USP, 93p.,1996.

ANYANGWA, E.M.; KAPSEU, C.E.; MUSONGE, P. - The effect and removal of starch the sugar refining industry, Institute Sugar Journal, v. 95, p.210-213, 1993

AZEVEDO, L. C.; SÁ, A. S. C., ROVANI, S., FUNGARO, D. A. Propriedades do amido e suas aplicações em biopolímeros. **Cadernos de Prospecção**, v. 11, p.351-358, 2018. http://dx.doi.org/109771/cp.v11nesp.23173

AZEVEDO, R. E. C.; SILVA, C. N.; GASPARATTO, F.; EMANUELLI, I. P.; CALDAS, C. S.; MAZUCHELI, J.; REZENDE, L. C. S. H. Deterioração de variedades de cana-de-açúcar e influência na produção de bioetanol. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.9, n.7, p.243-250, 2018.

BARBOSA, J. C. e MALDONADO JÚNIOR, W**. Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agronômicos** - AgroEstat, versão 1.1, 2015.

BARIZI, D. **Manejo nutricional complementar de outono e os reflexos na qualidade da matéria-prima e produção de açúcar.** 2021. 37 f. Monografia (Graduação em Engenharia

Agronômica) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2021.

BORGES, R. A.; OLIVEIRA, D. T.; OLIVEIRA, J. M.; OLIVEIRA, D. F. G. Aplicação de alfa amilase no processo e residual zero de enzima no açúcar. In: Congresso Nacional da STAB, 10., 2016, Ribeirão Preto, **10º Congresso nacional STAB - Trabalhos Apresentados**, Piracicaba: STAB, 2016.

BRASIL. Instrução normativa Nº 47, de 30 de agosto de 2018. Estabelece o Regulamento Técnico do Açúcar, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto. **Diário Oficial da União,** Poder Executivo, Brasília, DF, 06 set. 2018. 173 ed. Seção 1, p. 12-15.

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.

CLARKE, M. A.; LEGENDRE, B. L. **Sugar Quality: Impact On Sugar Yield And Quality Factors**. The South African Sufar Technology Association, n. 70, XVI-XIX, 1996.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: Cana-de-açúcar**. Brasília: Conab, Safra 2022/23, Terceiro levantamento, Dez/2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>. Acesso em: 01 fev. 2023.

COSTA, G. H. G. **Emprego do extrato de moringa (Moringa oleífera Lamarck) na clarificação do caldo de cana para produção de açúcar e etanol**. 2015. Tese (Doutorado), Faculdade de Ciências Agrárias e Veteriárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2015.

CREXI, V. T. **Umidade e Cinzas**. Disponível em: <http://cursos.unipampa.edu.br/cursos/engenhariadealimentos/files/2010/09/ap04-2010-Cinzas.doc>. Acesso em: 03 jul. 2019.

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

CTC. **Bula técnica: CTC75151BT**. Centro de Tecnologia Canavieira, 9 p., 2021c. Disponível em: <https://ctc.com.br/

CTC. **Bula técnica: CTC9001**. Centro de Tecnologia Canavieira, 6 p., 2021a. Disponível em: <https://ctc.com.br/produtos/wp-content/uploads/2018/09/Bula-CTC9001-2021.pdf>. Acesso em 20 jan. 2023.

CTC. **Bula técnica: CTC9001BT**. Centro de Tecnologia Canavieira, 9 p., 2021b. Disponível em: <https://ctc.com.br/produtos/wp-content/uploads/2019/07/Bula-CTC9001BT-2021_nova.pdf>. Acesso em 20 jan. 2023.

DELGADO, A. A.; CESAR, M. A. A. **Elementos de tecnologia e engenharia do açúcar de cana**. Sertãozinho: Zanini, v. 2, 752 p., 1977.

DESSOKY, E. S.; ISMAIL, R. M.; ELARABI, N. I.; ABDELHADI, A. A.; ABDALLAH, N. A. Improvement of sugarcane for borer resistance using *Agrobacterium* mediated transformation of cry1Ac gene. **GM Crops & Food**, v. 12, n. 1, p. 47–56 2020. https://doi.org/10.1080/21645698.2020.1809318

DORNEMANN, G. M. **Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e não-redutores**. 2016. 37 f. Monogradia (graduação em Engenharia Química) - Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2016.

EGGLESTON, G. Hot and cold lime clarification in raw sugar manufacture II: Lime addition and settling behavior. **International Sugar Journal**, v. 102, n. 1221, p. 453-457, 2000.

EGGLESTON, G.; VIATOR, R,; GRISHAM, M. Glyphosate ripener effects on theprocessing quality of different sugarcane tissues. **International Society of Sugar Cane Technologists Congress**, v. 26, p.1460-1467, 2007.

FERNANDES, A. C. **Cálculos na Agroindústria da Cana-de-açúcar**. Piracicaba: STAB, 240 p., 2003.

FERNANDES, A. C. **Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar**. Piracicaba: STAB, 3ª Edição. Piracicaba-SP, 416 p., 2011.

FERNANDES, A. C.; STUPIELLO, J. P.; UCHOA, P. E. A. Utilização do Curavial para melhoria da qualidade da cana-de-açúcar. **STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.20, n.4, p.43-46, 2002.

FIGUEIRA, J. A.; CARVALHO, P. H.; SATO, H. H. **Sugarcane starch: quantitative determination and characterization**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.31, n. 3, p. 806-815, 2011.

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

FREITA, C. M. **Substituição de floculante comercial por biofloculante de *Moringa oleífera* Lamarck no setor sucroenergético**. 2017. 99 p. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2017.

GODSHALL, M. A.; LEGENDRE, B. L.; CLARKE; M. A.; MIRANDA, X. M.; BLANCO, R. S.

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

HOOVER, R. Composition, molecular structure and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, n. 3, p.253- 267, 2001

HORIKOSHI, R. J.; FERRARI, G.; DOURADO, P. M.; CLIMACO, J. I.; VERTUAN, H. V.; EVANS, A.; PLEAU, M.; MORRELL, K.; JOSÉ, M. O. M. A.; ANDERSON, H.; MARTINELLI, S.; OVEJERO, R. F. L.; BERGER, G. U.; HEAD, G. MON 95379 Bt maize as a new tool to manage sugarcane borer (*Diatraea saccharalis*) in South America. **Pest Management Science**, v. 78, p. 3456–3466, 2022. https://doi.org/10.1002/ps.6986

INMETRO. **Açúcar**. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/ produtos/acucar.asp#normas>. Acesso em 08 nov. 2020.

IQBAL, A.; KHAN, R. S.; KHAN, M. A.; GUL, K.; JALIL, F.; SHAH, D. A.; RAHMAN, H.; AHMED, T. Genetic engineering approaches for enhanced insect pest resistance in sugarcane. **Molecular Biotechnology**, v. 63, 557-568, 2021. https://doi.org/10.1007/s12033-021-00328-5

KNIGHT, K. M., HEAD, G. P., ROGERS, D. J. Successful development and implementation of a practical proactive resistance management plan for Bt cotton in Australia. **Pest Management Science**, v. 77, n. 10, p. 4262-427, 2021.

LANE, J. H.; EYNON, L. **Determination of reducing sugars by fehling solution with methylene blue indicator**. Journal of the Society of Chemistry Industry, London, v. 42, n. 6, p. 32-37, 1934.

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

LEITE, R. A. **Compostos fenólicos do colmo, bainha, folha e palmito da cana-de-açúcar**. 2000. 169 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

LIMA, R. B. **Processo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar aplicando elétrons acelerados**. 2012. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

MADALENO, L.L. **Cigarrinha-das-raízes na cana-de-açúcar e qualidade do açúcar produzido**. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal). 2011.

MAGRO, J.A., 2005. **Nova maneira de colher manualmente a cana queimada visando a qualidade**. In: 25º Reunião Anual Encontros Fermentec, 2005. Águas de São Pedro: Fermentec. pp. 8

MARIN, F. R. **Variedades**. EMBRAPA, 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/pre-producao/caracteristicas/variedades>. Acesso em 20 jan. 2023.

MENDES, F. Q. **Aplicação de etefom em genótipos de sorgo sacarino e seus reflexos na produção de bioetanol**. 2019. 77 p. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2019.

MUTTON, M. A. 1993. **Modo de ação do sal de isopropilamina de N-(fosfonometil) glicina (glifosate) e efeito maturador na cana-de-açúca**r. Guarujá: Seminário Roundup Efeito Maturador.

MUTTON, M. A.; MUTTON, M. J. R. Fisiologia da maturação e maturadores em cana-de-açúcar. In: Fábio Cesar da Silva; Bruno José Rodrigues Alves; Pedro Luiz de Freitas. (Org.). **Sistema de produção mecanizada da cana-de-açúcar integrada à produção de energia e alimentos**. 1º ed, p. 222-287, Brasília: EMBRAPA, 2015.

MUTTON, M. J. R.; FERRARI, F. C. S.; FREITA, L. A.; FREITA, C. M.; ANDRIETTA, M. G. S.; ANDRIETTA, S. R. Interaction between the production of ethanol and glycerol in fed-batch bioreactors. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 2, p. 389–394, 2019.

MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A.; MADALENO, L. L.; ROSSATO, J. A. S. J.; GUIMARAES, E. R.; RAVANELLI, G. C.; FERRO, M. I. T., FERNANDES, O. A. Estresses

bióticos em cana-de-açúcar: reflexos quali-quantitativos na matéria-prima no processamento industrial. **Bioenergia, Desenvolvimento, Pesquisa e Inovação**: Fronteiras. Editora Unesp. Cultura Acadêmica. 2012.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica de Lehninger. 7. ed. PortoAlegre: Artmed, 2019. 1272 p.

OLIVEIRA, D. T. Parâmetros de qualidade do açúcar e amarelecimento no armazenamento. In: Simpósio Açúcar. **Simpósio Açúcar - CEAGESP**. Araraquara: Hotel Dan In. 2014.

OLIVEIRA, D. T.; ESQUIAVETO, M. M. M.; SILVA JUNIOR, J. F. Impacto dos itens da especificação do açúcar na indústria alimentícia. **Food Science Technology**, v.27, supl, 2007.

OLIVEIRA, W. S.; SAKUNO, C. I. R.; MIRALDO, L. L.; TAVARES, M. A. G. C.; KOMADA, K. M. A.; TERESANI, D.; SANTOS, J. L. X.; HUANG, F. Varied frequencies of resistance alleles to Cry1Ab and Cry1Ac among Brazilian populations of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (F.). **Pest Management Science**, v. 78, p. 5150–5163, 2022. https://doi.org/10.1002/ps.7133

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresource Tecnhonology**, v. 74, p. 25-33, 2000.

PEFEROEN, M. Progress and prospects for field use of bt genes in crops. **Trends in Biotechnology**, v. 15, n. 5, p. 173-177, 1997.

PREFEITURA MUNICIPAL DE VALPARAÍSO. **História da Cidade**. Disponível em: <https://www.valparaiso.sp.gov.br/portal/servicos/1005/historia/>. Acesso em 20 jan. 2023.

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

RIDESA. **Catálogo nacional de variedades "RB" de cana-de-açúcar**. Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro, Curitiba, p. 136, 2010.

SANTOS, F.A. **Análise de trilha dos principais constituintes orgânicos e inorgânicos sobre a cor do caldo em cultivares de cana-de-açúcar**. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de Magister Scientiae. 2008.

SHAHIDI, F.; NACZK, **Phenolics in food and nutraceuticals**. Boca Raton: CRC, 558 p., 2004.

SILVA, D. M.; ANDRADE, N. D. Efeito dos métodos Brix e cromatografia para a determinação de açúcares redutores residuais totais. **Iberoamerican Journal of Indurstrial Engineering**, Brasil, v.10, v.20, p. 186-202, 2018.

SILVA, F. C.; MUTTON, M. J. R.; CÉSAR, M. A. A.; MACHADO Jr., G. R.; MUTTON, M. A.; STUPIELLO, J.P. Qualidade da cana-de-açúcar como matéria-prima. In: SILVA, F. C.; ALVES, B. J. R.; FREITAS, P. L. (Org.). **Sistema de produção mecanizada da cana-de-açúcar integrada à produção de energia e alimentos**. 1a.ed. Brasília: EMBRAPA, 2015, p. 288-359.

SILVA, M. V. B. **Efeito da adição de compostos fenólicos sobre o crescimento de levedura etanologênica (saccharomyces sp.) em meio sintético e em caldo de cana-de-açúcar**. 2013. 77 f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. D. X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.23, n.3, 2003.

STUPIELLO, J. P. O uso de processos enzimáticos. **STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v. 29, n.1, p. 7, 2010.

TESTER, R. F.; KARKALAS, Q. X. Starch structure and digestibility. Enzime- substrate relationship. World's Poultry Science Journal. n. 60, p. 186-195, 2004.

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A. **Starches: Practical Guides for the Food Industry**. Minnesota: Eagan Press,1999, 94 p.

VALSECHI, O. A. **Avaliação da qualidade tecnológica da cana-de-açúcar após o corte, em início de safra-cultivar RB765418**. 1994. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

VERMA, K. K.; SONG, X.; BUDEGUER, F.; NIKPAY, A.; ENRIQUE, R.; SINGH, M.; ZHANG, B.; WU, J.; LI, Y. Genetic engineering: an efficient approach to mitigating biotic and abiotic stresses in sugarcane cultivation. **Plant Signaling & Behavior**, v. 17, n. 1, 10 p., 2022. https://doi.org/10.1080/15592324.2022.2108253

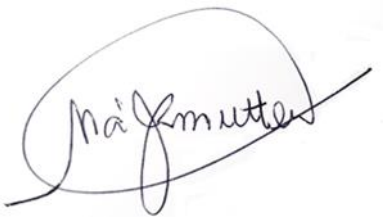
VIANA, R. S. **Aplicação de maturadores químicos no final de safra, associada á eliminação de soqueira em área de reforma do canavial**. 46 f. Dissertação (Mestre em Agronomia) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

VICKERS, J. E.; GROF, C. P. L.; BONNETT, G. D.; JACKSON, P. A.; KNIGHT, D. P.; ROBERTS, S. E.; ROBINSON, S. P. Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic sugarcane results in darkes juice and raw sugar. **Crop Science**, Madison, v. 45, p. 354-362, 2005.

6. DECLARAÇÃO

Este Relatório reflete de forma fiel os resultados obtidos na pesquisa intitulada: **“PRODUÇÃO DE AÇÚCAR E ETANOL, EM ESCALA DE LABORATÓRIO, A PARTIR DO PROCESSAMENTO DE DUAS VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR COM DIFERENTES NÍVEIS DE INFESTAÇÃO DE BROCA”**, realizada nesta Unidade de Ensino Superior, sob nossa responsabilidade.

Jaboticabal, 03 de fevereiro de 2023



Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton
Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental
FCAV/UNESP



Prof. Dr. Miguel Angelo Mutton
Departamento de Ciências da Produção Agrícola
FCAV/UNESP

7. MATERIAL SUPLEMENTAR

ANEXO I - REGULAMENTO TÉCNICO DO AÇÚCAR

Parâmetros de Qualidade do açúcar dos Grupo I e II.

Classes	Tipos	Parâmetros					
		Polarização (°Z mín.)	Umidade (% máx.)	Cor ICUMSA (UI Máx.)	Cinzas Condutimétricas (% máx.)	Pontos Pretos (nº/100g máx.)	Partículas Magnetizáveis (mg/Kg máx.)
Cristal Branco	Cristal	99,5	0,10	300(*)	0,10	20	15
	Refinado Amorfo ou Refinado	99,00	0,30	100	0,20	5	5
	Refinado Granulado	99,80	0,05	60	0,04	5	5
	Confeiteiro	99,00	0,30	150	0,20	5	5
Cristal Bruto	Demerara	96,00	1,20	5.000	0,50	N/A	N/A
	VHP	99,00	0,25	2.500	0,25	N/A	N/A
	VVHP	99,49	0,15	1.000	0,15	N/A	N/A

(*) Admite-se até 400 UI de cor ICUMSA para o produto orgânico, certificado conforme legislação específica

N/A = não se aplica

(BRASIL, 2018)

ANEXO II – Cálculo da eficiência da fermentação pelo método de Fernandes (2011)

A metodologia de Fernandes (2011) foi utilizada para calcular a eficiência da fermentação (%). As fórmulas utilizadas estão abaixo:

$$\textbf{Rendimento ideal} = \frac{\text{ART do mosto}}{100} * \text{volume de mosto} * 0{,}6475$$

Onde:

ART do mosto = % de Açúcares Redutores Totais presente no mosto;

0,6475 =. Representa a razão da conversão estequiométrica de ART para etanol (0,6475 litros de etanol 100% por kg de ART)

$$\textbf{Rendimento teórico} = \text{rendimento ideal} * 0{,}95$$

$$\textbf{Rendimento prático} = \text{rendimento teórico} * 0.95$$

$$\textbf{Rendimento real} = \frac{\text{teor alcoólico do vinho}}{100} * \text{volume de vinho}$$

$$\textbf{Eficiência Fermentativa (\%)} = \frac{\text{rendimento real}}{\text{rendimento prático}} * 100$$

(FERNANDES, 2011)

ANEXO III – Cálculo da conversão de kg ART por tonelada de cana-de-açúcar

A quantidade de açúcar e álcool, na forma pura, é obtida através da divisão dos seus respectivos ART por seus rendimentos teóricos.

O rendimento do açúcar é de 1,0526 (ou 1/0,95) kg ART/kg de açúcar puro e do álcool de 1,5443 kg ART/L de álcool puro.

Para a definição exata de produção de açúcar branco, VHP ou outros, a quantidade de açúcar puro é dividida por suas respectivas polaridades (99,7%, 99,3% e 99,7%), e, em seguida, dividida por 50 kg para determinar o número de sacas de açúcar produzidas.

(FERNANDES, 2003)