

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MINAS GERAIS
UNIDADE FRUTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM
CIÊNCIAS AMBIENTAIS**

**USO DO EXTRATO DE ALGA VERMELHA (*Kappaphycus
alvarezii*) NA CLARIFICAÇÃO DO CALDO DE CANA-DE-
AÇÚCAR E REFLEXOS NA PRODUÇÃO DE ETANOL**

**Giovanni Uema Alcantara
Engenheiro Químico**

**FRUTAL-MG
2023**

GIOVANNI UEMA ALCANTARA

USO DO EXTRATO DE ALGA VERMELHA (*Kappaphycus alvarezii*) NA CLARIFICAÇÃO DO CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR E REFLEXOS NA PRODUÇÃO DE ETANOL

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Minas Gerais – Unidade Frutal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientador

Dr. Gustavo Henrique Gravatim Costa

**FRUTAL-MG
2023**

A347u Alcantara, Giovanni Uema
Uso do extrato de alga vermelha (*Kappaphycus alvarezii*) na clarificação do caldo de cana-de-açúcar e reflexos na produção de etanol / Giovanni Uema Alcantara. - Frutal. - 2023.
100 f. : il., tab., gráf.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado de Minas Gerais - Unidade Frutal, 2023.
Orientador: Gustavo Henrique Gravatim Costa.

1. Biofloculante. 2. Caleagem simples. 3. Setor sucroenergético. 4. Carragenana. 5. Bioenergia. I. Costa, Gustavo Henrique Gravatim. II. Universidade do Estado de Minas Gerais - Unidade Frutal. III. Título.

CDU 620.92

Catálogo na fonte

Bibliotecária: Gesiane Patrícia de Souza CRB-6/1894



GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS

GIOVANNI UEMA ALCÂNTARA

USO DO EXTRATO DE ALGA VERMELHA (*Kappahycus alvarezii*) NA CLARIFICAÇÃO DO CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR E REFLEXOS NA PRODUÇÃO DE ETANOL

Dissertação apresentada a Universidade do Estado de Minas Gerais, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, na área de concentração Ciências Ambientais, Linha de Pesquisa Tecnologia, Ambiente e Sociedade, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 25 de abril de 2023.

Prof. Dr. Raul Andres Martinez Uribe UNESP de Tupã-SP
Prof. Dr. Cristhyane Millena de Freitas UEMG Ituiutaba-MG

PROF. DR. GUSTAVO HENRIQUE GRAVATIM COSTA
ORIENTADOR



Documento assinado eletronicamente por Raúl Andres Martinez Uribe, Usuário Externo, em 25/04/2023, às 13:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por Gustavo Henrique Gravatim Costa, Professor de Educação Superior, em 25/04/2023, às 13:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por Cristhyane Millena de Freitas, Professora de Educação Superior, em 25/04/2023, às 13:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.mg.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 64668483 e o código CRC 2F0A96F4.

Dedico este trabalho a Deus, a
mim, minha família e meus
amigos queridos.

“Descobri que são as pequenas coisas, as tarefas diárias de pessoas comuns que mantém o mal afastado, simples ações de bondade e amor.”

J. R. R. Tolkien

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder o dom da vida e da saúde, por também proporcionar a possibilidade de a cada dia ser uma pessoa melhor. Agradeço também a minha mãe, Nossa Senhora Aparecida por ter sempre intercedido por mim em minha jornada, por ter me curado de minhas feridas e sempre estar intercedendo por mim e todos nós.

Agradeço a minha família linda, maravilhosa e perfeita que sempre amei e continuarei amando. Ao meu Pai Carlos, Mãe Ana, Irmã Letícia, Avó Geni e Beatriz.

Agradeço às empresas LNF Latino Americana, Tanac S.A. Monte Negro, Usina Cerradão e Alambique del Rey, pela contribuição durante as etapas de condução do experimento, com o auxílio de insumos necessários para dar sequência às etapas seguintes do experimento.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela Bolsa de Demanda Social e a FAPEMIG - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Processo APQ-03146-21).

Agradeço ao meu orientador Gustavo, pelas etapas de minha formação e aprendizado, seja na área acadêmica e em demais etapas que contribuíram para o meu crescimento. Agradeço à ele por ter confiado à mim o seu conhecimento, sempre se demonstrando solícito a me ensinar tudo o que fosse necessário e buscar sempre o melhor de mim.

Agradeço a professora Osania pela proatividade sempre, seja durante o processo de instalação do meu experimento e demais etapas. Agradeço pelos conselhos dados e demais auxílios, mesmo nos mínimos detalhes que me auxiliaram demais para eu chegar onde me encontro hoje.

Agradeço a todos os meus amigos que fizeram parte de minha caminhada até o momento, aprendi muito com vocês. Obrigado Lucas, Pedro, Heytor, Larissa, Bruna, Lorrana, Halax, Adriana Barboza, Adriana Duneya, Arthur, Fabio, Taís, Alan, Marília e Fernanda.

RESUMO

O setor sucroenergético destaca-se pela utilização de tecnologias sustentáveis em seus processos produtivos. Entretanto, ainda há o uso, no processo industrial, de insumos originados da indústria petroquímica, como as poliacrilamidas utilizadas no setor de tratamento de caldo, que diminui a sustentabilidade da agroindústria, além dessa molécula apresentar efeitos neurotóxicos a humanos. Neste contexto, faz-se necessário o desenvolvimento de produtos naturais que substituam esses insumos. O objetivo do estudo foi desenvolver um biofloculante a partir da alga vermelha, com base na extração de estruturas mucilaginosas complexas de polissacarídeos (carragenana), avaliando os efeitos da utilização sobre o processo de clarificação, qualidade do caldo clarificado e sobre a produção de etanol. Para preparo do biofloculante, foram conduzidos dois delineamentos experimentais de extração de carragenana, considerando um delineamento univariado e multivariado. Para ambos, avaliou-se o efeito do tempo de secagem, granulometria, concentração, pH, temperatura e tempo de agitação sobre o potencial de extração de carragenana, sendo verificado, em seguida, sua atividade floculante no caldo de cana. Para isso, os caldos de cana obtidos foram padronizados para o pH de 7,0 com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (56 g.L^{-1}), aquecido até ebulição e disposto em sistema de decantação de 1L. Nessa etapa, realizou-se a adição dos extratos no decantador, em 12 doses, as quais variaram de 5 a 1200 mg. L^{-1} . Após tempo de retenção de 20 min, os caldos clarificados foram recuperados por sifonação. O processo de clarificação foi avaliado quanto a Velocidade de Sedimentação, Volume de Lodo e Turbidez. Os caldos extraídos e clarificados foram caracterizados quanto ao Brix, Açúcares Redutores Totais, pH, Acidez Total, Amido e Compostos Fenólicos Totais. Determinada a melhor dosagem do extrato de alga vermelha (EAV), esta foi utilizada em teste comparativo com tratamento Controle, o polímero sintético aniônico (PSA) e polímero orgânico comercial (POC). Após isso, os caldos clarificados foram padronizados para Brix 16%, pH 4,5 e temperatura de 33°C , sendo submetidos a inoculação com levedura industrial CAT-1, iniciando-se a fermentação (erlenmeyer de 500mL / manutenção em B.O.D. à 33°C). Avaliou-se a viabilidade celular, brotamento e viabilidade de brotos da levedura no início e final da fermentação. O vinho foi recuperado por centrifugação e analisado quanto aos parâmetros de açúcares redutores residuais totais, pH, acidez total, teor alcoólico, glicerol e eficiência fermentativa. Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F, e as médias comparadas segundo teste de Tukey (5%). O delineamento multivariado demonstrou uma maior adaptação para o processo de extração, resultando no uso de menores doses dos EAV. Além disso, foi possível avaliar que o uso dos EAV, promovem clarificações similares aos PSA e POC, sem que ocorra efeitos negativos para o processo fermentativo e produção de etanol.

Palavras-chave: Biofloculante, caleagem simples, setor sucroenergético, carragenana, bioenergia.

USE OF RED SEAWEED (*Kappaphycus alvarezii*) IN THE CLARIFICATION OF SUGAR CANE JUICE AND REFLECTIONS ON ETHANOL PRODUCTION.

ABSTRACT

The sugar-energy sector stands out for the use of sustainable technologies in its production processes. However, there is still the use, in the industrial process, of inputs originating from the petrochemical industry, such as the polyacrylamides used in the broth treatment sector, which reduces the sustainability of the agroindustry, in addition to this molecule having neurotoxic effects on humans. In this context, it is necessary to develop natural products that replace these inputs. The objective of the study was to develop a bioflocculant from red seaweed, based on the extraction of complex mucilaginous structures of polysaccharides (carrageenan), evaluating the effects of use on the clarification process, quality of the clarified broth and on ethanol production. To prepare the bioflocculant, two experimental designs for carrageenan extraction were carried out, considering a univariate and multivariate design. For both, the effect of drying time, granulometry, concentration, pH, temperature and agitation time on the potential of carrageenan extraction was evaluated, and then its flocculant activity in sugarcane juice was verified. For this, the obtained sugarcane juices were standardized to a pH of 7.0 with Ca(OH)_2 (56 g.L⁻¹), heated to boiling point and disposed of in a 1L decanting system. At this stage, the extracts were added to the decanter, in 12 doses, which ranged from 5 to 1200 mg. L⁻¹. After a retention time of 20 min, the clarified broths were recovered by siphoning. The clarification process was evaluated for Sedimentation Rate, Sludge Volume and Turbidity. The extracted and clarified juices were characterized for Brix, Total Reducing Sugars, pH, Total Acidity, Starch and Total Phenolic Compounds. Once the best dosage of red seaweed extract (RSE) was determined, it was used in a comparative test with the Control treatment, the anionic synthetic polymer (ASP) and commercial organic polymer (COP). After that, the clarified broths were standardized to Brix 16%, pH 4.5 and temperature of 33°C, being inoculated with industrial yeast CAT-1, starting the fermentation (500mL Erlenmeyer / maintenance in B.O.D. at 33°C). Cell viability, budding and viability of yeast shoots were evaluated at the beginning and end of fermentation. The wine was recovered by centrifugation and analyzed for parameters of total residual reducing sugars, pH, total acidity, alcohol content, glycerol and fermentative efficiency. Data were subjected to analysis of variance using the F test, and means compared using the Tukey test (5%). The multivariate design demonstrated greater adaptation to the extraction process, resulting in the use of lower RSE doses. In addition, it was possible to evaluate that the use of RSE promote clarifications similar to ASP and COP, without negative effects on the fermentation process and ethanol production.

Keywords: Bioflocculant, simple liming, sugar-energy sector, carrageenan, bioenergy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma de processamento da cana-de-açúcar e processo fermentativo.....	21
Figura 2 – Sonda de amostragem de cana-de-açúcar.....	22
Figura 3 – Processos de extração do caldo de cana desfibrada por (A) moenda de 4 ternos com 3 rolos e por (B) difusor.....	23
Figura 4 – Balões flash do tipo convencional (A) e SRI (B).....	30
Figura 5 – Clarificadores do tipo (A) Dorr “ATV” e (B) “RapiDorr”.....	31
Figura 6 – Clarificadores do tipo (A) SRI e (B) LLT.....	32
Figura 7 – Floculante de poliacrilamida.....	33
Figura 8 – Fermentação de alimentação por batelada.....	37
Figura 9 – Fermentação contínua.....	38
Figura 10 – Secagem das amostras de alga (B) em Estufa de circulação forçada (A).....	43
Figura 11 – Separação das amostras de alga com sistema de peneiras (A) em granulometrias diferentes (B).....	44
Figura 12 – Aferição da massa de alga (A) para preparo do extrato (B).....	44
Figura 13 – Etapas de extração do caldo de cana, sendo essas: cana cortada e despilhada (A); moagem; (B); peneiragem (C).....	46
Figura 14 – Processo de clarificação das amostras de caldo de cana, sendo: Caleagem (A); Tempo de retenção – 0 min (B); Tempo de retenção – 20 min (C); Lodo formado (D).....	47
Figura 15 – Resultados obtidos para os testes preliminares para o potencial de extração de polissacarídeos presentes nas amostras de alga vermelha, os quais: A – Tempo de secagem; B – Granulometria.....	51
Figura 16 – Resultados obtidos para os testes preliminares para o potencial de extração de polissacarídeos presentes nas amostras de alga vermelha, os quais: A – Concentração; B – pH.....	52

Figura 17 – Resultados obtidos para os testes preliminares para o potencial de extração de polissacarídeos presentes nas amostras de alga vermelha, os quais: A – Temperatura; B – Tempo de agitação.....	53
Figura 18 – Análise da ANOVA Fatorial com o nível de contribuição dos fatores e das interações entre os mesmos sob o potencial de extração de polissacarídeos das amostras de alga vermelha (<i>Kappaphycus alvarezii</i>). L – Efeito linear; 1 - tempo de secagem (h); 2 – granulometria (mesh); 3 – concentração (g.L^{-1}); 4 – pH; 5 – temperatura ($^{\circ}\text{C}$); 6 – tempo de agitação (min).....	55
Figura 19 – Gráficos de superfície de resposta, considerando as interações entre a variável dependente extração de polissacarídeos e variáveis independentes Concentração x Tempo de secagem (A); Granulometria x pH (B); Granulometria x Tempo de Agitação (C); Temperatura x Concentração (D); Temperatura x pH (E) e Tempo de agitação x Temperatura (F).....	56
Figura 20 – Extrato de alga vermelha (<i>Kappaphycus alvarezii</i>) em concentração de 6g.L^{-1}	58
Figura 21 – Valores médios determinados para (A) percentual de lodo formado (%), (B) Turbidez (NTU) e (C) velocidade de sedimentação (cm.min^{-1}) com uso de diferentes doses de extrato de alga vermelha.....	62
Figura 22 – Valores médios determinados para (A) Brix (%) e (B) compostos fenólicos (ppm) com uso de diferentes doses de extrato de alga vermelha.....	64
Figura 23 – Valores médios determinados para (A) pH e (B) Acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4.\text{L}^{-1}$) com uso de diferentes doses de extrato de alga vermelha.....	64
Figura 24 – Valores médios determinados para (A) volume de lodo (%), (B) Turbidez (NTU) e (C) Velocidade de sedimentação (cm.min^{-1}) com uso de diferentes doses de extrato de alga vermelha.....	65
Figura 25 – Valores médios determinados para (A) Brix (%) e (B) compostos fenólicos (ppm) com uso de diferentes doses de extrato de alga vermelha.....	66
Figura 26 – Valores médios determinados para (A) pH e (B) Acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4.\text{L}^{-1}$) com uso de diferentes doses de extrato de alga vermelha.....	67

Figura 27 – Valores médios determinados para (A) percentual de lodo formado (%), (B) Turbidez (NTU) e (C) velocidade de sedimentação (cm.min^{-1}) com uso de 4 diferentes auxiliares de sedimentação. Controle – C, Polímero Sintético Aniônico – PSA, Polímero Orgânico Comercial – POC e Extrato de Alga Vermelha – EAV.....	70
Figura 28 – Valores médios determinados para (A) Brix (%) e (B) compostos fenólicos (ppm) com uso de 4 diferentes auxiliares de sedimentação. Controle – C, Polímero Sintético Aniônico – PSA, Polímero Orgânico Comercial – POC e Extrato de Alga Vermelha – EAV.....	71
Figura 29 – Valores médios determinados para (A) pH e (B) Acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4.\text{L}^{-1}$) com uso de 4 diferentes auxiliares de sedimentação. Controle – C, Polímero Sintético Aniônico – PSA, Polímero Orgânico Comercial – POC e Extrato de Alga Vermelha – EAV.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Limites de concentrações de compostos metálicos no caldo clarificado.....	21
Tabela 2 – Ensaios para avaliação das interações entre os fatores de Tempo de secagem (h), Granulometria (mesh), Concentração (g.L^{-1}), pH, Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e Tempo de agitação (min) na extração de polissacarídeos das amostras de alga vermelha (<i>Kappaphycus alvarezii</i>).....	99
Tabela 3 – Parâmetros tecnológicos para preparo dos extratos de alga vermelha (<i>Kappaphycus alvarezii</i>).....	54
Tabela 4 – Resultados obtidos para as variáveis resposta correspondentes ao planejamento experimental para preparo de extratos de alga vermelha (<i>Kappaphycus alvarezii</i>).....	100
Tabela 5 – Resultados obtidos para as análises de interações entre os fatores e suas condições para maiores extrações de polissacarídeos totais das amostras de alga vermelha (<i>Kappaphycus alvarezii</i>).....	57
Tabela 6 – Parâmetros tecnológicos para maior extração de carragenina no preparo dos extratos de alga vermelha (<i>Kappaphycus alvarezii</i>).....	58
Tabela 7 – Parâmetros tecnológicos de Brix (%), teor de açúcares redutores totais - ART (%), açúcares redutores - AR (%), massa de sacarose aparente/Pol (%), pureza (%), compostos fenólicos (ppm), turbidez (NTU), pH, Acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4.\text{L}^{-1}$), cinzas (%) e amido (ppm) para amostras de caldo de cana extraídos das variedades RB867515.....	60
Tabela 8 – Parâmetros tecnológicos de Brix (%), teor de açúcares redutores totais (%), açúcares redutores (%), massa de sacarose aparente/Pol (%), pureza (%), compostos fenólicos (ppm), turbidez (NTU), pH, Acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4.\text{L}^{-1}$), cinzas (%) e amido (ppm) para amostras de caldo de cana extraídos das variedades CTC 072361.....	61
Tabela 9 – Principais comparações entre os métodos de extração univariado e multivariado.....	68

Tabela 10 – Valores médios determinados de teor de açúcares redutores totais (%), compostos fenólicos (ppm) e Acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4\cdot\text{L}^{-1}$) para as amostras de mosto dos caldos de cana clarificados com 4 tratamentos diferentes.....	73
Tabela 11 – Valores médios obtidos para viabilidade celular, índice de brotamento e viabilidade de brotos ao início e final do processo fermentativo de mostos de caldo de cana clarificados.....	74
Tabela 12 – Valores médios determinados de teor de açúcares redutores residuários totais (%), pH, acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4\cdot\text{L}^{-1}$), Teor alcoólico ($^{\circ}\text{GL}$) e Glicerol (%) para amostras de vinho de caldo clarificados de cana fermentados.....	75

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVO GERAL	19
2.1 Objetivos específicos	19
3. REFERENCIAL TEÓRICO	20
3.1 Cana-de-açúcar.....	20
3.2 Fluxograma de processos	21
3.2.1 Colheita, transporte e amostragem de matéria-prima	22
3.2.2 Extração do caldo	23
3.2.3 Qualidade da matéria-prima.....	24
3.2.4 Clarificação	26
3.2.4.1 Caleagem simples	26
3.2.5 Aquecedores.....	29
3.2.6 Desaerador ou “Balão de flash”	29
3.2.7 Decantadores	30
3.2.8 Floculantes	33
3.2.9 Biofloculantes	34
3.3 Alga vermelha (<i>Kappaphycus alvarezii</i>).....	35
3.4 Processo fermentativo	36
3.4.1 Mosto	36
3.4.2 Fermentação	37
3.4.3 Destilação	39
4. MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1 Padronização da análise de polissacarídeos totais	41
4.2 Delineamentos experimentais de extração	41
4.2.1 Delineamento Univariado	42
4.2.1.1 Preparo e parâmetros de análise.....	43
4.2.1.1.1 Tempo de secagem.....	43
4.2.1.1.2 Granulometria	44
4.2.1.1.3 Proporção Alga e Solução Extrativa	44

4.2.1.1.4 pH.....	45
4.2.1.1.5 Temperatura de extração	45
4.2.1.1.6 Tempo de agitação	45
4.2.2 Delineamento Multivariado	45
4.3 Extração dos caldos e testes de dosagem	46
4.3.1 Extração e qualidade dos caldos	46
4.3.2 Teste de dosagem	47
4.4 Teste de comparação	48
4.5 Preparo e caracterização dos mostos.....	48
4.6 Processos fermentativos e caracterização dos vinhos	48
4.7 Análise dos dados.....	49
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	50
5.1 Delineamentos experimentais de extração	50
5.1.1 Delineamento de extração Uni-variado.....	50
5.1.2 Delineamento de extração Multivariado	54
5.2 Testes de dosagem.....	59
5.2.1 Qualidade dos caldos extraídos.....	59
5.2.1.1 Variedade RB867515	59
5.2.1.2 Variedade CTC 072361.....	60
5.2.2 Ensaio 1 (Delineamento de extração uni-variado).....	62
5.2.3 Ensaio 2 (Delineamento de extração multivariado).....	65
5.2.4 Comparação entre os métodos de extração	68
5.3 Teste de comparação e análise dos mostos	70
5.4 Processo fermentativo e análise dos vinhos	74
CONCLUSÃO.....	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
APÊNDICES	98

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o Brasil vem buscando uma diversificação de sua Matriz Energética, com foco principal na geração de energia através de fontes renováveis. Dentre essas, destaca-se a obtenção do bioetanol, o qual é majoritariamente produzido no Brasil a partir da cana-de-açúcar. Segundo dados da Conab (2022), para a Safra de 2022/23, estima-se uma produção de 31,13 bilhões de litros do biocombustível.

O processo de produção do bioetanol inicia-se com o processamento dos colmos da cana, obtendo-se uma mistura complexa denominada de caldo. Esse é composto por componentes insolúveis (fibras de celulose, lignina e pentosanas) e solúveis (água, sacarose, frutose, glicose, aminoácidos, ácidos orgânicos, ceras e outras biomoléculas) (MARQUES et al., 2008). Destaca-se que a presença de alguns compostos não-açucarados no caldo extraído, como ácidos orgânicos, dextrana e compostos fenólicos, pode ser prejudicial ao rendimento industrial, podendo afetar a fisiologia da levedura durante o processo fermentativo e, conseqüentemente, a quantidade de etanol produzida (HONIG, 1969; MUTTON, 2008; MARQUES et al., 2008).

Para a remoção de tais componentes que interferem no processo de obtenção do etanol combustível, torna necessária etapa de clarificação do caldo de cana, com procedimentos de tratamento por via física (peneiragem) e química com controle de temperatura e uso de produtos químicos como leite de cal, óxido de magnésio, dentre outros (DELGADO; CESAR, 1977).

Acerca disso, tem-se como auxiliares ao processo químico os floculantes sintéticos de poliacrilamida, desempenham o papel de auxiliares na clarificação do caldo de cana, para que haja a sedimentação e remoção desses constituintes indesejados do caldo de cana de forma mais rápida e eficiente (REIN, 2012; ZHUANG et al., 2012). Entretanto, deve-se destacar que essas moléculas apresentam possíveis ações neurotóxicas e cancerígenas em seres humanos (TORO et al., 2022), havendo na limitação recomendada na dosagem utilizada no processo de valores até 5 mg.L⁻¹ (FDA, 2021).

Além disso, pode ser descrito seu incentivo à indústria petroquímica, através da extração (AL-KINDI et al., 2022) e manutenção de reservas de petróleo (MENDES; OLIVEIRA;

MANSUR, 2023), seus impactos negativos ao meio ambiente são prolongados (XIONG et al., 2018), reduzindo a sustentabilidade da indústria sucroenergética de forma significativa.

Outro ponto a se destacar é sua relação de oferta e custo de produção ficarem sujeitos a variações do mercado externo, por sua produção ocorrer principalmente no continente asiático (BRC, 2023; MI, 2023).

Com isso, a utilização de biopolímeros torna-se uma possibilidade na substituição desses auxiliares sintéticos de sedimentação das impurezas do caldo de cana, devido ao seu potencial similar aos polímeros comerciais e seu baixo impacto ao meio ambiente (MAKUR; DURASAMY; BIRHAU, 2019). Entre esses, destacam-se a moringa (COSTA et al., 2018a; TEIXEIRA et al., 2021), o hibisco (THANGAMUTHU; KHANDAGAVE, 2010), acácia negra (LEITE, 2018; DA SILVA et al., 2019), dentre outros. O uso desses bioprodutos pode estimular, ainda, a economia circular no país, auxiliando na geração de empregos, garantia de oferta, sustentabilidade ambiental e redução do impacto de variações cambiais sobre o preço do produto.

Acerca deste assunto, cabe avaliar a utilização das algas vermelhas para a produção de biofloculantes, a qual possui potencial biotecnológico devido suas estruturas de polissacarídeos de carragenana, com a alta presença de agentes gelatinizantes (MONTOLALU et al., 2008; PAUL; TSENG, 2012). Segundo Pereira (2010), as carragenanas são descritas como substâncias mucilaginosas presentes na estrutura vegetal das algas vermelhas, de elevada característica aniônica e concentração de íons de sulfato (OSO_3) e grupos carboxílicos (COO).

Atualmente, a aplicação das algas vermelhas destina-se, principalmente, ao mercado alimentício (SCIESZKA; KLEWICKA, 2019; JAYAKODY et al., 2022; VENIL et al., 2022), com seu foco principal em aditivos alimentares através de seus agentes gelatinizantes, estabilizantes e ação clarificante em bebidas fermentadas como a cerveja (NISIZAWA, 1987; MCHUGH, 2003), tendo como grandes produtores países como a Índia e Malásia (PAUL; TSENG, 2012; PRIYADHARSINI; DAWN, 2021).

Cabe destacar que, novas linhas de pesquisas buscam avaliar o seu potencial para o seu uso em diversos setores da economia, sendo estes para a produção de etanol combustível (SUNWOO et al., 2016; HESSAMI et al., 2019), bioestimulantes (KARTHIKEYAN; SHANMUGAM, 2017) e otimizar processos de extração de seus polissacarídeos (WEBBER et al., 2012; MARTINY et al. 2017).

Isto possibilita avaliar outras aplicabilidades, como sua utilização no processo de clarificação do caldo de cana e obtenção do bioetanol. Portanto, o presente estudo buscou avaliar o efeito do processo de extração da carragenana presentes em amostras de alga vermelha (*Kappaphycus alvarezii*), sendo comparados dois métodos de extração, com posterior aplicação de seus extratos na clarificação de caldos de cana-de-açúcar, avaliando seus efeitos na obtenção do etanol combustível.

2. OBJETIVO GERAL

Desenvolver um floculante natural a partir da alga vermelha (*Kappaphycus alvarezii*) para ser utilizado como auxiliar de sedimentação no processo de tratamento do caldo de cana-de-açúcar, verificando-se os efeitos sobre o processo de clarificação, qualidade do caldo clarificado e sobre a produção de etanol.

2.1 Objetivos específicos

- Avaliar a extração dos polissacarídeos da alga vermelha, através de dois delineamentos experimentais (univariado e multivariado);
- Determinar a melhor dosagem dos extratos utilizados como auxiliar de sedimentação de impurezas presentes no caldo de cana;
- Avaliar o processo de clarificação do caldo de cana utilizando alga vermelha em comparação ao polieletrólito sintético e orgânico comercial;
- Avaliar os reflexos do processamento do caldo de cana clarificado com alga vermelha sobre a produção de etanol.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Cana-de-açúcar

Pertence à família *Poaceae* (gramíneas) e gênero *Saccharum*, a cana-de-açúcar é caracterizada pela formação de compostos orgânicos com quatro carbonos (planta C4), possuindo assim elevada e eficiente taxa fotossintética, com assimilação do CO₂ do ambiente e adaptação a condições de luminosidade, altas temperaturas e relativa escassez hídrica (SEGATO *et al.*, 2006).

A cana-de-açúcar é dividida em constituintes insolúveis, representados por fibras de celulose, lignina e pentosanas, em concentrações de 8 a 18%. Os constituintes solúveis desta planta estão presentes na proporção de 78 a 91% da cana, sendo este representado principalmente por água (75 a 82%) e sólidos solubilizados (18 a 25%). Entre esses, pode-se mencionar o teor de açúcares como sacarose (10 a 20%), glicose e frutose (0,1 a 0,2%), assim como compostos de não açúcares – aminoácidos, ácidos orgânicos, ceras, gorduras, gomas, corantes, sais orgânicos, dentre outras biomoléculas – expressas na ordem de 1 a 2,5% (LIMA *et al.*, 2001; MARQUES *et al.*, 2008).

Através disso, os compostos de não açúcares, como os ácidos orgânicos e componentes metálicos (alumínio, cálcio, potássio, fósforo, etc.), são responsáveis por desacelerar o processo de clarificação do caldo. Isto acarreta na formação ácidos orgânicos e predominância em proporções equivalentes de outros ácidos auxiliares ao processo de clarificação (fosfórico e sulfuroso), acumulando impurezas nos caldos clarificados e possibilidade de perdas de açúcares por acelerar a inversão dos mesmos. Para os componentes metálicos, estipula-se que seus efeitos sejam diretamente no processo metabólico da levedura, os quais em valores superiores aos limites tolerados (Tabela 1), pode acarretar em baixos índices de eficiência fermentativo (HONIG, 1969; LIMA *et al.*, 2001).

Além disso, pode-se verificar que são necessários procedimentos de remoção de tais impurezas presentes, naturalmente ou não, no caldo, podendo estas acarretar em impactos negativos aos processos industriais, bem como influenciar diretamente no teor de açúcares disponíveis para os processos fermentativos (MUTTON, 2008; MARQUES *et al.*, 2008).

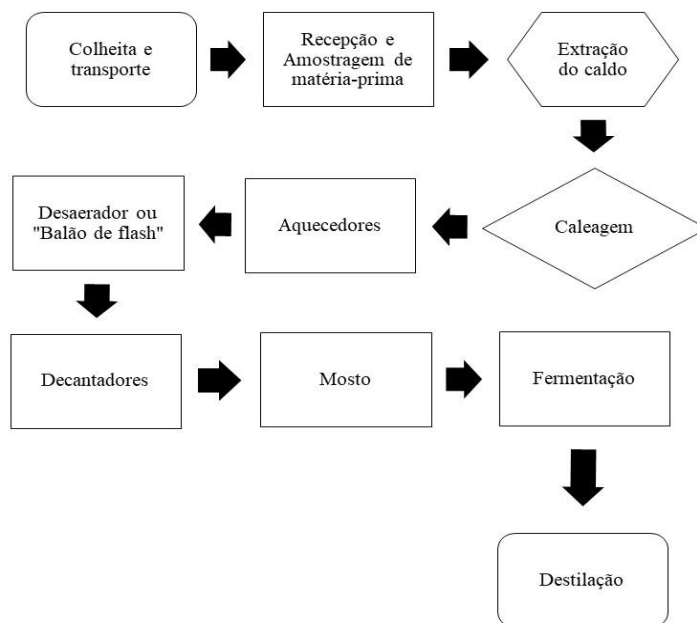
Tabela 1: Limites de concentrações de compostos metálicos no caldo clarificado

Íon metálico	Concentração (ppm)
Ca^{2+}	120 - 1200
Mg^{2+}	70 - 200
Na^+	200
Zn^{2+}	0,5 - 1
Fe^{2+}	0,2
Al^{3+}	5 - 25

Fonte: Adaptado de Honig (1969); Lima et al. (2001); Costa et al. (2018b)

3.2 Fluxograma de processos

Com relação ao processamento da cana-de-açúcar, diversos processos industriais são associados a obtenção de um caldo de cana com alta qualidade, com altos teores de açúcares e baixa concentração de impurezas (MARQUES et al., 2008). Com isso, as mesmas etapas estão representadas pelo Figura 1, a qual representa o fluxograma de processos.

**Figura 1** – Fluxograma de processamento da cana-de-açúcar e processo fermentativo

Fonte: Adaptado de Belluco e Alcarde, 2008.

3.2.1 Colheita, transporte e amostragem de matéria-prima

Após seu período de maturação, a cana é então colhida pelo sistema mecanizado de colhedora, e transportada pelo veículo de transbordo, denominado de caminhão rodotrem, o qual conduzirá a cana colhida para a usina (ROSSETTO, 2000; MAGALHÃES, 2022). Após a etapa de colheita, os veículos recepcionados são pesados – havendo a seleção aleatória de um veículo para a amostragem –com auxílio de uma sonda mecânica de tubo rotativo com diâmetro de 150 a 200 mm, como é demonstrado pela Figura 2 (REIN, 2012; COSTA, 2015).

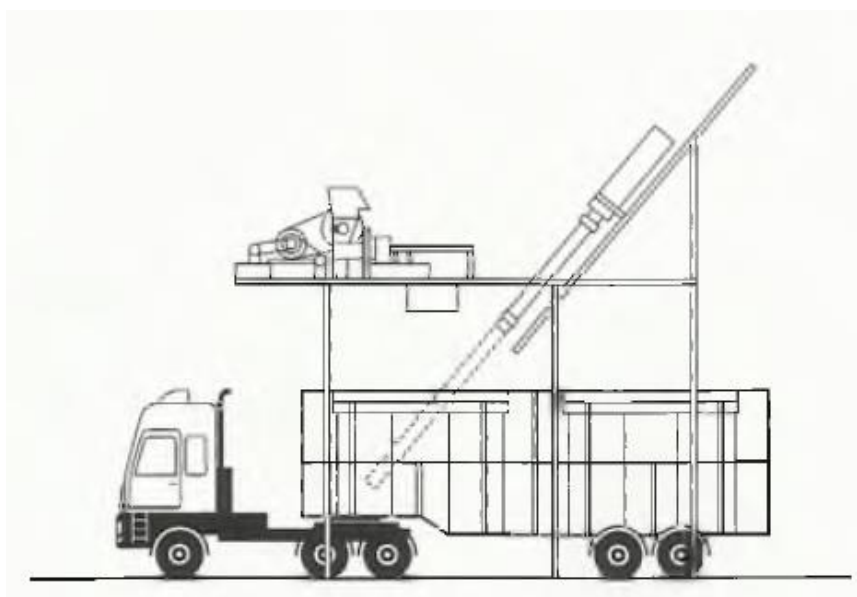


Figura 2 – Sonda de amostragem de cana-de-açúcar
Fonte: REIN, 2012.

Posterior a recepção, o teor de sacarose e fibras da matéria-prima é determinado, analisando-se a quantidade de Açúcar Total Recuperável (ATR), indicada pela quantidade de açúcar a ser recuperado por tonelada de cana processada. Este parâmetro serve como forma de pagamento do fornecedor da matéria-prima e indicador para calcular estimativas do rendimento industrial (ALBUQUERQUE, 2011).

Em seguida, a cana amostrada é descarregada em mesas laterais de 45°, sendo conduzidas por esteiras rotativas para a etapas seguintes. A cana passa por 3 principais equipamentos de preparo, sendo estes: o nivelador, no qual a camada de alimentação torna-se mais uniforme e

aumenta sua superfície de contato em um tambor metálico; o picador, ocorrendo a redução do tamanho da cana em forma de toletes com auxílio de facas de ferro fundido; o desfibrador, constituído de martelos bascular que pressionam a cana sobre a parede do equipamento, resultando na cana desfibrada (ALBUQUERQUE, 2011; REIN, 2012). A cana então é conduzida para a etapa de moagem, a qual consiste no processo de extração do caldo. Esta pode ocorrer de duas principais formas: por utilização de moenda ou difusor (ALBUQUERQUE, 2011).

3.2.2 Extração do caldo

A moenda é constituída por 4 ternos com 3 cilindros cada, sustentados por estruturas metálicas (pedestais ou “castelos”) e dispostos em forma de triângulo isósceles, os quais possuem em seus cilindros ranhuras e pelo efeito de pressão, sendo assim extraído o caldo da cana desfibrada (DELGADO; CESAR, 1977). Neste sistema, ainda se utiliza de um quarto cilindro, para direcionar a alimentação para as demais unidades de moagem (REIN, 2012). No difusor, a cana desfibrada é lavada com água quente (75°C) em diversos estágios, com o objetivo de extrair maiores quantidades de açúcares da cana por efeito de lixiviação (ALBUQUERQUE, 2011; OLIVERIO et al., 2014). Estes procedimentos de extração do caldo podem ser verificados na Figura 3.

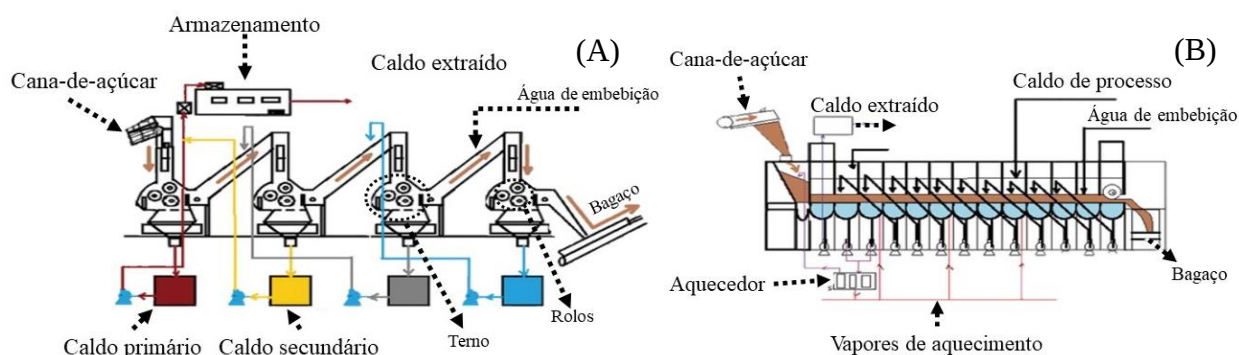


Figura 3 – Processos de extração do caldo de cana desfibrada por (A) moenda de 4 ternos com 3 rolos e por (B) difusor

Fonte: OLIVERIO et al., 2014.

Junto à extração do caldo, é realizado o procedimento de embebição, no qual consiste na adição de água ou caldo diluído ao o bagaço, em forma de aspersão, resultante da última unidade de moagem. A embebição pode funcionar de forma simples na qual o processo de aspersão da água ou caldo diluído ocorre em dois (aspersão simples dupla), três (aspersão simples tripla) ou mais pontos entre as unidades de moagem. Este por sua vez, pode prosseguir também de forma composta, na qual ocorre a aspersão do líquido de lixiviação (água ou caldo diluído) na parte superior, havendo a recirculação do mesmo entre mais de um ou mais pontos das unidades de moagem (DELGADO; CESAR, 1977).

Posterior ao processo de moagem, realiza-se o processo de peneiragem, para que haja a separação de particulados maiores em suspensão (componentes insolúveis) do caldo extraído – areia, terra e bagacilhos fibrosos – provenientes das etapas de colheita, transporte e moagem da cana-de-açúcar processada (MARQUES *et al.*, 2008).

Através disso, recomenda-se a disposição de peneiras do tipo fixas, vibratórias ou rotativas. Com a separação inicial dos bagacilhos, o caldo é submetido à separadores do tipo ciclone, para diminuir a presença de terra no meio (REIN, 2012). Este procedimento torna-se necessário, considerando o efeito que tais componentes nas etapas de remoção de impurezas e formação do lodo durante a decantação. Cabe ressaltar ainda que, uma maior presença dessas impurezas promove entupimentos de bombas e incrustações em equipamentos e tubulações (ALBUQUERQUE, 2011).

3.2.3 Qualidade da matéria-prima

A qualidade da cana-de-açúcar refere-se ao conteúdo presente em seu material vegetal e caldo extraído, o qual em matérias-primas de baixa qualidade – com alto teor de particulados indesejados (bagacilhos, terra, areia, etc.) – pode acarretar em perdas de açúcares durante o seu processamento, em função do acúmulo de impurezas (MARQUES *et al.*, 2008).

Além disso, matérias-primas consideradas de boa qualidade, apresentam condições ideais para o seu processamento, com baixa incidência de doenças fúngicas e virais (PUTRA; KRISTINI; JATI, 2023; RAO, 2023), baixa infestação de brocas (ALMEIDA *et al.*, 2019) e demais patógenos (XU *et al.*, 2019), bem como caldos de cana com teores de açúcares redutores totais $\geq 15\%$ e pureza

$\geq 85\%$ (AMORIM, 2006), com acidez entre 0,2 e 0,7% (DELGADO; CESAR, 1977) e compostos fenólicos inferiores a 500 ppm (MUTTON et al., 2021).

Tais compostos são resultantes do processo de metabolização dos açúcares (sacarose, glicose e frutose), tendo como principais agentes a bactéria *Leuconostoc sp.* e *Lactobacillus sp.*, as quais promovem a formação de moléculas indesejadas como dextranas (*Leuconostoc sp.*) e ácido láctico (*Lactobacillus sp.*) (MARQUES et al., 2008).

Na formação das dextranas, com a liberação de frutose e devido a mesma (frutose) possuir alta instabilidade no meio, há um aumento de formação de ácidos orgânicos. Com isso, ocorre a diminuição do pH do meio, promovendo uma necessidade maior no uso de cal na alcalinização do meio e períodos de decantação maiores. Através de sua formação, o ácido láctico promove o efeito de “floculação” da levedura nas dornas de fermentação (MARQUES et al., 2008). Através disso, esta reação torna-se responsável pelo comprometimento da conversão dos açúcares em etanol e CO₂, devido a redução da superfície de contato da levedura com o mosto (CECCATO-ANTONINI, 2012).

Além dos ácidos orgânicos, outros coloides indesejados devem ser removidos do caldo. Essas biomoléculas, geralmente resultantes de processos de inversão da sacarose, resultam em reações intermediárias como a formação de compostos de furfural, compostos fenólicos e álcoois (HONIG, 1969). Através dessas, além do aumento de contaminantes prejudiciais para a fermentação, pode desencadear em trocas de calor ineficientes entre o caldo e equipamentos, modificando-se sua constituição e aumentando-se o consumo de insumos, onerando o processo industrial (VILELA; D’AVILA; MENATO, 2008).

Referente ao processo fermentativo, com diminuição da atividade da levedura em caldos com maior presença desses contaminantes, principalmente compostos fenólicos (MUTTON et al., 2020), há a necessidade de tratamentos térmicos e químicos denominados de clarificação, para haja a separação dos compostos açucarados (sacarose, glicose e frutose) desses coloides indesejados (VILELA; D’AVILA; MENATO, 2008).

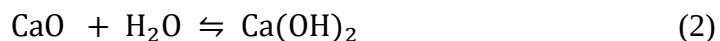
3.2.4 Clarificação

A clarificação consiste no procedimento da remoção compostos moleculares, iônicos e coloides menores indesejados, os quais não foram retidos no processo de peneiragem (DELGADO; CESAR, 1977).

Com isso, os principais processos de clarificação podem ser classificados em caleagem simples, destacando-se tratamentos alternativos como a utilização de ozônio (RODRIGUES; SPERANDIO; ANDRADE, 2017) e do processo de carbonatação, com estudos avaliando a utilização da eletrocoagulação no tratamento do caldo de cana (OGANDO et al., 2019). Entretanto, para a produção de etanol, somente o processo de caleagem simples é utilizado, sendo os demais procedimentos destinados principalmente à fabricação do açúcar (HUGOT, 1969; VILELA; D'AVILA; MENATO, 2008).

3.2.4.1 Caleagem simples

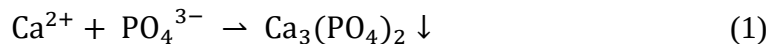
Através da adição de leite de cal de forma contínua e preparado em um sistema de tanques metálicos, o pH do caldo extraído (4,8 – 5,6) é ajustado para valores na ordem de 6,0 – 6,2, para processos de produção de etanol; e ajustado para valores de 7,0 – 8,0 para processo de produção de açúcar (VILELA; D'AVILA; MENATO, 2008). Para isso, a alcalinização do meio ocorre através da adição de hidróxido de cálcio $[Ca(OH)_2]$, preparado a partir da hidratação da cal virgem (CaO) até proporções de 4 a 6° Baumé. Esta reação está representada pela Equação 2 (DELGADO; CESAR, 1977).



Com isso, durante a etapa de ajuste do pH do meio, a cal hidratada apresenta um comportamento de diminuição de solubilidade em temperatura ambiente. Dessa forma, torna-se necessário o aumento da temperatura durante as etapas seguintes, para auxiliar o processo de remoção dos particulados não eliminados durante a etapa peneiragem do caldo extraído (HUGOT, 1969).

Além disso, por meio do efeito de coagulação, são formados compostos insolúveis de

fosfato de tricálcio [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$], os quais precipitam em meios com pH no intervalo de 7,0 a 7,3 (REIN, 2012). A reação de precipitação dos compostos de fosfato de tricálcio está representada pela Equação 1 (DELGADO; CESAR, 1977).



Através do efeito de arraste de impurezas, ocorre a diminuição da turbidez e pureza do caldo, havendo uma menor concentração de compostos de não-açúcares. Além disso, verifica-se que através do aumento do pH, processos de inversão dos açúcares tornam-se mínimos, evitando-se perdas significativas nos valores de compostos açucarados (VILELA; D'AVILA; MENATO, 2008).

O leite de cal é preparado sob baixa agitação (8 a 10 rpm) com água a temperatura ambiente, sendo utilizados tanques metálicos de material que não sofra processos de corrosão por efeito do cálcio utilizado. Recomenda-se um preparo de ao menos 2h, para que a solução esteja homogênea e respeitando as proporções de CaO – de 4 a 6º Baumé (REIN, 2012).

Neste processo, necessita-se de um elevado controle de seus parâmetros operacionais, uma vez que a maior presença de coloides como os ácidos orgânicos tende a diminuir o pH do meio. Isto pode aumentar o consumo de leite de cal no controle do pH, resultando em maiores concentrações de íons de Ca^{2+} e problemas relacionados a deposição e incrustações em equipamentos, bem como resultar na degradação dos açúcares redutores (glicose e frutose), em meios com valores elevados de pH superiores a 7,3 e temperaturas que excedam 100°C, com consequentes perdas de substrato para a fermentação alcoólica (REIN, 2012).

Podem ser destacados também os três principais tipos de caleagem. A primeira a ser destacada é a caleagem a frio, operando a temperatura ambiente, o caldo é acondicionado em um tanque incubador para a dosagem direta do leite de cal. O pH do meio é controlado até atingir valores desejados - 6,0 a 8,0, a depender do produto a ser fabricado – mantendo-se a temperatura do meio em valores próximos a 40°C por um período de 8 min. O caldo então é direcionado para aquecedores tubulares, atingindo temperaturas até ebulição (100 – 105 °C), direcionado para tanques do tipo flash (1 min) e posteriormente para um decantador, permanecendo no mesmo por um período de 1 – 2 h, para que haja a deposição das impurezas (EGGLESTON; MONGE; PEPPERMAN, 2002).

A caleagem intermediária caracteriza-se pelo processo de pré-aquecimento de proporções

do caldo a ser clarificado. Este processo opera em duas linhas, uma na qual 70% do caldo extraído é direcionado diretamente para o tanque de incubação e dosagem de leite de cal; a segunda tem 30% do caldo extraído direcionado para um aquecedor, para acondicionamento do caldo para temperaturas nos valores de 87 a 93°C. O caldo homogeneizado no tanque de incubação tem seu pH ajustado – conforme especificação do processo – e temperatura do meio próxima a 54°C. Através disso, essas etapas tem por objetivo auxiliar no processo de degradação de moléculas indesejáveis no caldo, tais como amido e dextranas presentes no meio. Após o controle do pH, o caldo segue para o seu aquecimento (100 – 105°C), passagem pelo balão de flash e decantador, com um período de 1 – 2h (EGGLESTON; MONGE; PEPPERMAN, 2002).

A terceira metodologia de caleagem é denominada de caleagem a quente. Essa é composta por um processo de aquecimento prévio do caldo extraído, até atingir temperaturas entre 70 e 76 °C. Após o pré-aquecimento, este é submetido ao controle do pH (6,0 – 8,0), direcionado para aquecedores tubulares até temperatura de ebulição (100 – 105°C), sendo direcionado para o balão de flash e em seguida para os decantadores (DELGADO; CESAR, 1977).

Para os procedimentos de caleagem o conteúdo de íons de óxido de cálcio (Ca^{2+}) presente no caldo clarificado deve ser considerado, o qual dependente da quantidade de cal utilizada, assim como o aumento e diminuição da temperatura, outros fatores interferem diretamente no processo de solubilidade dos íons Ca^{2+} , o qual em concentrações excedentes (>120 ppm), podem acarretar em problemas de rendimento no processo fermentativo (LIMA et al., 2001).

Segundo Costa *et al.* (2018b), a presença de íons de cálcio no caldo clarificado afeta negativamente o processo metabólico da levedura. Este fato foi verificado em um intervalo de 300 a 900 mg/L, através da diminuição de índices de viabilidade celular, os quais apresentaram valores insatisfatórios em concentrações próximas a 1200 mg/L, com menor eficiência fermentativa (32%).

Outro problema a ser destacado é quanto ao acúmulo do cálcio nos equipamentos, o qual devido a utilização do leite de cal em excesso, sais complexos são formados e precipitados durante os tratamentos térmicos (processos de aquecimento e resfriamento). Como resultado, com a deposição destes precipitados nos equipamentos, manutenções constantes tornam-se necessárias e o rendimento é afetado (REIN, 2012).

3.2.5 Aquecedores

Os aquecedores são classificados, de maneira geral, como equipamentos de seção circular e fechados em suas extremidades. São responsáveis pela etapa de elevação da temperatura do caldo entre os valores de 100 a 105°C, não sendo superiores a estes valores (>105°C), para que sejam evitados problemas de emulsificação e dificuldade na remoção de ceras presentes no meio. Estes equipamentos são constituídos de chapas tubulares fechadas e um espaço interno fechado e vazio, sendo todos de mesmo material do aquecedor. O caldo é conduzido internamente por essas tubulações, sendo que os vapores de aquecimento têm seu fluxo de contato e aquecimento do caldo de forma indireta nesse espaço vazio entre as tubulações (DELGADO; CESAR, 1977).

Com isso, durante as etapas de aquecimento do caldo, o fator de velocidade do caldo deve ser levado em consideração, uma vez que esse deva estar entre intervalos de 1,5 a 2,0 m/s. Recomendam-se estes parâmetros, a medida que se considera que em valores inferiores há uma maior possibilidade de incrustações e queda abrupta na temperatura do caldo, bem como em valores superiores há possíveis perdas de carga e eficiência na troca de calor, com um maior acúmulo de gases internos indesejáveis, como O₂, CO₂, nitrogênio, etc (DELGADO; CESAR, 1977).

3.2.6 Desaerador ou “Balão de flash”

Dessa forma, torna-se necessária a utilização de outro equipamento para que prossiga com a eliminação de gases indesejáveis presentes no meio. Para isso, o balão de flash ou tanque desaerador flash, tem por objetivo realizar a dispersão do constituinte gasoso do meio. Com o aquecimento prévio do caldo até temperaturas acima da ebulição (100 – 105°C), através do resfriamento por descompressão rápida até valores mínimos de 101 °C (EGGLESTON; MONGE; PEPPERMAN, 2002), o balão de flash além de assegurar a remoção de gases não eliminados nos aquecedores, permite que o caldo seja transferido para o decantador com temperaturas constantes (REIN, 2012).

Podem ser utilizados dois principais tipos. O primeiro é o convencional, o qual o caldo aquecido é direcionado para o mesmo, sem necessidade de manter um nível interno mínimo de

líquido, com sua saída de ar localiza-se na parte superior do equipamento. O segundo é o tipo SRI, no qual o caldo é despejado em uma estrutura interna chamada de placa de dispersão, devendo ser mantido um nível mínimo de caldo, com a saída de ar no topo do equipamento. Suas configurações podem ser verificadas na Figura 4 (REIN, 2012). Cabe ainda ressaltar que o mesmo equipamento tem por função desacelerar o caldo, evitando-se que perdas de carga e turbilhonamento ocorram na condução e permanência do líquido no decantador (ALBUQUERQUE, 2011).

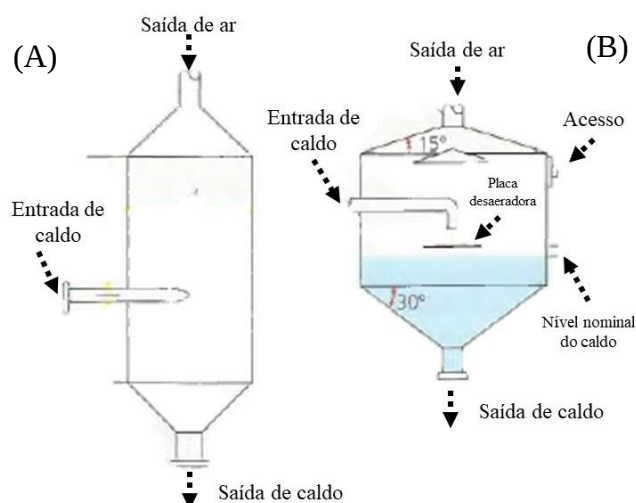


Figura 4 – Balões flash do tipo convencional (A) e SRI (B)

Fonte: Rein, 2012.

3.2.7 Decantadores

Após o “flasheamento”, é realizado o processo de decantação, no qual consiste na formação de coloides insolúveis e limpeza do caldo por decantação de impurezas, ocorrendo no interior de um tanque de armazenamento (decantador), podendo variar a velocidade de sedimentação das impurezas na ordem de 4 a 7 m.min⁻¹, com períodos de retenção entre 2 a 4h (HUGOT, 1969; DELGADO; CESAR, 1977).

Com relação ao tempo de retenção, deve ser considerada sua relação com a concentração de açúcares do caldo de cana tratado. Esta relação é relacionada à temperatura elevada, tempo de decantação e pH do meio, a qual em procedimentos com exposição do caldo à altas temperaturas e

períodos prolongados de tratamento, há uma maior possibilidade de perda de conteúdo dos açúcares reductores, acelerando os processos de inversão da sacarose. Isso pode acarretar em uma menor disponibilidade de açúcares fermentescíveis, com perdas entre 1 e 3% por hora de decantação, sendo potencializado esse efeito em meios de alta variabilidade no pH (DELGADO; CESAR, 1977). Dessa forma, tais parâmetros devem ser considerados para que planejamentos sejam realizados, desde o processo de dimensionamento e escolha de equipamentos, bem como organização das etapas de processamento da cana, obtenção e tratamento do caldo, destino dos resíduos gerados (bagaço, melaço, etc.) e períodos de manutenção (ALBUQUERQUE, 2011; REIN, 2012).

Classificados como decantadores ou “clarificadores”, são descritos como ambiente de decantação de impurezas do caldo de cana, com alimentação regular e contínua, subdivididos em diversos compartimentos (HUGOT, 1969). Suas classificações variam de acordo com sua estrutura, destacando-se dois tipos principais de decantadores: decantadores de múltiplas bandejas e de rápido efeito.

Os decantadores de múltiplas bandejas ou estágios (Figura 5), possuem compartimentos sobrepostos de forma que aumente a superfície de ação de sedimentação no caldo a ser clarificado, com uma vazão média de alimentação próxima a $4,3 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, com períodos de retenção no intervalo entre 2h 30min a 3h (REIN, 2012). Estes equipamentos são diferenciados quanto a disposição de seus sistemas de raspadores mecânicos e alimentação, sendo utilizados dois principais: o Dorr “ATV” e “RapiDorr”, indicados pela Figura 5.

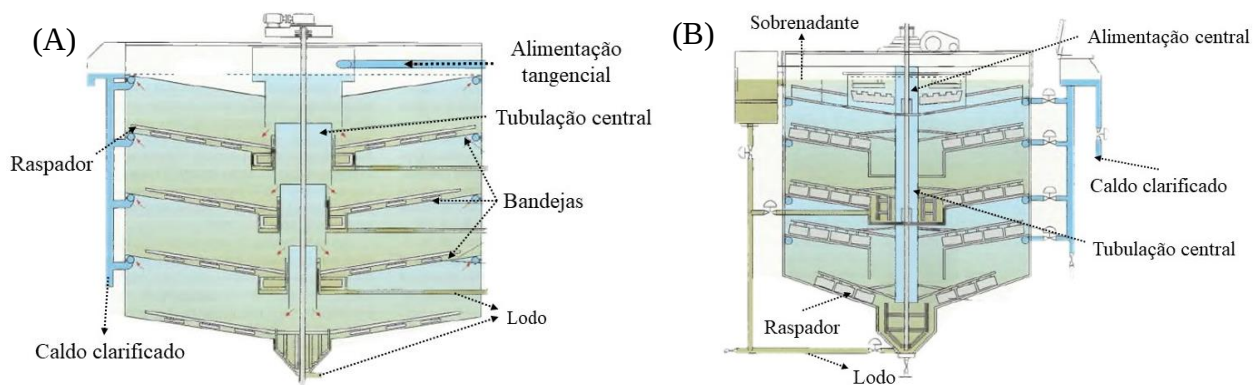


Figura 5 – Clarificadores do tipo (A) Dorr “ATV” e (B) “RapiDorr”.

Fonte: Adaptado de Rein, 2012.

Para os decantadores de rápido efeito (Figura 6), estes são classificados como equipamentos de clarificação de múltipla alimentação, podendo operar de forma contínua à uma vazão média de $700 \text{ m}^3.\text{h}^{-1}$, sendo possível através do desenvolvimento e aplicação de flocculantes, utilizados para acelerar o procedimento de sedimentação de impurezas e formação do lodo (REIN, 2012).

Conhecidos também como clarificadores de baixo tempo de retenção, estes são compostos principalmente de aço inoxidável, operando de forma que o fluxo de alimentação seja sempre positivo, com o caldo clarificado sendo direcionado para cima e havendo a precipitação das impurezas e formação do lodo (ABDI; STOBIE, 2021).

Dentre esses clarificadores, podem ser destacados dois principais tipos, o SRI (*Sugar Research Institute*) e o LLT (*Lousiana Low Turbulence*), demonstrados na Figura 6.

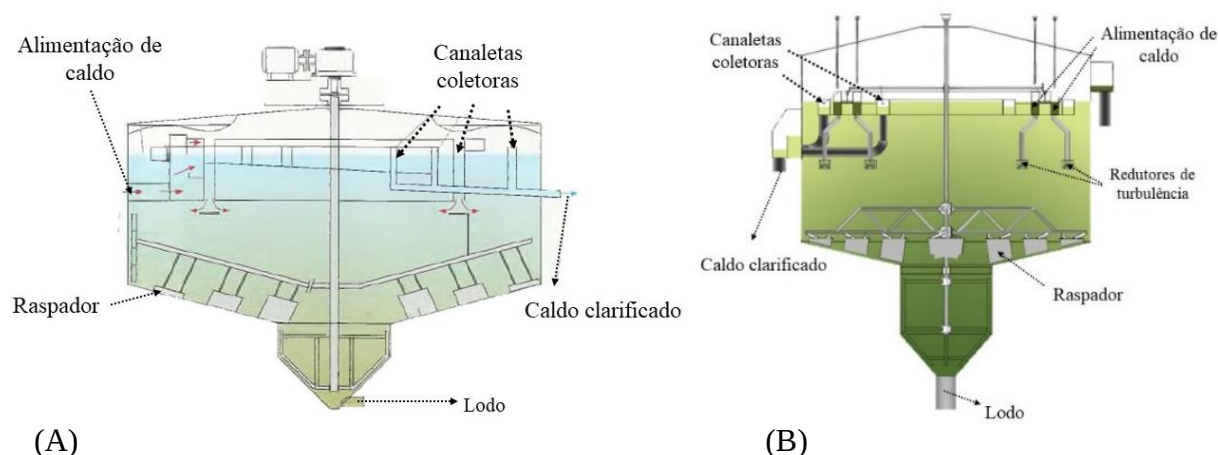


Figura 6 – Clarificadores do tipo (A) SRI e (B) LLT.

Fonte: Rein, 2012; Grimaldo, 2019

Destacam-se ainda como principais vantagens desses equipamentos, seus menores tempos de retenção – para o SRI (*Sugar Research Institute*) de 30 a 60 min e LLT (*Lousiana Low Turbulence*) de 25 a 30min – menores custos de implementação e utilização de produtos químicos, resultando em maior qualidade de matéria-prima e maior retenção de compostos açucarados, quando comparados aos clarificadores de múltiplos estágios (SRI, 2017; GRIMALDO, 2019; ABDI; STOBIE, 2021).

3.2.8 Floculantes

Durante os processos de tratamentos (físicos e químicos) de limpeza do caldo de cana extraído, são necessárias metodologias complementares, para potencializar os processos de remoção de impurezas indesejadas, como por exemplo, a utilização de polieletrólitos ou floculantes, os quais desempenham a função de auxiliar/acelerar a sedimentação de impurezas solúveis e insolúveis (DELGADO; CESAR, 1977; REIN, 2012).

Caracterizados como polímeros sintéticos de alto peso molecular, os polieletrólitos de natureza aniônica (íons negativos), representados principalmente por polímeros de poliacrilamida parcialmente hidrolisados (Figura 7), tem por efeito a adsorção de impurezas presentes no caldo extraído. Com a atração de substâncias de natureza oposta (catiônica), ocorre o processo de aglutinação, aumentando o tamanho e densidade de particulados, acelerando a sedimentação dos mesmos (DELGADO; CESAR, 1977; REIN, 2012). Segundo FDA (2021), recomenda-se que a utilização do floculante sintético não exceda 5 mg.L^{-1} , na clarificação do caldo de cana.

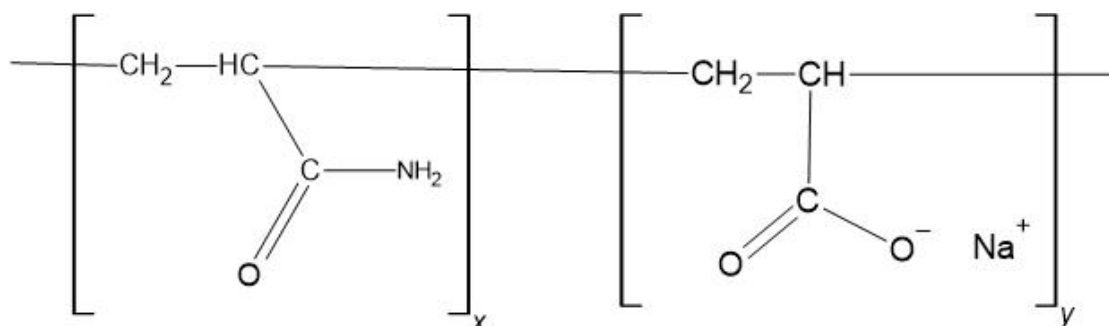


Figura 7 – Floculante de poliacrilamida

Fonte: adaptado de Rein, 2012.

Existem também floculantes de natureza catiônica (íons positivos), os quais possuem baixa aplicabilidade para tratamento do caldo de cana (REIN, 2012). Estes por sua vez, representados principalmente pelo policloreto de alumínio (PAC), cloreto férrico e sulfato de alumínio, são amplamente utilizados em etapas de tratamento de efluentes industriais (OLDONI et al., 2021).

Cabe salientar que, algumas de suas desvantagens são desde o aumento de custo no uso de insumos de processo, bem como impactos negativos nas operações industriais, como acelerar

processos de corrosão de equipamentos e seus particulados formados não serem biodegradáveis (MUNIZ, 2018).

Segundo Rein (2012), os floculantes aniônicos são caracterizados quanto à presença de grupos funcionais de ácidos carboxílicos (-COOH), amidas (-CONH₂) e componentes de metais como o sódio (-COONa). Este floculante através da interação eletronegativa, possibilita que íons positivos passem pelo processo de aglutinação de particulados indesejados presentes no caldo de cana extraído. Porém, algumas condições devem ser respeitadas durante o seu preparo:

- O processo de dissolução em água deve ser homogêneo;
- Ocorrer em temperaturas abaixo de 50 °C, evitando-se a sua degradação;
- Os meios de diluição do composto devem ter baixo teor de íons multivalentes, para que seja preservada a estabilidade do floculante;
- A diluição do material deve ocorrer em tanques inoxidáveis e sob baixa agitação.

Dessa forma, a utilização dos polímeros durante o processo de clarificação, auxiliam em melhores parâmetros operacionais, com maior economia no consumo de insumos do processo como o leite de cal. Este pode ser verificado por Oliveira, Pontes e Gandolfi (2018), os quais em estudos recentes apresentam resultados promissores em clarificações em meios com pH próximos a 6,5, não necessitando da adição de mais leite de cal ao meio.

3.2.9 Biofloculantes

Com o avanço da temática do desenvolvimento sustentável, novos materiais e produtos são avaliados como potenciais auxiliares no processo produtivo, tais como os biofloculantes. Estes tornam-se uma alternativa viável devido a sua ampla aplicabilidade no tratamento de efluentes industriais, sendo estes biopolímeros produzidos de matérias-primas diversas, a base de taninos (OLDONI et al., 2022), óleo de palma (HASSIMI et al., 2020), cactos (SRARFI et al., 2018), manga (SEGHOSIME et al., 2017), extrato de Aloe Vera (JAOUADI et al., 2020), extrato de levedura da indústria cervejeira (), dentre outros derivados de extratos vegetais (DAS, N. et al., 2021).

Outra vertente é o processo de síntese dos biofloculantes através da utilização de microorganismos como bactérias, fungos e microalgas, os quais apresentam características

biodegradáveis, com baixo impacto ao meio ambiente, com uma atividade de floculação semelhante aos polímeros comerciais e menores custos de produção (SHAHADAT et al., 2017; REBAH et al., 2018; DUU-JONG; YIN-RU, 2018; AGUNBIADE et al., 2022).

Zhuang et al. (2012), avaliaram o efeito de biofloculante do microorganismo *Bacillus licheniformis*, sobre a clarificação do caldo de cana. Os autores observaram tempo de sedimentação de 11 min e 42 s (702 s) para os tratamentos com o biofloculante e 8 min e 27 s (507 s) para os tratamentos utilizando o polímero sintético.

Com isso, é possível verificar aplicabilidade dos biofloculantes para diversos setores da economia, explorando novas matérias-primas que tenham potencial biotecnológico similar. Uma possibilidade é a utilização das algas, as quais na elaboração de seus extratos, apresentam reservas de polissacarídeos de carragenana, promovendo meios de alta viscosidade e presença de radicais aniônicos OSO_3^- e COO^- (PEREIRA, 2010).

3.3 Alga vermelha (*Kappaphycus alvarezii*)

As algas marinhas podem ser caracterizadas quanto ao seu alto índice de crescimento, alta produtividade por área de cultivo, alta taxa de absorção de CO_2 do meio e possível via de combate às crises alimentícias. Destacando-se sua classificação em três principais grupos quanto a suas cores (algas vermelhas, marrons e verdes), o grupo das algas vermelhas representadas por 4 principais espécies (*Gelidium amansii*, *Gracilaria verrucosa*, *Kappaphycus alvarezii* e *Eucheuma denticulatum*), são constituídas principalmente por unidades de polissacarídeos complexos e diversas outras estruturas poliméricas (FU; KIM, 2010; SINGH; NIGAM; MURPHY, 2011).

Dentre estas, a *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales:Rhodophyta) tem se destacado como importante fonte de biomassa para diversos estudos, tais como auxiliar o processo de bioestimulação durante crescimento e seu impacto na qualidade final da cana-de-açúcar e seu caldo extraído, podendo explorar seu potencial em processos tecnológicos que envolvam a utilização se suas biomoléculas (PAUL; TSENG, 2012; KARTHIKEYAN; SHANMUGAM, 2017).

Referente aos seus constituintes, a *K. alvarezii* tem predominância de polissarídeos importantes como a carragenina, substância mucilaginosa presente na parede das algas vermelhas que possui estruturas químicas pertencentes ao grupo das galactanas. Com elevado teor de radicais

aniônicos OSO_3^- e COO^- , estes são associados a sais de outras unidades de carragenina, formando as unidades poliméricas de carragenana, com formatos mais estáveis e predominância de conformações do tipo lambda, kappa, iota e beta (PEREZ et al., 1992; PEREIRA, 2010).

Para que haja a maior disposição dessas biomoléculas para o meio, devem ser levados em considerações alguns parâmetros como solvente de extração, pH, tempo de aquecimento, teor de umidade do material, dentro outros fatores que auxiliem no processo de extração de seus compostos. Estas unidades de carragenana, podem ser quantificadas por métodos diversos, desde metodologias por precipitação de seus compostos e posterior emprego de espectroscopia UV/Vis, espectroscopia de ressonância magnética nuclear do hidrogênio ^1H (RMN- ^1H), assim como por espectroscopia de infravermelho (PEREIRA, 2010; WEBBER et al., 2012; BONO; ANISUZZAMAN; DING, 2014).

Através disso, o potencial de aplicação tecnológica da *Kappaphycus alvarezii* no processo industrial é promissor, podendo-se projetar possíveis resultados para estudos de inserção de seu extrato no processo de industrialização da cana-de-açúcar e seus produtos derivados, estabelecendo-se parâmetros de desenvolvimentos de novos bioprodutos para o mercado atual.

3.4 Processo fermentativo

3.4.1 Mosto

Após a clarificação do caldo extraído, o próximo passo é proceder com o preparo do mosto. Destaca-se que, mosto é toda substância açucarada apta a ser fermentada. Neste contexto, o mosto industrial é constituído em sua maioria por sólidos solúveis (15 e 26% de Brix), sendo esses compostos por açúcares fermentescíveis – sacarose (10-20%), glicose e frutose (0,1-0,2%) – e nutrientes essenciais para as atividades metabólicas da levedura, tais como nitrogênio, fósforo, potássio, zinco, magnésio, dentre outros. Ressalta-se ainda a temperatura entre 28-34°C e pH entre 4,0 - 4,5 (LIMA et al., 2001).

Cabe mencionar ainda que a presença de compostos fenólicos, ácidos orgânicos e micro-organismos competidores tendem a reduzir a qualidade do mosto, interferindo negativamente no desempenho da levedura em fermentação, resultando em baixos rendimentos industriais (DE LA ROSA et al., 2017; CAMPANHOL et al., 2019). Essas características são inerentes à matéria-prima

processada, sendo evidenciado o necessário controle rigoroso das etapas prévias de tratamento do caldo extraído (MUTTON et al., 2020).

3.4.2 Fermentação

O mosto então é submetido ao processo de fermentação, o qual pode ocorrer a partir de duas formas. A primeira é denominada fermentação por batelada, no qual o substrato é metabolizado inteiramente em um único reator. Neste, há a suplementação do inóculo com os nutrientes necessários (O'HARA; MUNDREE, 2016). Este procedimento pode utilizar de 1 ou 4 reatores, porém destaca-se que a utilização de uma única unidade de fermentação é pouco utilizada, visto alta demanda de etanol (GÓMES-PASTOR et al., 2011).

Com isso, os 4 reatores de fermentação operam de forma que estejam dispostos de forma independentes e paralelos entre si (Figura 8). Para isso, o primeiro reator é alimentado com mosto até que 30% de seu volume seja ocupado. O segundo e terceiro são completamente preenchidos com o mosto, adicionando-se a proporção ideal de levedura para os três reatores e prosseguindo com a fermentação.

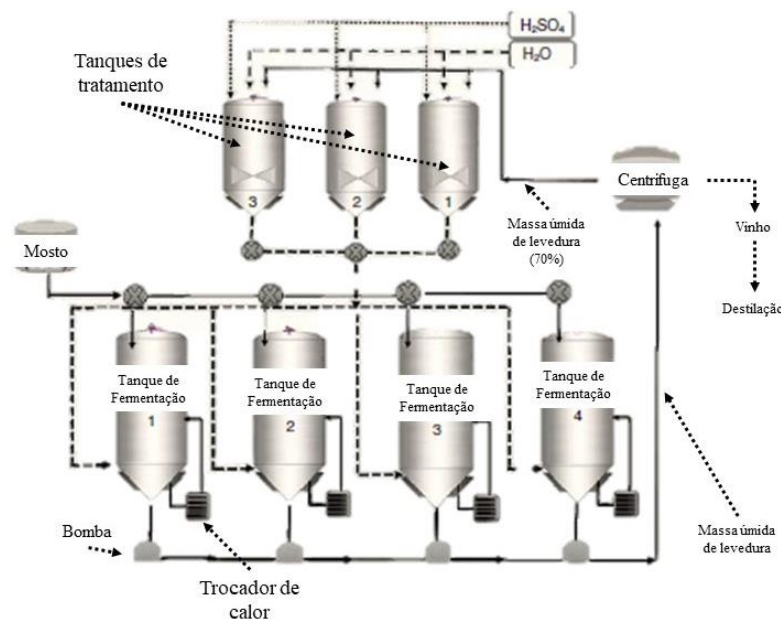


Figura 8 – Fermentação de alimentação por batelada

Fonte: O'hara; Mundree, 2016.

O quarto reator é destinado principalmente para o processo de higienização dos equipamentos. Após o fim do processo fermentativo, o mosto fermentado é destinado para a centrifugação, sendo recuperado o vinho e o “creme” de levedura (TROLLER, 2012).

A segunda é caracterizada pela fermentação contínua (Figura 9), a qual dornas de fermentação são dispostas de forma que a metabolização dos açúcares seja feita de forma contínua e em múltiplos estágios. Neste procedimento, a alimentação do mosto a ser fermentado pode ocorrer no primeiro ou simultaneamente no segundo reator, seguindo-se para os demais mediante o decréscimo das concentrações de açúcares no meio, não necessitando-se de um número específico de reatores – a depender da área de operação da planta industrial. Após o fim da fermentação, o mosto fermentado é direcionado para a centrifugação, recuperando-se o vinho e a massa úmida de levedura (LIMA et al., 2001; O’HARA; MUNDREE, 2016).

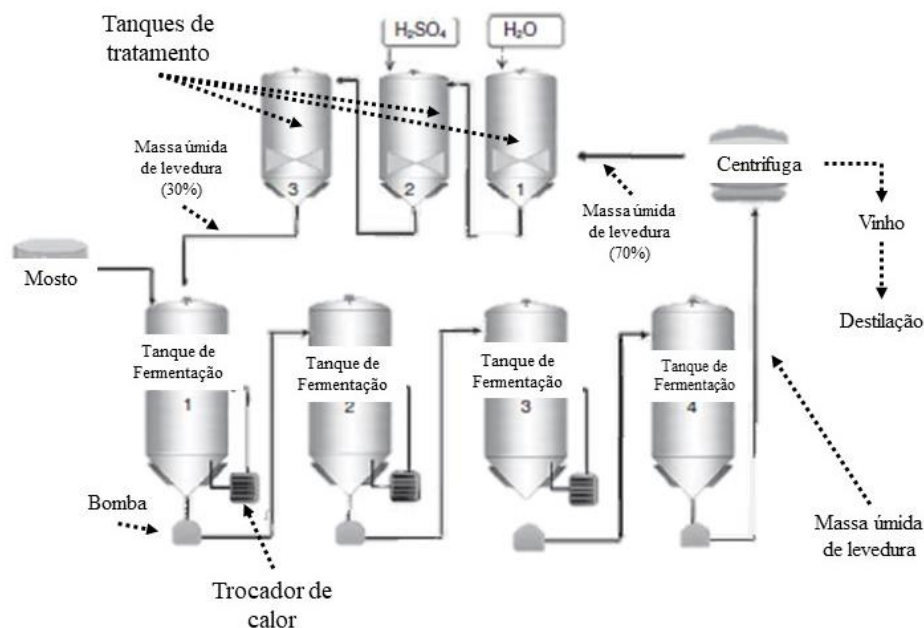


Figura 9 – Fermentação contínua

Fonte: O'hara; Mundree, 2016.

Após o processo fermentativo, a levedura é separada do vinho através de centrifugação. O vinho é destinado para o processo de destilação para recuperação do etanol, enquanto o “creme” de leveduras, constituído principalmente de 60 a 70% de massa seca desse micro-organismo, é diluído em água (1:1) e tratado com ácido sulfúrico (pH 1,8-2,5) por um período de 2 a 3h,

reinoculando-o em novo processo fermentativo (BASSO, L.; BASSO, T.; ROCHA, 2011).

Com relação ao fim do processo fermentativo, é recomendado que a concentração de etanol no meio esteja entre valores de 8 a 12%. Isso ocorre, pois, concentrações superiores à 12%, a membrana celular da levedura é modificada e suas funções metabólicas são afetadas, levando à morte celular e, conseqüentemente, diminuindo a possibilidade da reinoculação do creme em nova fermentação (BASSO, L.; BASSO, T.; ROCHA, 2011; VENTURINI FILHO et al., 2013).

3.4.3 Destilação

O vinho centrifugado é direcionado ao processo de destilação, o qual será responsável pela recuperação do etanol presente no vinho. Inicialmente, o vinho é direcionado para sistemas de aquecimento chamados de colunas de destilação, descritas como equipamentos de gomos cilíndricos superpostos em separações transversais (“pratos ou bandejas”). Estes têm seu aquecimento direto pela base, realizado por vapores d’água. A propagação do seu calor se dá no sentido dos estágios inferiores para os superiores, com o aquecimento das demais colunas por meio dos mesmos vapores de aquecimento da coluna de alimentação do vinho (LIMA et al., 2001).

Sistema de destilação composto por 3 colunas. A primeira coluna é responsável pela concentração parcial do vinho, obtendo-se o Flegma (45% v/v de etanol), sendo um resíduo denominado de vinhaça. A segunda coluna é responsável pela concentração do teor alcoólico da Flegma até valores da ordem de 92 à 96% (v/v) de etanol – Etanol Hidratado, gerando, como resíduo, a flegmaça. Com isso, para a terceira coluna, em alguns casos as indústrias podem reprocessar o etanol hidratado para obtenção do Etanol Anidro (99% v/v) (LIMA et al., 2001).

Para a primeira coluna, após os processos de troca térmica entre o vinho e os vapores de aquecimento (vapores d’água) da primeira coluna, resulta no processo de obtenção de uma mistura complexa denominada de flegma, a qual é constituída de 45 a 50% (v/v) de etanol e o restante de resíduos como vinhaça (flegmassa), álcoois de maior densidade e o óleo fúsel (BELLUCO; ALCARDE, 2008).

Com isso na segunda coluna, o flegma é submetido ao processo de retificação, no qual se realiza a eliminação parcial das impurezas presentes no mesmo, obtendo-se como principais resíduos a vinhaça (flegmaça), álcoois mais leves e óleo fusel. Deste procedimento é obtida uma

mistura mais purificada, denominada de etanol hidratado, com concentrações entre 95 a 97% (v/v) de etanol (BELLUCO; ALCARDE, 2008; DIAS et al., 2012).

Na terceira coluna, ocorre o processo de desidratação, a qual é caracterizada por ser uma coluna de destilação do tipo azeotrópica, ocorrendo a separação do etanol por arraste de vapor, utilizando-se de um solvente de alta afinidade (O'HARA; MUNDREE, 2016). Outra possibilidade é a passagem da mistura por peneiras moleculares com poros de 3 angstroms de abertura, resultando em concentrações de etanol na ordem de até 99,89% (v/v), denominando-se o produto obtido como etanol absoluto (AL-ASHEH et al., 2004; CARABALLO et al., 2021; RAHIMALIMAMAGHANI et al., 2022).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos Laboratórios de Biologia e Pesquisas Ambientais da Universidade do Estado de Minas Gerais, unidade Frutal-MG, na safra 2022/2023. Foram utilizadas canas das variedades RB867515 e CTC072361, colhidas manualmente, sem queima prévia da palha, e em seu período útil de industrialização. As amostras de alga vermelha foram adquiridas de produtores de Ilha Grande-RJ.

4.1 Padronização da análise de polissacarídeos totais

Considerando que a carragenana é o polissacarídeo responsável pela atividade coagulante presente nas algas vermelhas, o primeiro passo foi padronizar a metodologia de quantificação dessas moléculas. Para isso foi adaptada a metodologia Fermentec (2004). Após preparo do extrato, misturou-se 10 mL da amostra com 40 mL de álcool etílico absoluto. Essa mistura ficou em repouso por 15 minutos para precipitação dos polissacarídeos, sendo posteriormente filtrada com auxílio de papel filtro quantitativo faixa branca.

O material retido no papel de filtro foi transferido para béquer de vidro, sendo o papel lavado com etanol 80%. A seguir, adicionou-se 150 mL de solução H_2SO_4 1%, aqueceu-se até fervura por 2 min. A amostra foi resfriada até temperatura ambiente, transferida para um balão de 200 mL, completando-se o volume com água destilada.

Pipetou-se 0,5mL da amostra preparada em tubo de ensaio, sendo posteriormente adicionada 1,5mL de água destilada, 1 mL de solução de Fenol 5% e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. A seguir, procedeu-se com a leitura em espectrofotômetro à um comprimento de onda de 485 nm.

4.2 Delineamentos experimentais de extração

Para a condução dos experimentos de extração de carragenana, foram realizados dois delineamentos experimentais, sendo esses: univariado e multivariado. Para o delineamento

univariado, não houve interação direta entre os parâmetros analisados; para o multivariado o planejamento e condução dos ensaios considerou-se a interação direta entre as variáveis analisadas.

Os parâmetros analisados em ambos delineamentos foram: tempo de secagem, granulometria, concentração de alga em meio extrativo, pH, temperatura de extração e tempo de agitação, diferindo-se quanto a quantidade de ensaios realizados e repetições.

4.2.1 Delineamento Univariado

Para o preparo dos extratos, foram realizados 6 ensaios, objetivando a maior extração de carragenana. Para cada ensaio, foram testadas as seguintes condições:

- Ensaio 1 - Tempo de secagem (h): 12 e 24;
- Ensaio 2 - Granulometria (mesh): 5, 8, 18, 20, 35 e 50;
- Ensaio 3 - Concentração (g.L^{-1}): 1.0, 2.0, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0 e 10.0;
- Ensaio 4 - pH: 5.0, 6.0, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0 e 9.5;
- Ensaio 5 - Temperatura de extração ($^{\circ}\text{C}$): 40, 50, 60, 65, 70, 75, 80 e 90;
- Ensaio 6 - Tempo de agitação (min): 10, 15, 20, 25, 30, 35, 45 e 50.

Para o primeiro ensaio, as amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar, por 12 e 24 horas, a uma temperatura de 65°C . A seguir, essas foram trituradas em moinho de facas até granulometria de 1mm, misturada em água a pH 7,0, na proporção de 1g.L^{-1} , aquecido até 70°C e mantido, sob agitação, a essa temperatura por 30 minutos. O extrato foi filtrado e avaliado quanto ao teor de polissacarídeos totais seguindo metodologia do item 4.1.

Após determinada a melhor condição do Ensaio 1, esse parâmetro foi padronizado e aplicado para realização do Ensaio 2. Neste sentido, a alga foi seca em temperatura padronizada e submetida a moagem, mistura com água e aquecimento, de acordo com parâmetros iniciais.

Para o Ensaio 3, novamente foram fixados os parâmetros obtidos nos ensaios anteriores (tempo de secagem e granulometria), prosseguindo-se com extração de acordo com metodologia inicial. Esse método foi repetido para os demais ensaios, até que as condições ideais de extração fossem estabelecidas.

Para cada ensaio realizado, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente

casualizado com 3 repetições. A quantidade de tratamentos variou de acordo com o número de parâmetros avaliados.

4.2.1.1 Preparo e parâmetros de análise

4.2.1.1.1 Tempo de secagem

Para o parâmetro do tempo de secagem, as amostras foram secas em estufa com circulação forçada por dois períodos: 12 e 24h (Figura 10). Em seguida, estas foram trituradas em moinho de facas (Tecnal SL-31), até granulometria inferior à 1mm.



Figura 10 – Secagem das amostras de alga (B) em Estufa de circulação forçada (A)

Fonte: arquivo pessoal

Misturou-se 1,00 g da alga com 100 mL de água destilada ($\text{pH } 6,0 \pm 0,5$), aqueceu-se até temperatura de 70°C , permanecendo em repouso por 30 minutos, dando origem ao extrato de alga vermelha para posterior análise do teor polissacarídeos totais.

4.2.1.1.2 Granulometria

Para o efeito da granulometria na extração da carragenana, o procedimento de preparo das amostras foi semelhante ao item 4.2.1.1.1, porém as amostras trituradas de alga foram separadas em 6 principais granulometrias: 4,00, 2,35, 1,00, 0,850, 0,500 e pó, utilizando-se um sistema de peneiras de metal (Figura 11).

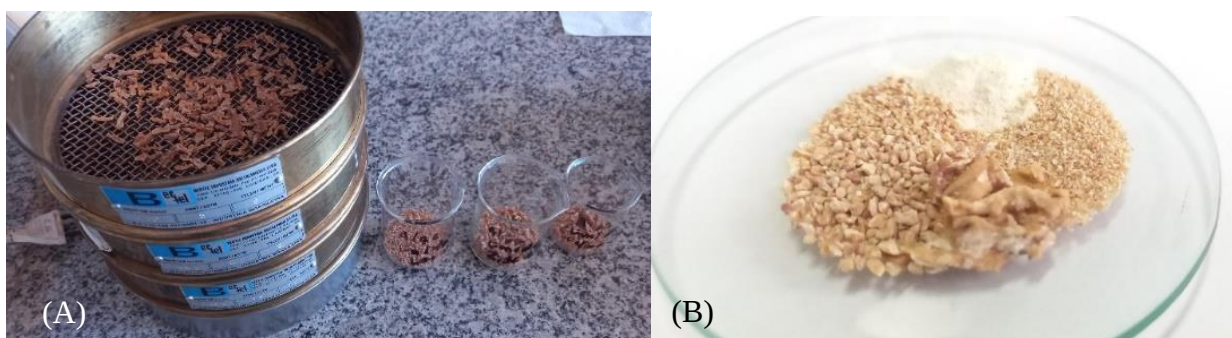


Figura 11 – Separação das amostras de alga com sistema de peneiras (A) em granulometrias diferentes (B).

Fonte: arquivo pessoal

4.2.1.1.3 Proporção Alga e Solução Extrativa

Para verificar o efeito da proporção de alga para a solução extratora de carragenana, o procedimento de preparo das amostras foi semelhante ao item 4.2.1.1.1, com um total de 7 ensaios: 1,0, 2,0, 4,0, 5,0, 6,0, 8,0 e 10g.L⁻¹, utilizando-se de uma balança analítica com precisão de 4 casas (Figura 12).



Figura 12 – Aferição da massa de alga (A) para preparo do extrato (B)

Fonte: arquivo pessoal

4.2.1.1.4 pH

Para verificar o efeito do pH na extração da carragenana, utilizando-se de um medidor de pH, o procedimento de preparo das amostras foi semelhante ao item 4.2.1.1.1, tendo sido utilizadas soluções de H_2SO_4 1% e NaOH 0,05N para o ajuste do pH do meio, com um total de 9 ensaios: 5,0, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0 e 9,5.

4.2.1.1.5 Temperatura de extração

Para determinar o efeito da temperatura na extração da carragenana, as amostras foram aquecidas em chapas aquecedoras, sendo aplicado o preparo das amostras de maneira semelhante ao item 4.2.1.1.1, com um total de 8 ensaios: 40, 50, 60, 65, 70, 75, 80 e 90°C.

4.2.1.1.6 Tempo de agitação

Para avaliar o tempo de agitação na extração da carragenana, foi utilizada uma chapa aquecedora com agitação magnética, com o procedimento de preparo das amostras semelhante ao item 4.2.1.1.1, tendo sido realizados 8 ensaios: 10, 15, 20, 25, 30, 35, 45 e 50 min.

4.2.2 Delineamento Multivariado

Através dos ensaios realizados no item 4.2.1 e considerando-se uma Análise de Variância Fatorial (ANOVA), cada variável independente analisada foi denominada de fator, sendo conduzido um planejamento fatorial central composto 3^6 , com um total de 30 ensaios. Os ensaios realizados estão apresentados na Tabela 2 (Apêndice 1), bem como os níveis dos fatores avaliados com suas respectivas cargas fatoriais e pontos axiais.

Após a realização dos ensaios, determinação da concentração de polissacarídeos totais (g.L^{-1}) ou variável resposta e análise das interações pelo método por superfície de resposta (MSR), buscou-se otimizar o procedimento de extração das estruturas de carragenana das amostras de alga

vermelha (*Kappaphycus alvarezii*).

Para esta análise, foi verificada também a relação dos fatores entre si e sua influência na variável resposta, sendo observado se houve interação de forma linear ou quadrática entre os parâmetros avaliados e determinando-se o melhor ajuste do modelo para a análise.

Para o planejamento, análise das principais interações e resultados obtidos, foi utilizado o programa StatSoft Statistica Versão 12.5 (2021). Para o preparo dos extratos e determinação da variável resposta, foi utilizada a metodologia de análise do item 4.1.

4.3 Extração dos caldos e testes de dosagem

4.3.1 Extração e qualidade dos caldos

As amostras de canas das variedades RB867515 e CTC072361 foram colhidas manualmente, sem queima prévia da palha, estando seu período útil de industrialização. Para a extração do caldo foi utilizado um moinho elétrico trifásico de 3 rolos, sendo o mesmo (caldo) peneirado em seguida (Figura13).

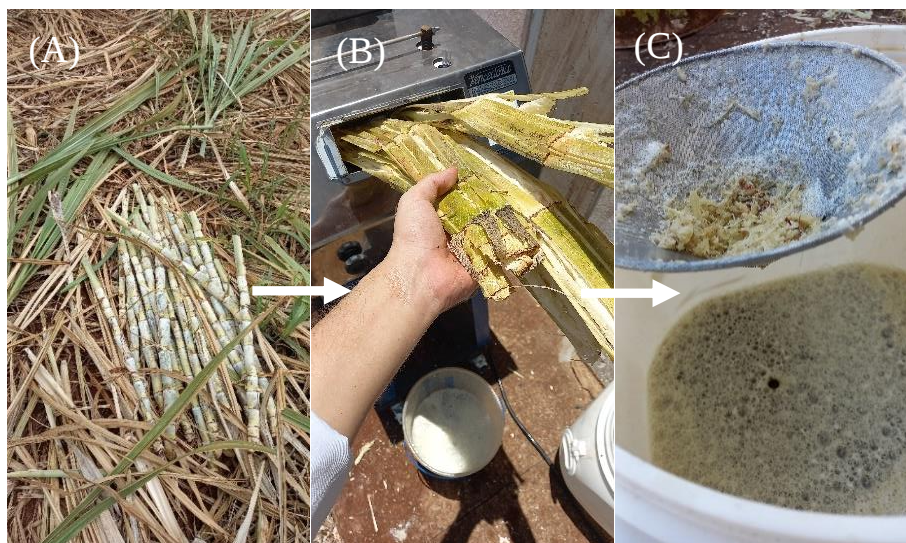


Figura 13 – Etapas de extração do caldo de cana, sendo essas: cana cortada e despalhada (A); moagem; (B); peneiragem (C)

Fonte: Arquivo pessoal

Os caldos extraídos foram avaliados quanto aos seus parâmetros tecnológicos de Brix, Açúcares redutores Totais, Açúcares redutores, Pol, pH, Pureza, Acidez, Cinzas, compostos fenólicos totais, Turbidez e amido (CTC, 2005).

4.3.2 Teste de dosagem

Para determinação da dose ideal de aplicação dos extratos no caldo de cana como biofloculante, procedeu-se com ensaios padronizados por CTC (2005). Para isso, os caldos extraídos foram ajustados a 16% Brix, caleado até pH $7,0 \pm 0,4$ (hidróxido de cálcio 56g.L^{-1}) e aquecido até ebulição. A seguir, foi transferido para decantador constituído por sistema de provetas de vidro graduadas de 1L, aquecimento com controle de temperatura à 80°C e iluminação para visualização da precipitação dos flocos.

Previamente à adição do caldo, foram dosados nas provetas 12 diferentes concentrações dos extratos de alga, sendo esses:

- Ensaio 1 (Delineamento Uni-Variado de Extração): 0, 5, 10, 35, 50, 75, 100, 150, 250, 400, 500 e 1000 mg.L^{-1} – Variedade RB867515;
- Ensaio 2 (Delineamento Multivariado de Extração): 0, 10, 100, 125, 275, 350, 425, 500, 800, 900, 1000 e 1200 mg.L^{-1} – Variedade CTC072316.

O tempo de retenção foi de 20 minutos, recuperando-se, ao final, o caldo clarificado (sobrenadante) por sifonação. Os ensaios de clarificação estão representados na Figura 14.

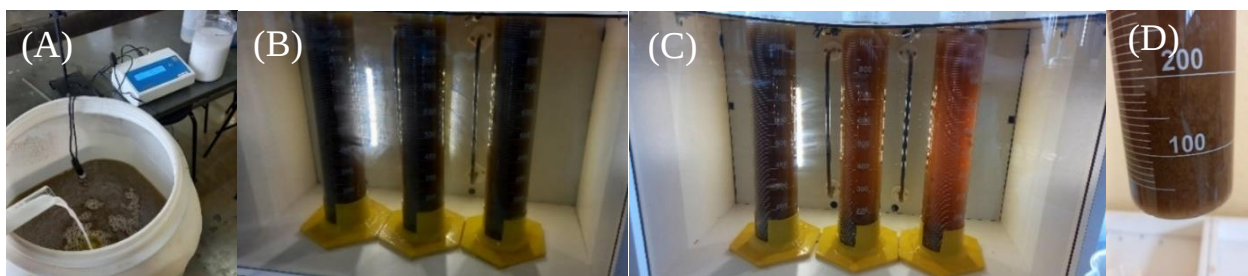


Figura 14 – Processo de clarificação das amostras de caldo de cana, sendo: Caleagem (A); Tempo de retenção – 0 min (B); Tempo de retenção – 20 min (C); Lodo formado (D).

Fonte: Arquivo pessoal.

Os caldos clarificados foram submetidos as análises de Brix, pH, Acidez Total, Turbidez (CTC, 2005) e Compostos Fenólicos Totais (FOLIN; CIOCALTEU, 1927). Ademais, foi avaliada a velocidade de sedimentação das impurezas e a porcentagem de lodo formado no fundo do decantador (CTC, 2005).

Para cada extrato, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 repetições. Os tratamentos foram constituídos pelas 12 diferentes doses.

4.4 Teste de comparação

Após a verificação do melhor delineamento experimental de extração e melhor dosagem, foram realizados novos ensaios de clarificação, utilizando 4 tratamentos: Controle, Polímero Sintético Aniônico (PSA), Extrato de Alga Vermelha (EAV), Polímero Orgânico Comercial (POC). As dosagens a serem utilizadas serão: PSA - $1,5\text{mg.L}^{-1}$, EAV – dose determinada no teste de dosagem, FOC – dose recomendada pelo fabricante. Os floculantes foram dosados diretamente no decantador, bem como as avaliações do processo de decantação e de qualidade do caldo clarificado seguirão metodologia descrita no item 4.3.2.

Nesta etapa, esse teste foi realizado em caldos provenientes da variedade de cana CTC072361, afim de avaliar o potencial dos auxiliares de sedimentação.

4.5 Preparo e caracterização dos mostos

A seguir, os caldos clarificados foram padronizados a Brix 16% a partir da adição de água destilada, pH 4,5 (ácido sulfúrico 10N), e temperatura 32°C , originando o mosto. Esses serão submetidos a análises de açúcares redutores totais, acidez total (CTC, 2005) e compostos fenólicos totais (FOLIN; CIOCALTEU, 1927).

4.6 Processos fermentativos e caracterização dos vinhos

Os mostos foram submetidos a inoculação pela levedura industrial CAT-1 na concentração de 30 g.L^{-1} do volume a ser fermentado (500mL de mosto para 25-30g de levedura). As fermentações foram realizadas em Erlenmeyer, sendo estas mantidas em B.O.D. à 32°C . Ao longo

do processo fermentativo será avaliado o desenvolvimento fisiológico da levedura, através de análises microscópicas propostas por Lee et al. (1981), sendo estas: viabilidade celular, brotamento e viabilidade de brotos.

Concluído o processo fermentativo (Brix menor ou igual a 1, ou estabilização na leitura de Brix em intervalo de 1 hora), foi realizada a centrifugação do material fermentado, afim de se separar as leveduras do vinho. No vinho foram quantificados os teores de açúcares redutores residuais totais, pH, ácidos totais, teor alcoólico (CTC, 2005) e glicerol (COPERSUCAR, 2001). Será calculada a eficiência fermentativa (FERNANDES, 2003).

Para esta etapa, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 repetições. O tratamento principal foi caracterizado com uma variedade de cana-de-açúcar (CTC072361), com uso de 4 diferentes flocculantes (item 4.5).

4.7 Análise dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas segundo teste de Tukey (5%), utilizando o programa AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO, 2015).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Delineamentos experimentais de extração

5.1.1 Delineamento de extração Uni-variado

Considerando-se o tempo de secagem (Figura 15A), observou-se que 24h resultou em 28,5% de extração de polissacarídeos a mais do que o tempo de 12h. Esse parâmetro está de acordo com informações disponibilizadas na bibliografia, a qual estipula tempo de até 48h em estufa de circulação forçada de ar a 60°C (WEBBER et al., 2012). Destaca-se que a alga também pode ser seca em ambientes abertos por período de 3 a 4 dias (BHUYAR et al., 2020), demonstrando que a utilização de estufa otimiza o processo. Assim, o tempo de secagem determinado foi de 24h, o qual foi utilizado no ensaio posterior.

Para as granulometrias utilizadas na elaboração das amostras (Figura 15B), observou-se que tamanhos de 20 mesh (0,85mm) promoveram extrações de até 6g.L⁻¹ de polissacarídeos, enquanto granulometrias entre 5 mesh (4,00 mm) e 18 mesh (1,00 mm), a extração é 66% menor. Esse resultado está de acordo com os valores obtidos Gereniu *et al.* (2017), que obtiveram procedimentos satisfatórios de extração de polissacarídeos, provenientes de algas vermelhas em granulometrias de 25 mesh (0,700 mm).

Neste contexto, pode-se inferir que tamanhos de partícula menores que 20 mesh, mesmo que possuam maior superfície de contato com o meio extrativo, não resultam em significativa extração de carragenana. Isso pode ser decorrente da formação de grânulos resultantes do contato das partículas com a água, os quais impedem o efetivo contato da alga com a solução extrativa. Neste contexto, a granulometria escolhida foi de 20 mesh.

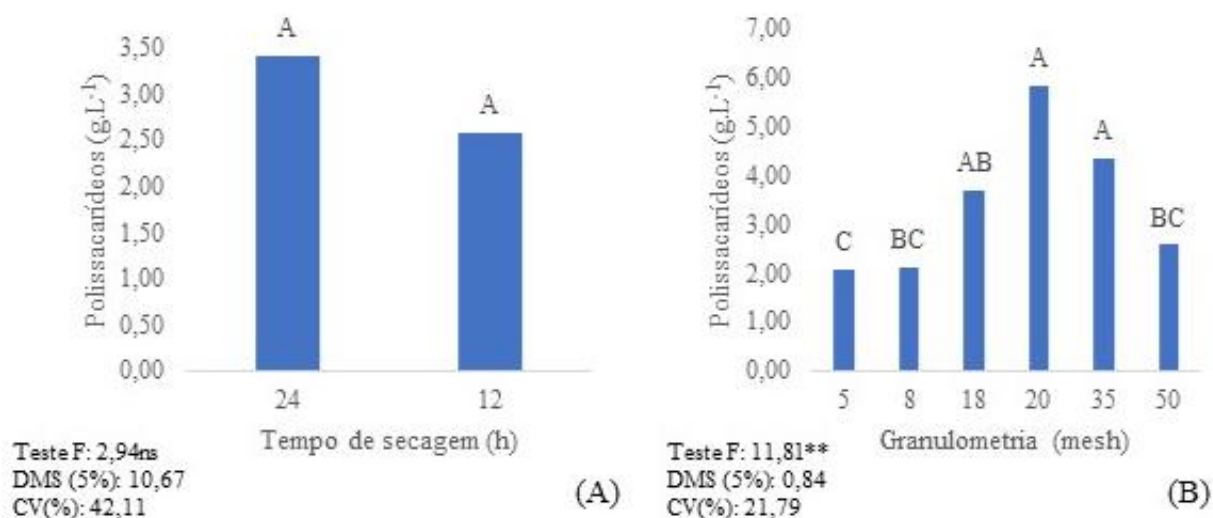


Figura 15 – Resultados obtidos para os testes preliminares para o potencial de extração de polissacarídeos presentes nas amostras de alga vermelha pelo efeito do Tempo de secagem (A) e Granulometria (B).

Letras diferentes diferenciam significativamente pelo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Para a concentração (Figura 16A), considerou-se também o aspecto reológico visual das amostras, optando-se por amostras que não gelatinizassem em temperaturas ambientes. Através dos dados apresentados, pode-se verificar que concentrações de 10 g.L⁻¹ apresentaram maiores teores de polissacarídeos totais extraídos do que os demais tratamentos, considerando-se uma temperatura de extração de 70°C e desconsiderando o seu efeito sob o processo de gelatinização.

Dessa forma, foram verificados potenciais de extração de até 90% superiores ao tratamento com 2 g.L⁻¹, por exemplo. Porém, destaca-se que concentrações superiores a 6 g.L⁻¹ houve gelatinização do meio e consequente solidificação do extrato. Esse efeito é indesejado, uma vez que isto pode afetar diretamente sua utilização em processos industriais, acarretando em problemas como entupimento de bombas e tubulações.

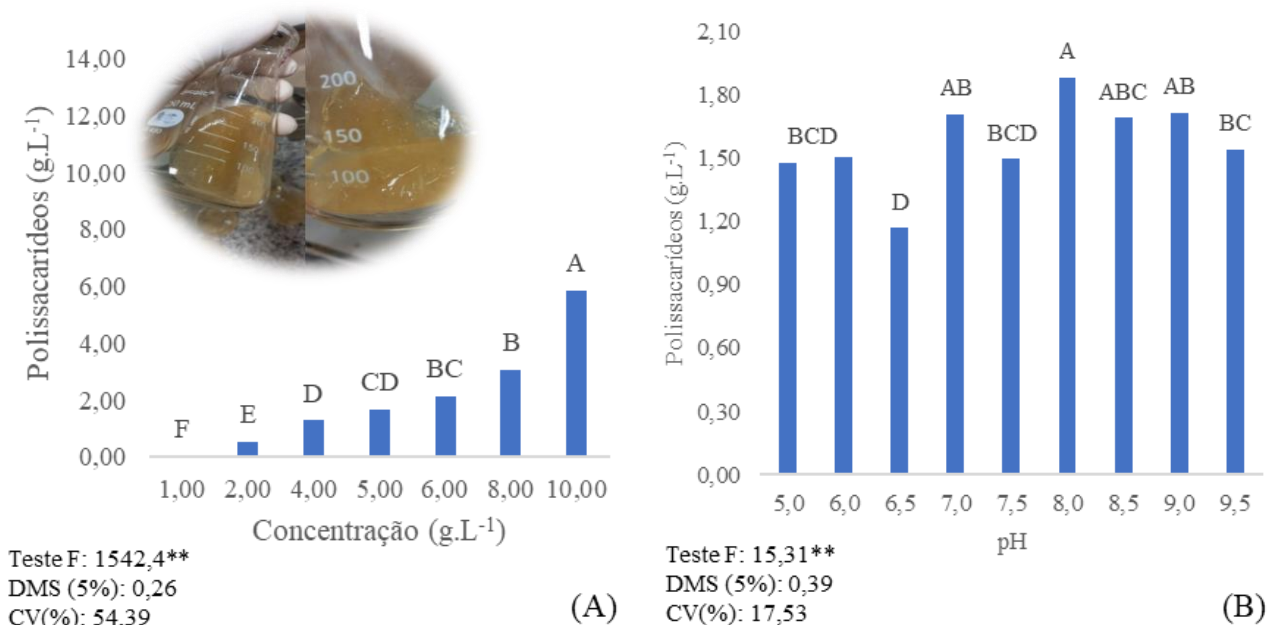


Figura 16 – Resultados obtidos para os testes preliminares para o potencial de extração de polissacarídeos presentes nas amostras de alga vermelha, os quais: A – Concentração; B – pH. Letras diferentes diferenciam significativamente pelo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Desta maneira, a concentração de 5 g.L⁻¹ resultou em índices de extração satisfatórios com concentrações de polissacarídeos na ordem de 1,69 g.L⁻¹, sendo verificados índices de rendimento de extração próximos a 33,8%. Este resultado é inferior ao apresentado por DAS et al. (2016), os quais avaliando diferentes solventes para a extração de estruturas de carragenana, foram obtidos rendimentos de extração de até 36,6% utilizando-se métodos convencionais. Para isso, a alga foi imersa em solução de hidróxido de cálcio 0,5% e mantida em autoclave por 1h 30 min a 105°C, após a adição de água destilada.

Este fato é interessante, devido à proximidade dos rendimentos de extração, considerando-se o uso de água destilada (pH = 6,0±0,5) como solvente, temperatura de 70°C e em um período de 30 min, sendo verificado o efeito da temperatura na extração da carragenana.

Considerando-se o efeito do pH (Figura 16B), verificou-se que valores da ordem de 8 resultaram em extrações de até 36% a mais que os demais tratamentos. Este comportamento é similar ao apresentado por Pereira (2010), que demonstrou que as estruturas de carragenana possuem maior estabilidade em pH neutro-alcalino; sendo que, em meio ácido, pode ocorrer

processo de hidrólise, modificando a estrutura da molécula, resultando em menor disponibilidade de polissacarídeos para o meio.

Para a análise do efeito da temperatura (Figura 17A), constatou-se que quanto maior o processo de aquecimento, maior o potencial de extração dos polissacarídeos. Destaca-se que em temperaturas superiores a 60°C, as estruturas de carragenina possuem alta afinidade em meio aquoso, devido ao seu aumento de solubilidade e maior disposição de estruturas de polissacarídeos mucilaginosos (PEREIRA, 2010). Desta forma, a temperatura de 90°C foi utilizada para os demais ensaios.

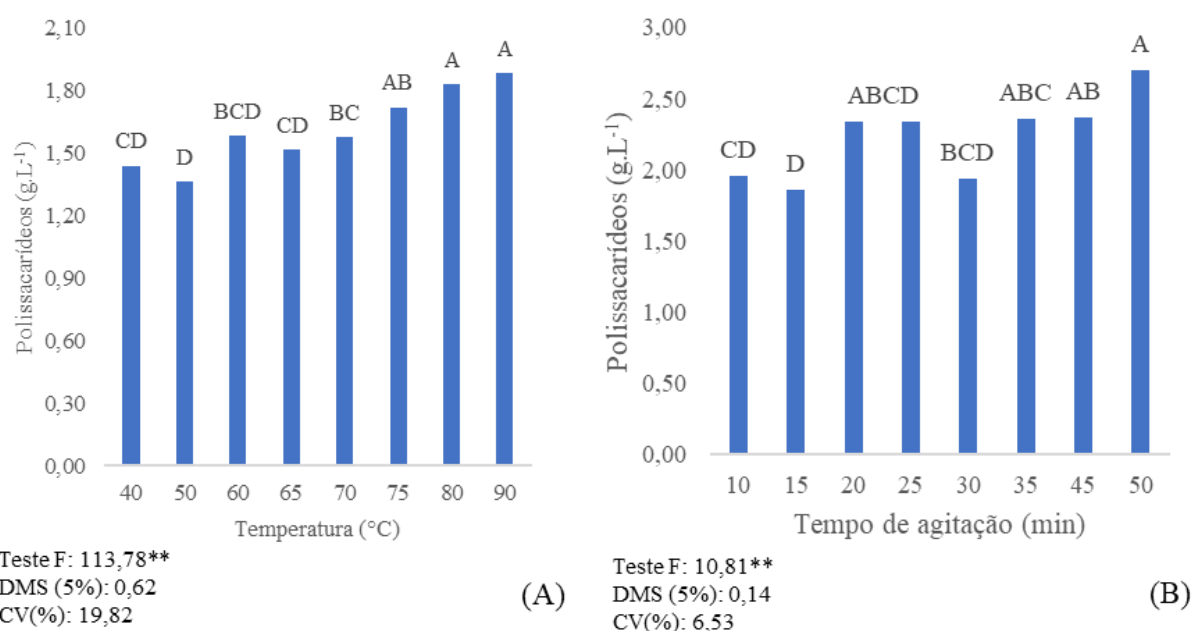


Figura 17 – Resultados obtidos para os testes preliminares para o potencial de extração de polissacarídeos presentes nas amostras de alga vermelha, os quais: A – Temperatura; B – Tempo de agitação.

Letras diferentes diferenciam significativamente pelo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Observou-se que houve interação entre o tempo de preparo do extrato de alga vermelha e a quantidade de polissacarídeos extraídos (Figura 17B). Neste contexto, as extrações foram crescentes até o período de 20 minutos, sendo que tempos superiores a esse, os valores não diferiram significativamente de acordo com análise estatística. Além disso, tempos superiores a 30 minutos, o extrato iniciou reação de escurecimento e de evaporação de água. Esses dois fatores em

conjunto, promoveram a concentração do extrato, implicando na solidificação do mesmo após retornar a temperatura ambiente.

Esse resultado é interessante, uma vez que Ganesan, Shanmugam e Bhat (2018) apontaram tempos mínimos de extração de 2h, enquanto Webber et al., (2012), demonstraram tempos de até 4h, considerando-se temperaturas de extração de 70 e 80°C, respectivamente. Dessa forma, as melhores condições para extração de carragenanas, estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros tecnológicos para preparo dos extratos de alga vermelha (*Kappaphycus alvarezii*).

Parâmetro	Valor
Tempo de secagem (h)	24
Granulometria (mesh)	20
Concentração (g.L ⁻¹)	5,0
pH	8,0
Temperatura (°C)	90
Tempo de agitação (min)	20

5.1.2 Delineamento de extração Multivariado

Após a realização dos ensaios uni-variados e determinação dos principais intervalos entre os parâmetros analisados de tempo de secagem (h), granulometria (mesh), concentração (g.L⁻¹), pH, temperatura (°C) e tempo de agitação (min), foi possível determinar suas variáveis resposta correspondentes, estando essas apresentadas na Tabela 3 (Apêndice 2).

Verificou-se também que, os dados obtiveram um ajuste satisfatório para o modelo matemático linear com interação entre os fatores, demonstrando valores de R^2 e R^2 (ajustado) elevados ($R^2 = 0,94$ e R^2 (ajustado) = 0,80), conforme pode ser verificado na Figura 18.

Estes resultados indicam alta confiabilidade do modelo escolhido, uma vez que foram determinados altos coeficientes de determinação linear (R^2), com valores próximos a 1 e baixa variabilidade dos dados (PRIYADHARSINI; DAWN, 2021).

Com isso, pode ser verificada uma maior contribuição da concentração para o processo de extração de polissacarídeos das amostras de alga vermelha. Destaca-se ainda as interações entre a temperatura/tempo de agitação e concentração/temperatura no procedimento de preparo dos extratos de alga. Isto ocorre devido os valores p resultantes, sendo estes inferiores ao nível de

significância ($p \leq 0,05$).

Effect Estimates; Var.:Extração (g.L ⁻¹); R-sqr=,9459; Adj.,80388 (Planejamento fatorial - extratos de alga) 6 factors, 1 Blocks, 30 Runs; MS Residual=,000094 DV: Extração (g.L ⁻¹)										
Factor	Effect	Std.Err.	t(8)	p	-95,% Cnf.Limt	+95,% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95,% Cnf.Limt	+95,% Cnf.Limt
Mean/Interc.	0,1307541	0,001770	73,85907	0,000000	0,126672	0,134836	0,130754	0,001770	0,126672	0,134836
(1)Tempo de secagem (h)(L)	-0,004892	0,006856	-0,71343	0,495859	-0,020703	0,010919	-0,002446	0,003428	-0,010351	0,005460
(2)Granulometria (Mesh)(L)	0,0055586	0,006856	0,81072	0,440975	-0,010252	0,021370	0,002779	0,003428	-0,005126	0,010685
(3)Concentração (g.L ⁻¹)(L)	0,0420233	0,006856	6,12905	0,000280	0,026212	0,057834	0,021012	0,003428	0,013106	0,028917
(4)pH (L)	0,0015564	0,006856	0,22700	0,826116	-0,014255	0,017367	0,000778	0,003428	-0,007127	0,008684
(5)Temperatura (°C)(L)	-0,000889	0,006856	-0,12972	0,899994	-0,016700	0,014922	-0,000445	0,003428	-0,008350	0,007461
(6)Tempo de agitação (min)(L)	0,0042246	0,006856	0,61615	0,554919	-0,011586	0,020035	0,002112	0,003428	-0,005793	0,010018
1L by 2L	-0,010561	0,004848	-2,17841	0,061013	-0,021741	0,000619	-0,005281	0,002424	-0,010871	0,000309
1L by 3L	-0,016787	0,004848	-3,46253	0,008536	-0,027967	-0,005607	-0,008394	0,002424	-0,013984	-0,002804
1L by 4L	-0,010895	0,008397	-1,29742	0,230646	-0,030259	0,008469	-0,005447	0,004199	-0,015130	0,004235
1L by 5L	0,0177877	0,008397	2,11824	0,067008	-0,001577	0,037152	0,008894	0,004199	-0,000788	0,018576
1L by 6L	-0,010339	0,004848	-2,13255	0,065532	-0,021519	0,000841	-0,005170	0,002424	-0,010760	0,000420
2L by 3L	0,0178988	0,008397	2,13148	0,065641	-0,001466	0,037263	0,008949	0,004199	-0,000733	0,018632
2L by 4L	0,0124514	0,004848	2,56823	0,033219	0,001271	0,023631	0,006226	0,002424	0,000636	0,011816
2L by 5L	-0,006003	0,004848	-1,23826	0,250724	-0,017183	0,005177	-0,003002	0,002424	-0,008592	0,002588
2L by 6L	0,0236798	0,008397	2,81991	0,022497	0,004315	0,043044	0,011840	0,004199	0,002158	0,021522
3L by 4L	-0,000667	0,004848	-0,13758	0,893969	-0,011847	0,010513	-0,000334	0,002424	-0,005924	0,005256
3L by 5L	-0,013118	0,004848	-2,70582	0,026831	-0,024298	-0,001938	-0,006559	0,002424	-0,012149	-0,000969
3L by 6L	-0,005003	0,008397	-0,59576	0,567806	-0,024367	0,014362	-0,002501	0,004199	-0,012184	0,007181
4L by 5L	-0,0199	0,008397	-2,36979	0,045262	-0,039264	-0,000536	-0,009950	0,004199	-0,019632	-0,000268
4L by 6L	-0,00289	0,004848	-0,59620	0,567526	-0,014071	0,008290	-0,001445	0,002424	-0,007035	0,004145
5L by 6L	-0,016454	0,004848	-3,39374	0,009448	-0,027634	-0,005274	-0,008227	0,002424	-0,013817	-0,002637

Figura 18 – Análise da ANOVA Fatorial com o nível de contribuição dos fatores e das interações entre os mesmos sob o potencial de extração de polissacarídeos das amostras de alga vermelha (*Kappaphycus alvarezii*). L – Efeito linear; 1 - tempo de secagem (h); 2 – granulometria (mesh); 3 – concentração (g.L⁻¹); 4 – pH; 5 – temperatura (°C); 6 – tempo de agitação (min).

Fonte: Elaborada pelos autores

Determinado o melhor modelo matemático, foram feitas as análises por método de superfície de resposta (MSR), adotando-se para cada situação o ponto central como referência, facilitando a interpretação dos dados gerados. Com isso, a escolha das interações entre os parâmetros considerou o nível de significância $p \leq 0,05$, resultando nas análises apresentadas na Figura 19.

Analizando-se a interação entre a concentração e o tempo de secagem (Figura 19A), foi possível verificar que houve uma baixa contribuição do tempo de secagem para o potencial de extração da carragenana, destacando-se que em maiores concentrações ocorre uma maior extração do polissacarídeo (carragenana).

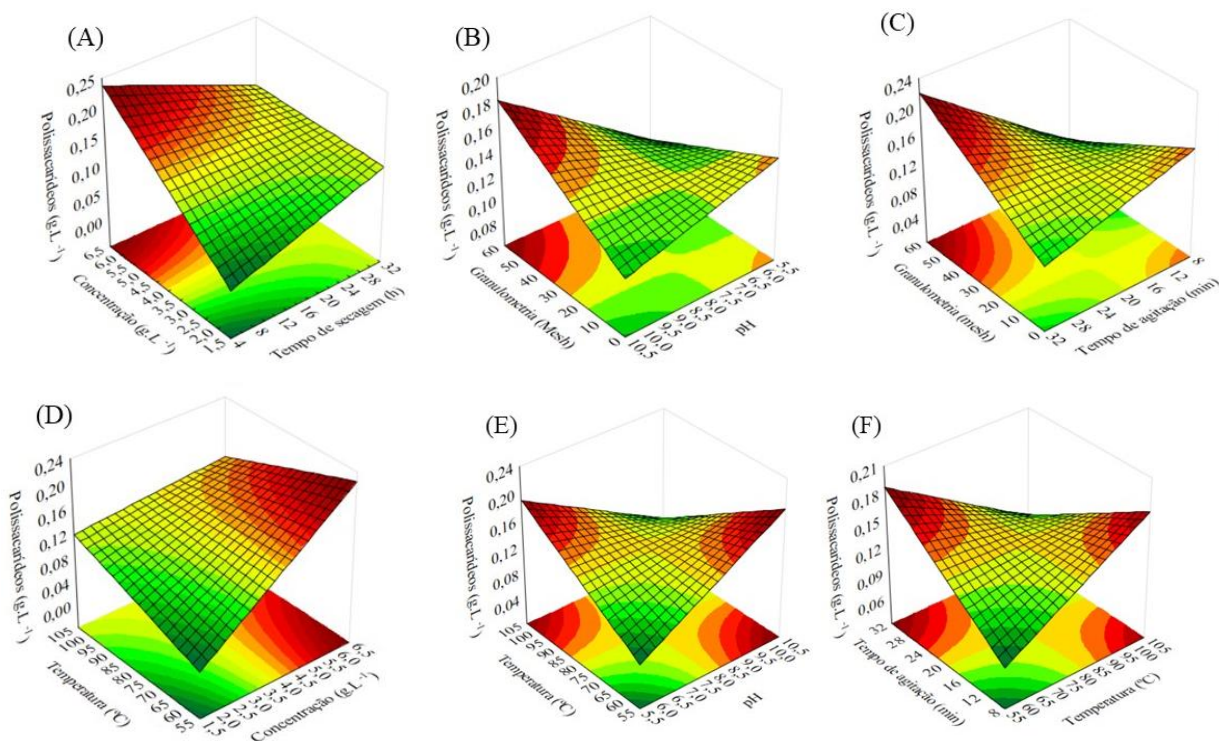


Figura 19 – Gráficos de superfície de resposta, considerando as interações entre a variável dependente extração de polissacarídeos e variáveis independentes Concentração x Tempo de secagem (A); Granulometria x pH (B); Granulometria x Tempo de Agitação (C); Temperatura x Concentração (D); Temperatura x pH (E) e Tempo de agitação x Temperatura (F)

Para a análise da interação entre a granulometria e o pH do meio (Figura 19B), observou-se que ambos os fatores interferem de modo significativo na variável resposta (extração de carragenana), ao passo que duas condições foram verificadas. A primeira para extratos os quais utilizaram-se amostras de alga com menores granulometrias (≥ 30 mesh) e pH de maior alcalinidade (≥ 8), a extração é maximizada. Para a segunda, em extratos com maiores granulometrias (≤ 30 mesh) e em meios com maior acidez ($\leq 6,5$), o potencial de extração é elevado.

Este comportamento foi semelhante para as interações de granulometria/tempo de agitação, pH/temperatura e temperatura/tempo de agitação representadas na Figura 19, sendo possível verificar duas condições de extração apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados obtidos para as análises de interações entre os fatores e suas combinações para maiores extrações de polissacarídeos totais das amostras de alga vermelha (*Kappaphycus alvarezii*).

Análises	Combinações
Granulometria (mesh) e Tempo de agitação (min)	- Combinação 1: Granulometria ≥ 30 mesh e Tempo de agitação ≥ 20 min; - Combinação 2: Granulometria ≤ 30 mesh e Tempo de agitação ≤ 20 min.
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e pH	- Combinação 1: Temperatura $\geq 85^{\circ}\text{C}$ e pH $\leq 8,5$; - Combinação 2: Temperatura $\leq 85^{\circ}\text{C}$ e pH $\geq 8,5$.
Tempo de agitação (min) e Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	- Combinação 1: Tempo de agitação ≥ 20 min e temperatura $\leq 85^{\circ}\text{C}$; - Combinação 2: Tempo de agitação ≤ 20 min e temperatura $\geq 85^{\circ}\text{C}$.

Estes resultados são interessantes, uma vez que corroboram com o efeito de aumento de extração de estruturas de carragenana em condições de meio aquoso específicas, sendo essas: pH alcalino (≈ 9) e temperaturas elevadas ($\geq 60^{\circ}\text{C}$), considerando-se curtos períodos de extração para que não haja efeito negativo na estabilidade das estruturas de carragenana (PEREIRA, 2010).

Vale ainda ressaltar que, não foram verificadas interações quadráticas significativas entre os fatores analisados e seu efeito sob a variável resposta, havendo somente significativa interação dos fatores com efeito na variável resposta de forma isolada.

Segundo Ngoc et al. (2019), os quais tendo avaliado a extração do polissacarídeo L-fucose de amostras da alga *Kappaphycus alvarezii*, por meio de análise por superfície de resposta e planejamento fatorial central composto de 5 níveis, 3 fatores e 20 ensaios, buscou-se a otimização do potencial de extração L-fucose. Como resultados, os autores verificaram maior ajuste ao modelo matemático quadrático com interação entre os fatores, com um $R^2 = 0,819$, verificando-se uma condição de máxima extração L-fucose, com parâmetros de extração em soluções de HCl 1,39M,

temperaturas de 85,1°C e períodos de aquecimento de 3h 38 min e 24s.

Vale ressaltar que, o presente estudo além de ter avaliado um total de 6 fatores com 3 níveis de interação em um total de 30 ensaios, foram verificados valores elevados de coeficiente linear ($R^2 \geq 0,90$), sendo essas condições necessárias uma maior precisão dos resultados e melhor interpretação do MSR (FÁVERO; BELFIORE, 2017).

Porém, foram verificadas duas possibilidades para o preparo dos extratos de alga vermelha, estando elas descritas na Tabela 6.

Tabela 6 – Parâmetros tecnológicos para maior extração de carragenina no preparo dos extratos de alga vermelha (*Kappaphycus alvarezii*).

	Método 1	Método 2
Parâmetro	Valores	
Tempo de secagem (h)	12	12
Granulometria (mesh)	50	30
Concentração (g.L ⁻¹)	6,0	5,0
pH	10,0	6,0
Temperatura (°C)	60	100
Tempo de agitação (min)	30	10

Destaca-se ainda que, diferente do efeito de gelatinização verificado no método de extração uni-variado em concentrações próximas a 6g.L⁻¹, por meio do método de extração multivariado, considerando-se o efeito das interações entre os fatores, não ocorreu a gelatinização do meio (Figura 20).



Figura 20 – Extrato de alga vermelha (*Kappaphycus alvarezii*) em concentração de 6g.L⁻¹

Fonte: Arquivo pessoal

Dessa forma, para que houvesse uma maior concentração de polissacarídeos mucilaginosos no extrato de alga, evitando-se efeitos indesejados de gelatinização, escurecimento e concentração, verificados no extrato no delineamento uni-variado, optou-se pelo método 1 de extração.

O método 1 destaca-se em relação ao método 2 de preparo do extrato, ao passo que o efeito de extração da carragenana em temperatura de 60°C é similar em temperaturas de 100°C, considerando-se uma economia de 40% no gasto de energia para a obtenção do extrato.

Vale ressaltar que, mesmo que o método 2 possua um menor tempo de preparo do extrato – 3 vezes menor que o método 1 – o risco de escurecimento do extrato e perda das propriedades mucilaginosas é superior, reforçando ainda os benefícios de utilizar o primeiro método de preparo do extrato de alga vermelha.

5.2 Testes de dosagem

5.2.1 Qualidade dos caldos extraídos

5.2.1.1 Variedade RB867515

Os parâmetros tecnológicos de Brix, ART, AR, Pol, Pureza, compostos fenólicos, Turbidez, pH, Acidez total, Teor de cinzas e amido da variedade de cana RB867515, estão indicados na Tabela 7.

Com base nos dados apresentados, os parâmetros de Brix, ART, AR, Pol, pH e pureza, estão dentro de parâmetros estabelecidos para o processo industrial da matéria prima, com Brix entre 18 a 25% (MARQUES et al., 2008), $ART \geq 15\%$, $AR \leq 0,8$, $Pol \geq 14\%$ (AMORIM, 2006), pH em um intervalo de 5,0 a 5,5 (RIPOLI; RIPOLI, 2009) e pureza $\geq 85\%$ (AMORIM, 2006).

Para os parâmetros de teor de cinzas solúveis e acidez total, foram obtidos resultados superiores aos recomendados pela literatura como ideias, sendo esses: teor de cinzas entre 0,2 e 0,7% (DELGADO; CESAR, 1977) e acidez total $\leq 0,80 \text{ gH}_2\text{SO}_4.\text{L}^{-1}$ (RIPOLI; RIPOLI, 2009).

Tabela 7 – Parâmetros tecnológicos de Brix (%), teor de açúcares redutores totais - ART (%), açúcares redutores - AR (%), massa de sacarose aparente/Pol (%), pureza (%), compostos fenólicos (mg.L⁻¹), turbidez (NTU), pH, Acidez (gH₂SO₄.L⁻¹), cinzas (%) e amido (mg.L⁻¹) para amostras de caldo de cana extraídos das variedades RB867515.

Variedade RB867515	
Parâmetros	
Brix	22,2%
ART	20,14%
AR	0,8%
Pol	19,4%
pH	5,3
Pureza	87%
Acidez Total	1,35 gH ₂ SO ₄ .L ⁻¹
Cinzas Condutimétricas	0,97%
Compostos Fenólicos Totais	613 mg.L ⁻¹
Turbidez	453 NTU
Amido	174,4 mg.L ⁻¹

Porém, vale destacar foram determinados valores de teor de amido inferiores ao intervalo de 200 e 250 mg.L⁻¹, indicando uma baixa interferência do polissacarídeo no processo de clarificação do caldo (CUDDIHY; PORRO; RAUH, 2001). Além disso, para o teor de acidez e demais índices de compostos fenólicos (613 ppm), turbidez (453 NTU) e teor de cinzas (0,97%), ocorrerá a diminuição dessas impurezas, resultante da formação de compostos insolúveis e sua precipitação por meio do processo de clarificação das amostras (REIN, 2012).

Segundo Mutton et al. (2020), avaliando-se o efeito da clarificação no processo de produção de etanol de caldos de cana, componentes não açucarados, interferiram diretamente no processo fermentativo, destacando-se os compostos fenólicos e acidificantes removidos durante a clarificação das amostras de caldo.

5.2.1.2 Variedade CTC 072361

Os parâmetros tecnológicos de Brix, ART, AR, Pol, Pureza, compostos fenólicos, Turbidez, pH, Acidez total, Teor de cinzas e amido da variedade de cana 072361, estão indicados na Tabela 8. Com base nos dados apresentados, os parâmetros de Brix, ART, AR, Pol e pH, estão dentro de parâmetros estabelecidos para o processo industrial da matéria prima, com Brix em um intervalo

de 18 a 25% (MARQUES et al., 2008), $ART \geq 15\%$, $AR \leq 0,8$, $Pol \geq 14\%$ (AMORIM, 2006) e pH entre 5,0 e 5,5 (RIPOLI; RIPOLI, 2009).

Porém, vale destacar que os parâmetros de pureza, acidez total e teor de cinzas solúveis não foram ideais quando comparados com a literatura, a qual descreve como teores ideais de pureza $\geq 85\%$ (AMORIM, 2006), Acidez total $\leq 0,80 \text{ gH}_2\text{SO}_4.\text{L}^{-1}$ (RIPOLI; RIPOLI, 2009) e teor de cinzas de 0,2 e 0,7% (DELGADO; CESAR, 1977).

Tabela 8 – Parâmetros tecnológicos de Brix (%), teor de açúcares redutores totais (%), açúcares redutores (%), massa de sacarose aparente/Pol (%), pureza (%), compostos fenólicos (mg.L^{-1}), turbidez (NTU), pH, Acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4.\text{L}^{-1}$), cinzas (%) e amido (ppm) para amostras de caldo de cana extraídos das variedades CTC 072361.

Variedade CTC072361	
Parâmetros	
Brix	18,8%
ART	15,4%
AR	0,8%
Pol	14,7%
pH	5,1
Pureza	76%
Acidez Total	1,84 $\text{gH}_2\text{SO}_4.\text{L}^{-1}$
Cinzas Condutimétricas	1,78%
Compostos Fenólicos Totais	680 mg.L^{-1}
Turbidez	825 NTU
Amido	168,6 mg.L^{-1}

Para a pureza, houve uma considerável diminuição, ocorrendo devido a relação existem entre os índices de Pol e Brix (CTC, 2005), ao passo que devido a considerável redução do ART em relação ao Brix, indicou uma maior presença de compostos não açucarados na amostra, impactando diretamente em um menor índice de pureza do caldo extraído.

Além disso, os elevados índices de acidez, compostos fenólicos e turbidez verificados, indicam uma maior probabilidade de gerar efeitos negativos para a levedura, como aumento da concentração de componentes acidificantes do meio e compostos químicos de furfural, acelerando o processo de inversão de pentoses e demais açúcares fermentescíveis (MUTTON et al., 2020).

Com relação ao teor de amido, mesmo havendo uma concentração considerável da biomolécula (168,6 mg.L^{-1}), seu efeito no processo de clarificação não será significativo,

considerando-se que seus efeitos são significativos em intervalos de 200 a 250 mg.L⁻¹ (CUDDIHY; PORRO; RAUH, 2006).

Porém, destaca-se que a maior presença de determinados componentes não açucarados, como o teor de cinzas solúveis, não indica um problema para o processo fermentativo, desempenhando a função de fonte nutritiva de potássio e cálcio para a levedura durante o processo fermentativo (YANG et al., 2016).

Além disso, verifica-se que através da clarificação e utilização de polieletrólitos, acarretará na diminuição de impurezas prejudiciais ao processo fermentativo, as quais proporcionam diminuição do rendimento industrial (BASSO et al., 2011).

5.2.2 Ensaio 1 (Delineamento de extração uni-variado)

Para estes ensaios, foram utilizados caldo de cana da variedade RB867515. Os valores determinados para percentual de lodo formado, velocidade de sedimentação dos flocos e turbidez do caldo clarificado estão apresentados na Figura 21.

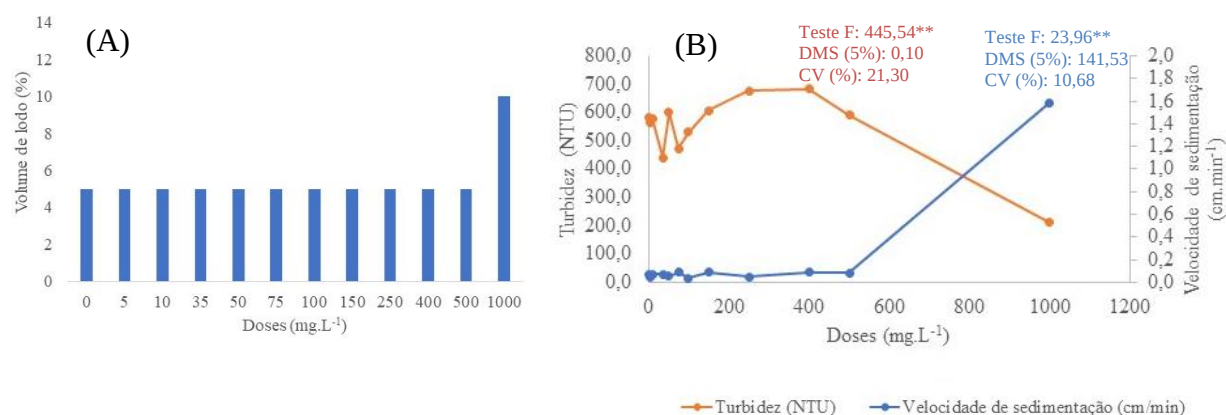


Figura 21 – Valores médios determinados para (A) percentual de lodo formado (%), (B) Turbidez (NTU) e velocidade de sedimentação (cm.min⁻¹) com uso de diferentes doses de extrato de alga vermelha.

Letras diferentes diferenciam significativamente pelo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Observou-se que a dosagem de 1000 mg.L⁻¹ resultou em maior percentual de lodo formado (Figura 21A), ao passo que promoveu a maior velocidade de sedimentação de impurezas e, consequentemente, menor turbidez do caldo (Figura 21B).

Além disso, vale ressaltar que a dosagem de 1000 mg.L⁻¹ apresentou resultados promissores para os três parâmetros, com resultados de percentual de formação de lodo na ordem de 10%, turbidez de 200 NTU e velocidade de sedimentação de 1,5 cm.min⁻¹.

Essa dose é 10 vezes superior a utilizada por extrato de moringa (TEIXEIRA et al., 2021) e 2 vezes superior à utilizada por extrato de acácia negra (LEITE; BARBOSA, 2021), podendo implicar em maiores gastos no processo produtivo.

Com relação a velocidade de sedimentação de impurezas, estes resultados diferem dos apresentados por Teixeira et al. (2021), ao passo que foram demonstrados percentuais de lodo formado de 5,33%, índices de turbidez de 132 NTU e velocidade de sedimentação 3,74 cm.min⁻¹, utilizando-se extratos de sementes de moringa e caldos de cana da variedade CTC4.

Portanto, mesmo com a utilização de uma maior dosagem, resultando em uma menor velocidade de sedimentação, deve-se considerar o efeito da variedade de cana utilizada nos ensaios, visto que a utilização do mesmo biofloculante resulta em diferentes resultados (COSTA et al., 2018).

Com base nos resultados apresentados para os teores de brix e compostos fenólicos (Figura 22), verificou-se que o tratamento com 1000 mg.L⁻¹ desempenhou melhores resultados para os parâmetros de Brix e compostos fenólicos, com valores na ordem de 15% e 320 ppm, respectivamente. Estes parâmetros são satisfatórios uma vez que através da redução do Brix, indica a redução de componentes de não açúcares indesejados no meio, representados principalmente pelos compostos fenólicos que em concentrações superiores a 500 ppm podem ser prejudiciais ao desenvolvimento da levedura em processos fermentativos (MUTTON *et al.*, 2020).

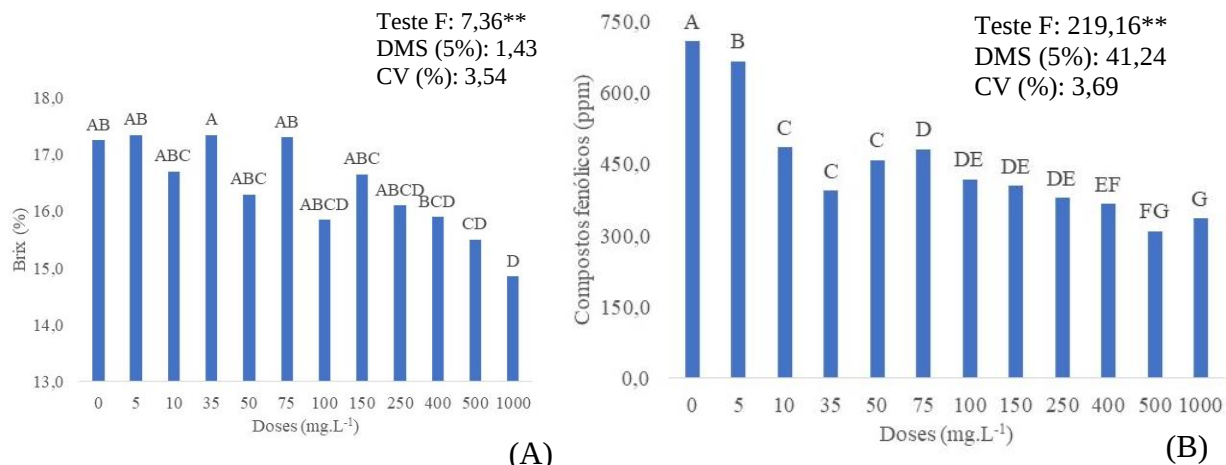


Figura 22 – Valores médios determinados para (A) Brix (%) e (B) compostos fenólicos (ppm) com uso de diferentes doses de extrato de alga vermelha.

Letras diferentes diferenciam significativamente pelo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Através dos resultados obtidos para os parâmetros de pH e acidez do meio (Figura 23), foram verificadas baixas variabilidades estatísticas entre os tratamentos, podendo-se destacar a predominância do desempenho positivo do tratamento de 1000 mg.L⁻¹, com baixa variação do pH em relação ao utilizado no processo de clarificação (pH=7,0) e baixo teor de acidez.

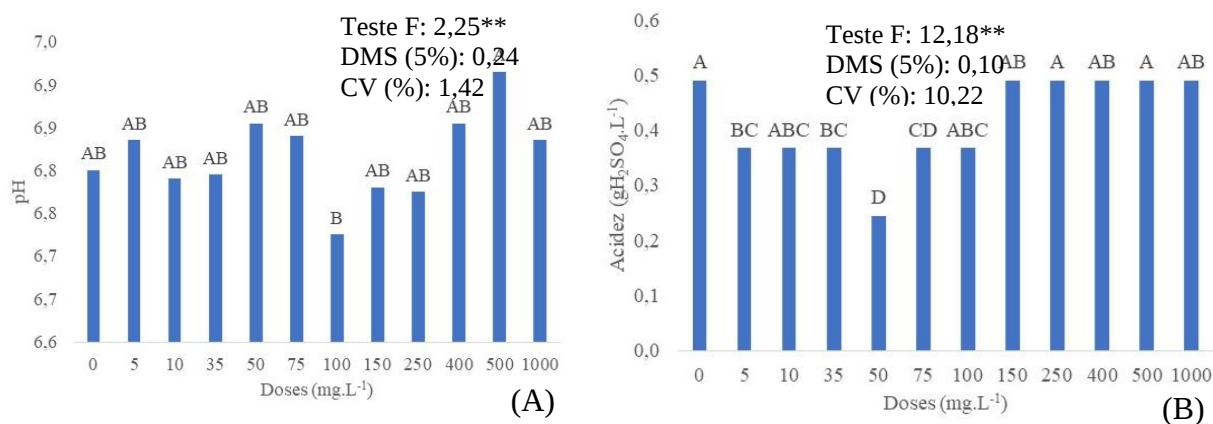


Figura 23 – Valores médios determinados para (A) pH e (B) Acidez (gH₂SO₄.L⁻¹) com uso de diferentes doses de extrato de alga vermelha.

Letras diferentes diferenciam significativamente pelo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Estes parâmetros são necessários para o caldo clarificado, uma vez que em meios com uma maior presença de impurezas acidificantes pode acarretar em perdas de processo, decorrentes da corrosão gradual de equipamentos e perda de componentes açucarados (sacarose, glicose e frutose) devido acelerar o processo de inversão e consequentes impactos negativos no processo fermentativo (REIN, 2012).

5.2.3 Ensaio 2 (Delineamento de extração multivariado)

Para estes ensaios, foram utilizados caldo de cana da variedade CTC072361. Considerando-se os resultados obtidos para os parâmetros de volume de lodo, turbidez e tempo de sedimentação (Figura 24), foi possível verificar que o intervalo de 425 a 1200 mg.L⁻¹ apresentaram resultados positivos para os três parâmetros analisados.

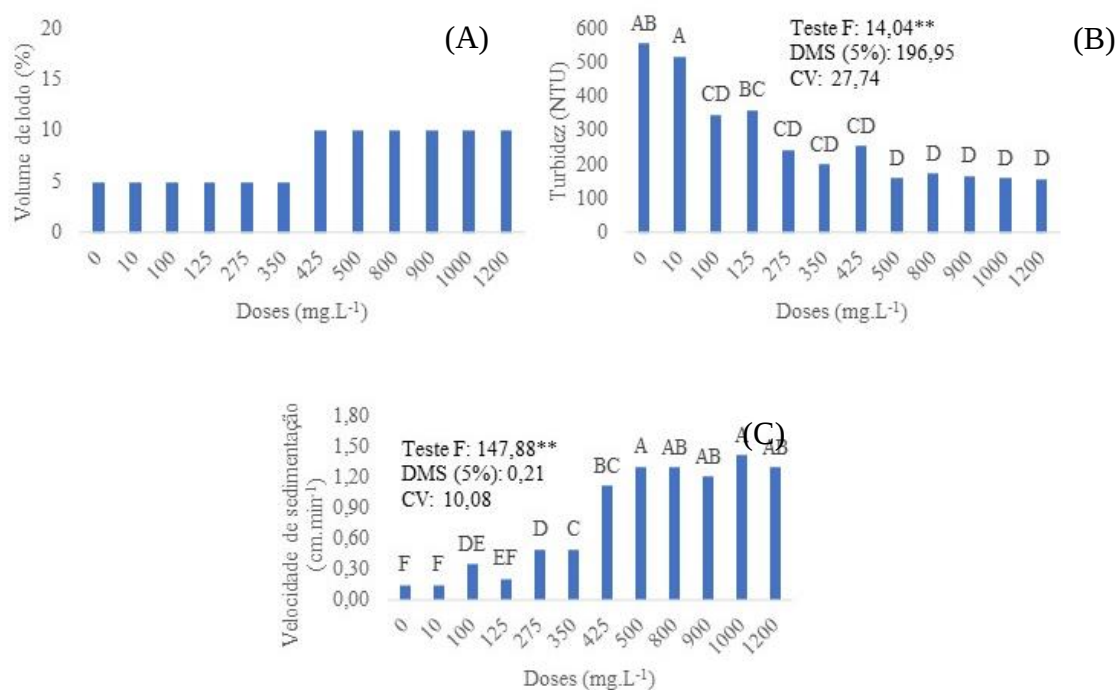


Figura 24 – Valores médios determinados para (A) volume de lodo (%), (B) Turbidez (NTU) e (C) Velocidade de sedimentação (cm.min⁻¹) com uso de diferentes doses de extrato de alga vermelha.

Letras diferentes diferenciam significativamente pelo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Dentre esses, o tratamento com 500 mg.L⁻¹ demonstrou valores de volume de lodo formado na ordem de 10%, turbidez de 178 NTU e velocidade de sedimentação de 1,30 cm.min⁻¹, sendo semelhantes ou superiores a tratamentos com maiores dosagens.

Estes resultados divergem aos apresentados por Costa et al. (2018), o qual através uso de extratos de moringa no processo de sedimentação das impurezas do caldo, mesmo sendo obtidos valores similares para a formação de lodo na ordem de 5 a 10%. Para os demais parâmetros, foram verificadas remoções de até 57% da turbidez e velocidades de sedimentação máximas próximas a 1,0 cm/min das amostras de caldo.

Isto indica o potencial dos extratos de alga como importantes auxiliares de sedimentação, com resultados satisfatórios para as três variáveis analisadas, resultando em caldos clarificados com alta formação de lodo, baixa turbidez e satisfatória velocidade de sedimentação de impurezas.

Para a análise do Brix e compostos fenólicos, dentre os tratamentos, o tratamento com 500 mg.L⁻¹ apresenta resultados satisfatórios, com valores na ordem de 15% de Brix e 250 mg.L⁻¹ de compostos fenólicos, indicando uma baixa concentração de componentes não açucarados e maior presença de moléculas açucaradas.

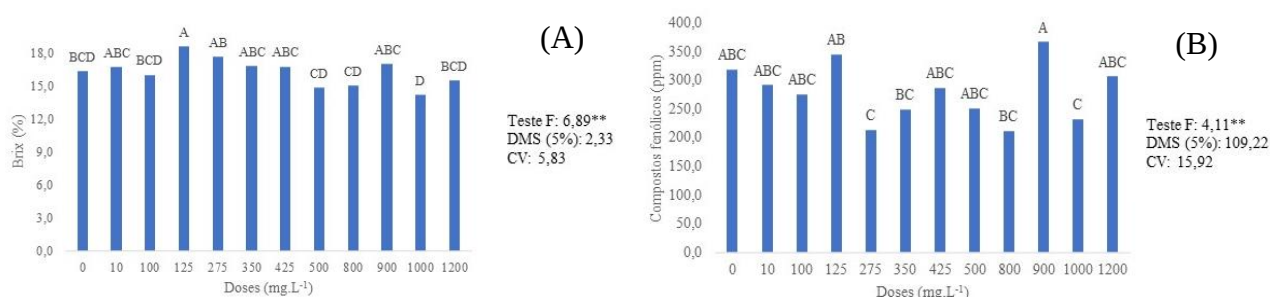


Figura 25 – Valores médios determinados para (A) Brix (%) e (B) compostos fenólicos (ppm) com uso de diferentes doses de extrato de alga vermelha.

Letras diferentes diferenciam significativamente pelo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Este fator torna-se positivo, ao passo que através da padronização do Brix do caldo para 16%, indica-se uma maior remoção de impurezas presentes no caldo extraído (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001), podendo-se ainda destacar a baixa presença de compostos fenólicos que em concentrações superiores a 500 mg.L⁻¹, possuem efeito negativo para o desenvolvimento da levedura durante o processo fermentativo (MUTTON et al., 2020).

Com relação aos valores de pH e acidez das amostras (Figura 26), não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos, podendo-se avaliar o tratamento com 500 ppm como positivo, com baixa variabilidade em relação ao ajuste do pH para o processo de clarificação ($\text{pH} \approx 7,0$) e baixa acidez.

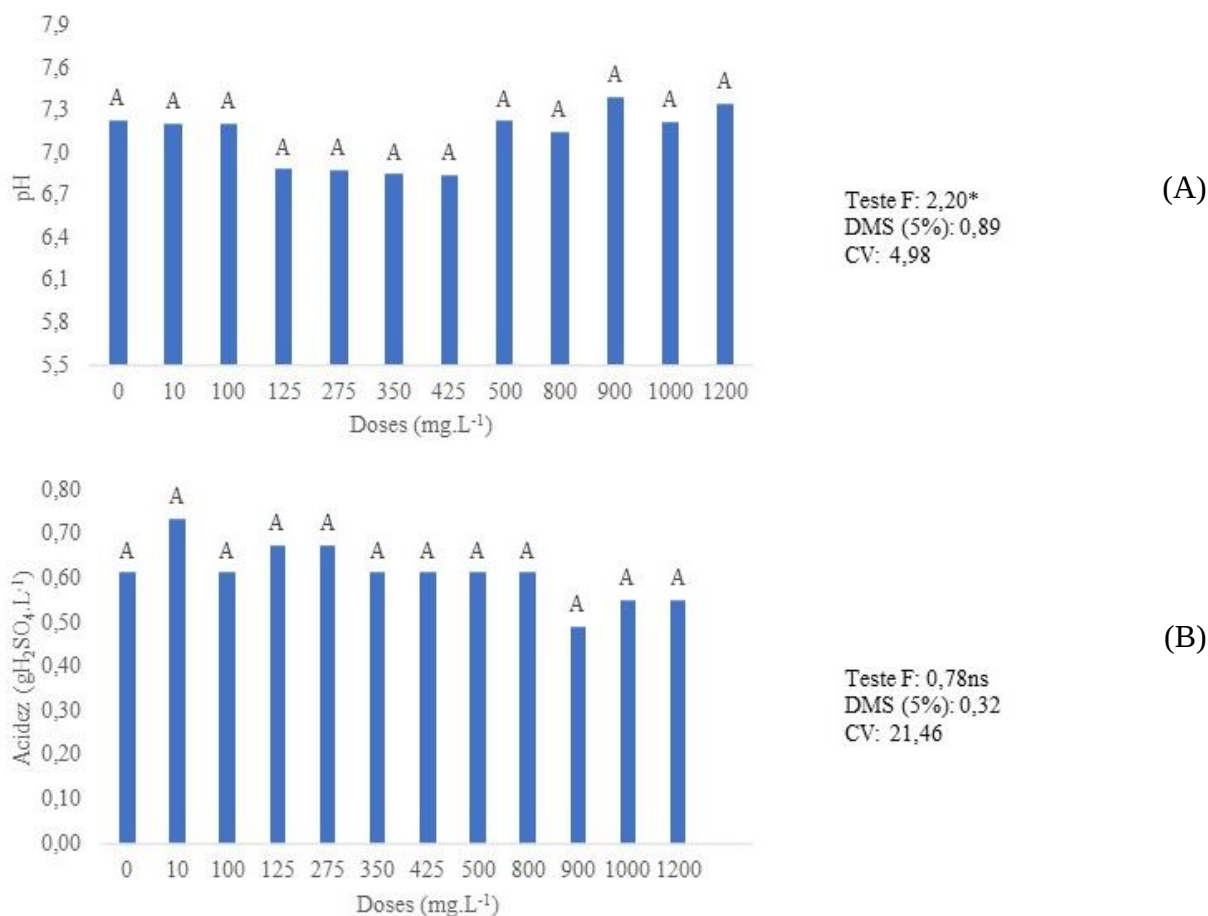


Figura 26 – Valores médios determinados para (A) pH e (B) Acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4.\text{L}^{-1}$) com uso de diferentes doses de extrato de alga vermelha.

Letras diferentes diferenciam significativamente pelo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Este fato diverge ao apresentado por Teixeira et al. (2019), o qual utilizando-se de extratos de moringa como auxiliares de sedimentação de impurezas do caldo, apresentou alta variabilidade do pH e maiores parâmetros de acidez, com pH na ordem de 5,6 e acidez na ordem de 0,76 $\text{gH}_2\text{SO}_4.\text{L}^{-1}$.

Com isso, os resultados obtidos com o tratamento com dosagem de 500 mg.L⁻¹ do extrato de alga vermelha são de extrema importância, pois são obtidos resultados necessários para que efeitos como a diminuição da presença de açúcares fermentescíveis em decorrência da aceleração do processo de inversão dos açúcares (sacarose, glicose e frutose) sejam evitados (HUGOT, 1969).

Vale salientar que, tal efeito ocorre em meios mais ácidos e que podem acarretar na maior concentração de compostos prejudiciais para a fermentação, gerando grandes perdas de processo e baixo rendimento industrial (ALBUQUERQUE, 2011).

5.2.4 Comparação entre os métodos de extração

Com base nos dados obtidos, as principais comparações entre os métodos de extração podem ser verificadas na Tabela 9.

Tabela 9 – Principais comparações entre os métodos de extração univariado e multivariado

Comparação	Método univariado	Método multivariado
Preparo de extratos	1 possibilidade	2 possibilidades
Concentração $\geq 6\text{g.L}^{-1}$	Gelatinizou	Não gelatinizou
Ensaio	120	30
Melhor dosagem	1000 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹

Quanto aos métodos de preparo dos extratos, vale destacar que para os ensaios do método multivariado de extração, foram determinadas duas possibilidades de preparo dos extratos de alga vermelha, diferindo-se do método univariado o qual apresentou uma possibilidade de preparo do extrato.

Além disso no método de extração multivariado, não foi verificado o processo de gelatinização em extratos com concentrações iguais ou superiores a 6g.L⁻¹, tornando o método mais versátil quanto ao processo de extração, considerando-se que em maior presença da carragenana nos extratos.

Com número de ensaios realizados, mesmo havendo certa interação entre os parâmetros de análise no método univariado, ele ocorre de forma isolada, diferindo-se dos ensaios multivariados,

ao passo que cada ensaio realizado com aplicação da Análise de Variância Fatorial (ANOVA) considerou-se a interação direta entres os parâmetros.

Vale ainda ressaltar o número de ensaios realizados, sendo apresentada uma redução de 75% do método univariado para o multivariado, otimizando-se o tempo de análise e obtenção dos dados. Porém, cabe destacar que através do método univariado, foi possível determinar os principais fatores analisados no método multivariado.

Destaca-se ainda os resultados obtidos para os testes de dosagem, tendo uma redução de 50% referente a melhor dosagem utilizada, na qual em dosagens de 500 mg.L^{-1} para o delineamento multivariado apresentaram resultados similares ao delineamento experimental univariado, tendo como a melhor dosagem a de 1000 mg.L^{-1} .

Porém, vale ressaltar o possível efeito da variedade de cana utilizada neste presente estudo, justificando-se que o uso do mesmo biofloculante pode diferir quando comparado a um ou mais caldos de cana derivados de outras variedades de cana (COSTA et al., 2018).

Esta avaliação pode ser considerada inovadora, dada a sua complexidade e a quantidade de variáveis avaliadas, com análises de métodos extração de polissacarídeos de alga vermelha de forma isolada, sendo essas variáveis a concentração (DAS et al., 2016) e granulometria (GERENIU et al., 2017; FIRDAUS et al., 2021), assim como a interação entre dois fatores, sendo eles tempo e temperatura de extração (NGOC et al., 2019).

Outro ponto a se destacar é o tempo de preparo dos biofloculantes de alga vermelha, sendo apresentados tempos mínimos de preparo entre 10 e 30 min, com uma redução entre 1h 30min (GANESAN; SHANMUGAM; BHAT, 2018) e 3h 30min (WEBBER et al., 2012), representando uma economia de recursos significativa para o processo industrial com relação ao preparo do biofloculante.

Além disso, o presente estudo avaliou uma importante aplicação biotecnológica, considerando-se a possibilidade do uso de insumos orgânicos e sustentáveis na indústria sucroenergética, os quais podem desempenhar resultados aos similares insumos sintéticos comerciais não sustentáveis, possibilitando sua substituição gradativa.

5.3 Teste de comparação e análise dos mostos

Os parâmetros tecnológicos de volume de lodo formado, turbidez e velocidade de sedimentação de impurezas, relacionados às amostras de caldo de cana clarificados, estão representados pela Figura 27.

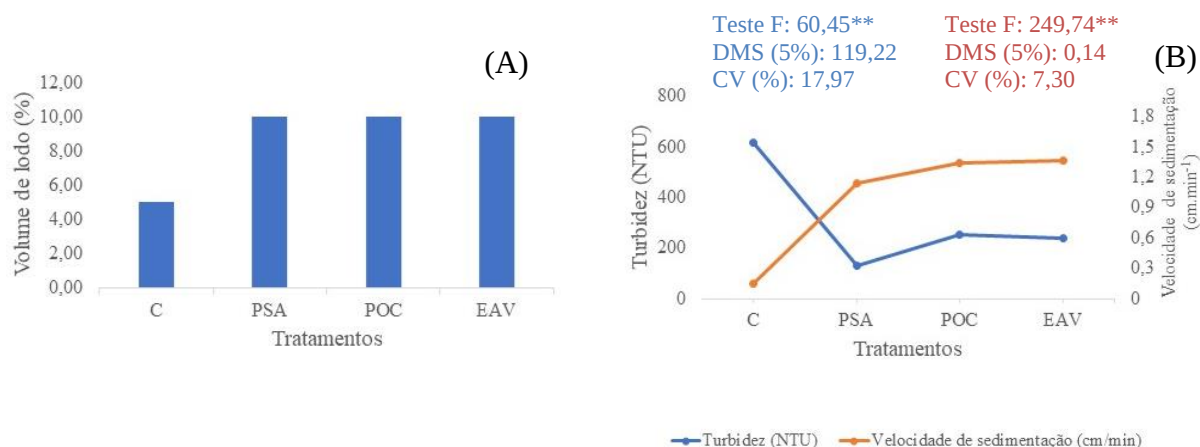


Figura 27 – Valores médios determinados para (A) percentual de lodo formado (%), (B) Turbidez (NTU) e velocidade de sedimentação (cm.min⁻¹) com uso de 4 diferentes auxiliares de sedimentação. Controle – C, Polímero Sintético Aniônico – PSA, Polímero Orgânico Comercial – POC e Extrato de Alga Vermelha – EAV.

Letras diferentes diferenciam significativamente pelo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Observou-se que, dentre os tratamentos, somente o Controle não obteve resultados satisfatórios para os três parâmetros analisados, com baixa formação de lodo (5%), elevada turbidez (600 NTU) e baixa velocidade de sedimentação de impurezas (0,15 cm.min⁻¹).

Para os demais tratamentos, pode-se destacar o desempenho positivo do EAV como auxiliares de sedimentação de impurezas do caldo de cana, sendo verificados indicadores similares aos tratamentos com o PSA e POC, como elevada formação de lodo (10%), baixa turbidez (237 NTU) e alta velocidade de sedimentação (1,32 cm.min⁻¹).

Estes resultados diferem dos apresentados por Teixeira et al. (2021), de modo que foram verificados percentuais de lodo formado de 5,33%, bem como índices de turbidez de 132 NTU e velocidade de sedimentação 3,74 cm.min⁻¹, utilizando-se extratos de sementes de moringa e caldos de cana da variedade CTC4. Dessa maneira, vale considerar o efeito da variedade de cana utilizada nos ensaios, visto que o uso do mesmo biofloculante acarreta em diferentes resultados (Costa et al.,

2018).

Com relação aos parâmetros de Brix e compostos fenólicos (Figura 28), pode ser analisado uma baixa variabilidade do teor de Brix entre os tratamentos, com valores médios na ordem de 18%. Isto pode ter ocorrido devido o processo de aquecimento do caldo, o qual ocorrendo em temperaturas próximas a 100°C (REIN, 2012), resultando na elevação do teor de sólidos solúveis das amostras (TEIXEIRA et al., 2021), mesmo com o ajuste do Brix do caldo extraído de 18,8% para 16,0%.

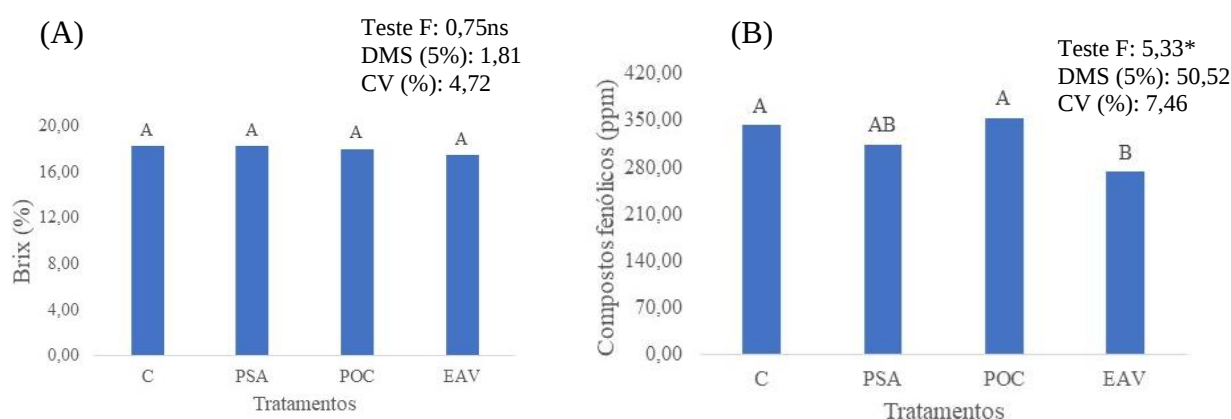


Figura 28 – Valores médios determinados para (A) Brix (%) e (B) compostos fenólicos (ppm) com uso de 4 diferentes auxiliares de sedimentação. Controle – C, Polímero Sintético Aniônico – PSA, Polímero Orgânico Comercial – POC e Extrato de Alga Vermelha – EAV.

Letras diferentes diferenciam significativamente pelo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Para os resultados de compostos fenólicos, cabe destacar que foram verificados menores índices para o tratamento com o uso do EAV, com valores na ordem de 286 ppm. Tais parâmetros são satisfatórios, ao passo que através da concentração de compostos fenólicos ser inferior à 500 mg.L⁻¹, indica uma menor presença de componentes não açucarados indesejados, sendo estes prejudiciais ao desenvolvimento da levedura em processos fermentativos (MUTTON et al., 2020).

Para os valores de pH e acidez do meio (Figura 29) apresentados, pode ser verificada uma baixa variabilidade estatística entre os tratamentos, destacando-se a similaridade do uso do EAV com relação aos demais, com parâmetros tecnológicos semelhantes aos ensaios realizados com os floclulantes utilizados comercialmente (PSA e POC), com baixa variação do pH e baixa acidez.

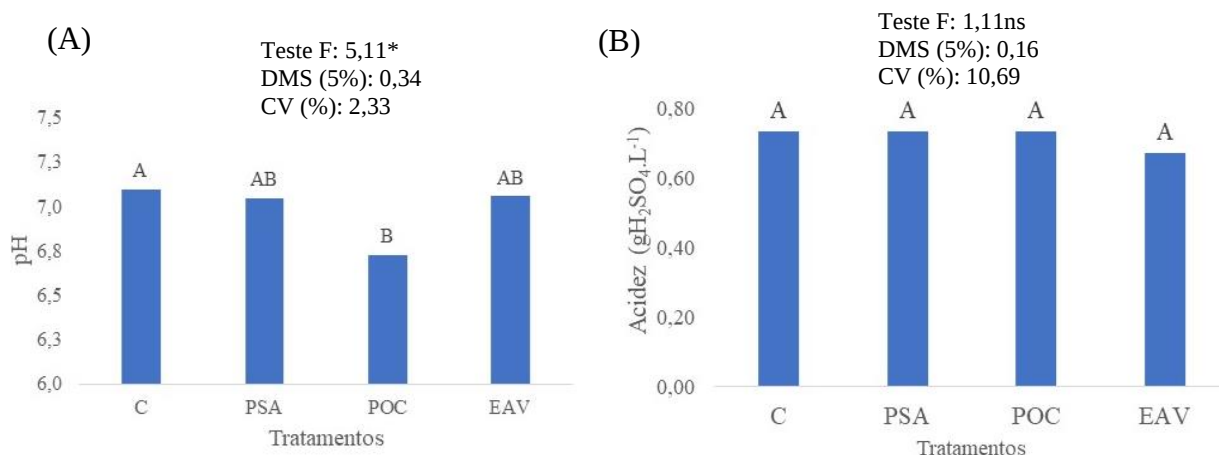


Figura 29 – Valores médios determinados para (A) pH e (B) Acidez (gH₂SO₄.L⁻¹) com uso de 4 diferentes auxiliares de sedimentação. Controle – C, Polímero Sintético Aniônico – PSA, Polímero Orgânico Comercial – POC e Extrato de Alga Vermelha – EAV. Letras diferentes diferenciam significativamente pelo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Esses indicativos são necessários para a clarificação do caldo, uma vez que durante o processo de clarificação, meios que possuam uma alta variabilidade de pH e elevados índices de acidez, podem acelerar o processo de perda de componentes açucarados e formação de compostos indesejados, impactando negativamente o processo fermentativo (REIN, 2012).

Os resultados obtidos de teor de açúcares redutores totais (ART), compostos fenólicos e acidez total, das amostras de mosto, estão representados pela Tabela 10.

Com base nos teores de ART, não foram verificadas diferenças significativas expressivas, ao passo que devido a padronização do Brix dos mostos para 16%, também houve uma baixa variação do ART entre os tratamentos, sendo obtidos valores na ordem de 13%.

Esses resultados são inferiores aos apresentados por Freitas et al. (2017), nos quais comparando-se o efeito do uso de extrato de moringa e polímero sintético no processo de clarificação de caldos de cana, foram verificados valores de ART na ordem de 13,43 a 14,54%. Porém, vale salientar que mesmo sendo inferiores, os valores de ART estão dentro dos parâmetros estabelecidos de 10 a 20% indicados para amostras de caldo de cana, para sua posterior fermentação (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

Tabela 10 – Valores médios determinados de teor de açúcares redutores totais (%), compostos fenólicos (ppm) e Acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4\cdot\text{L}^{-1}$) para as amostras de mosto dos caldos de cana clarificados com 4 tratamentos diferentes. Controle – C, Polímero Sintético Aniônico – PSA, Polímero Orgânico Comercial – POC e Extrato de Alga Vermelha – EAV.

Tratamento	ART (%)	Compostos fenólicos (ppm)	Acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4\cdot\text{L}^{-1}$)
Controle	13,61 $\pm$ 0,21A	409 $\pm$ 127,37A	1,81 $\pm$ 0,11AB
PSA	13,21 $\pm$ 0,16AB	409 $\pm$ 87,57A	1,84 $\pm$ 0,10A
POC	13,15 $\pm$ 0,30AB	402 $\pm$ 98,47A	1,72 $\pm$ 0,10AB
EAV	13,01 $\pm$ 0,37B	388 $\pm$ 79,97A	1,62 $\pm$ 0,06B
Teste F	3,51*	0,04ns	4,13*
DMS (5%)	0,58	209,89	0,20
CV (%)	2,08	24,84	5,54

Letras diferentes diferem entre si segundo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. ns – não significativo. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Para os resultados obtidos de compostos fenólicos totais, não foram indicadas diferenças significativas. Entretanto, cabe destacar os valores obtidos para o tratamento com os EAV, com resultados na ordem de 388 ppm.

Estes indicativos são interessantes, ao passo que comparados aos dados obtidos para as amostras de caldos clarificados, houve um acréscimo próximo a 35% de compostos fenólicos, indicando possíveis processos de conversão de componentes de açúcares em compostos fenólicos.

Mesmo que indesejados, para todos os tratamentos variando no intervalo de 388 a 408 ppm, a concentração de fenóis é inferior ao valor de 500 ppm, ocorrendo a interferências de tais compostos no processo fermentativo em concentrações superiores (MUTTON et al., 2020).

Com relação ao parâmetro de acidez total, cabe destacar que os tratamentos com EAV indicaram os menores valores, na ordem de 1,62 $\text{gH}_2\text{SO}_4\cdot\text{L}^{-1}$. Estes parâmetros estão de acordo com o ajuste do pH do meio para 4,5, no qual a levedura desempenhará maior atividade metabólica (BASSO et al., 2011). Estes parâmetros são superiores aos apresentados por Freita et al. (2017), os quais foram determinados valores de acidez total na ordem de 1,05 $\text{gH}_2\text{SO}_4\cdot\text{L}^{-1}$, avaliando-se o uso de extratos de moringa na clarificação de caldos de cana.

Isto pode ser atribuído ao teor de acidez determinado para o caldo extraído, apresentando uma acidez do meio na ordem de 1,84 $\text{gH}_2\text{SO}_4\cdot\text{L}^{-1}$, demonstrando-se que a utilização do EAV contribuiu positivamente para a remoção satisfatória de componentes acidificantes do meio, efeito esperado para o tratamento de clarificação com uso de polieletrólitos (REIN, 2012).

5.4 Processo fermentativo e análise dos vinhos

Através do desenvolvimento fisiológico da levedura (Tabela 11), não foram verificadas diferenças significativas. Porém, vale ressaltar que o tratamento utilizando o EAV demonstrou um aumento de 0,5% para a viabilidade celular, 10,92% para os índices de brotamento e a viabilidade de brotos sendo mantida a 100%.

Tabela 11 – Valores médios obtidos para viabilidade celular, índice de brotamento e viabilidade de brotos ao início e final do processo fermentativo de mostos de caldo de cana clarificados. Controle – C, Polímero Sintético Aniônico – PSA, Polímero Orgânico Comercial – POC e Extrato de Alga Vermelha – EAV.

Início			
Tratamentos	Viabilidade celular (%)	Brotamento (%)	Viabilidade de broto (%)
Controle	98,67± 1,64A	9,88± 3,86A	100,00A
PSA	99,43± 0,65A	12,18± 5,34A	100,00A
POC	99,08± 1,06A	9,20 ± 4,73A	100,00A
EAV	99,09± 1,13A	10,93± 3,16A	100,00A
Teste F	0,28ns	0,36ns	-
DMS (5%)	2,47	9,15	-
CV (%)	1,19	41,30	-
Final			
Tratamentos	Viabilidade celular (%)	Brotamento (%)	Viabilidade de broto (%)
Controle	98,50± 0,53A	15,31± 4,54A	100,00A
PSA	99,50± 1,02A	18,06± 5,65A	100,00A
POC	98,86± 1,55A	17,06± 9,97A	100,00A
EAV	99,61± 0,77A	21,85± 7,14A	100,00A
Teste F	1,03ns	0,60ns	-
DMS (5%)	2,18	14,96	-
CV (%)	1,05	39,44	-

Letras diferentes diferem entre si segundo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. ns – não significativo. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Através do estudo do efeito da clarificação no processo de fermentação de caldos de cana não clarificados e clarificados, Mutton et al. (2020) verificou valores de viabilidade celular na ordem de 80,18 a 86,21%, respectivamente.

Isto demonstra que, o procedimento de clarificação do caldo de cana influencia

positivamente o processo fermentativo, uma vez que ocorreu a diminuição de compostos inibidores e proporcionou um meio ideal para o desenvolvimento da levedura (BASSO, L.; BASSO, T.; ROCHA, 2011).

Segundo Freitas et al. (2017), foi avaliado o efeito do uso de extratos de moringa na clarificação de caldos de cana e seu efeito no processo fermentativo, foram verificados índices de viabilidade celular de 96,06 a 97,94%, sendo demonstrado que a utilização de biofloculantes pode afetar positivamente o desenvolvimento da levedura.

Para a análise das amostras de vinho, os resultados obtidos para os parâmetros de teor açúcares redutores residuais totais (ARRT), pH, acidez, teor alcoólico e glicerol estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Valores médios determinados de teor de açúcares redutores residuais totais (%), pH, acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4\cdot\text{L}^{-1}$), Teor alcoólico ($^{\circ}\text{GL}$) e Glicerol (%) para amostras de vinho de caldo clarificados de cana fermentados. Controle – C, Polímero Sintético Aniônico – PSA, Polímero Orgânico Comercial – POC e Extrato de Alga Vermelha – EAV.

Tratamento	ARRT (%)	pH	Acidez ($\text{gH}_2\text{SO}_4\cdot\text{L}^{-1}$)	Teor alcoólico ($^{\circ}\text{GL}$)	Glicerol (%)	Eficiência fermentativa (%)
Controle	0,05 $\pm$ 0,00A	4,44 $\pm$ 0,09A	2,67 $\pm$ 0,15A	9,3 $\pm$ 0,08A	1,08 $\pm$ 0,04A	89,85 $\pm$ 2,97A
PSA	0,05 $\pm$ 0,00A	4,52 $\pm$ 0,05A	2,66 $\pm$ 0,21A	9,3 $\pm$ 0,20A	0,97 $\pm$ 0,05B	92,59 $\pm$ 4,23A
POC	0,05 $\pm$ 0,01A	4,49 $\pm$ 0,10A	2,63 $\pm$ 0,21A	9,2 $\pm$ 0,33A	0,89 $\pm$ 0,03C	92,26 $\pm$ 3,20A
EAV	0,05 $\pm$ 0,00A	4,47 $\pm$ 0,06A	2,66 $\pm$ 0,18A	9,2 $\pm$ 0,33A	0,87 $\pm$ 0,04C	93,27 $\pm$ 4,07A
Teste F	0,31ns	0,69ns	0,02ns	0,11ns	22,97**	0,66ns
DMS (5%)	0,01	0,17	0,40	0,54	0,09	7,68
CV (%)	16,07	1,79	7,23	2,78	4,34	3,98

Letras diferentes diferem entre si segundo teste de Tukey (5%). **significativo ao nível de 1% de probabilidade. ns – não significativo. DMS – Desvio Mínimo Significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Para os teores de ARRT das amostras de vinho, não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos, com valores médios na ordem de 0,05%. Dessa forma, esses parâmetros indicam que houve uma baixa presença de compostos açucarados residuais, demonstrando que o processo fermentativo foi finalizado.

Estes resultados são similares aos determinados por Masson et al. (2015), os quais avaliando

a produção de etanol de amostras de caldo de cana clarificados, foram determinados valores de ARRT na ordem de 0,06%.

Com relação aos valores de pH e acidez, não foram verificadas diferenças significativas, com valores de pH na ordem de 4,44 a 4,52 e acidez total no intervalo entre 2,63 a 2,67 gH₂SO₄.L⁻¹. Segundo Alcantara et al. (2021), quando avaliando-se o desenvolvimento de leveduras CAT-1 em amostras de melaço de cana de açúcar, foram determinados valores de pH e acidez total na ordem de 4,27 e 3,75 gH₂SO₄.L⁻¹.

Este fator pode ser resultante do processo de acidificação do meio, derivado da presença de ácidos orgânicos e compostos de furfural (HUGOT, 1969) e conversão de parte de compostos açucarados em metabólitos acidificantes (CAMOLEZ; MUTTON, 2005), proporcionando condições de estresse para levedura, diminuindo a eficiência fermentativa e teor alcoólico (BASSO et al., 2011).

Para os teores alcoólicos das amostras, não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos, podendo ser destacado os tratamentos com o EAV, sendo obtidos valores na ordem de 9,2°GL. Estes são superiores aos apresentados por Freitas et al. (2017), os quais foram obtidos teores na ordem de 6,83°GL em processos fermentativos de caldos de cana clarificados com extratos de moringa, demonstrando a elevada efetividade do EAV para a produção de etanol.

Com relação ao parâmetro de glicerol, foram indicadas diferenças significativas, destacando-se os tratamentos Controle com o maior valor (1,08%) e o EAV indicado pelo menor valor (0,87%). Segundo Macri et al. (2014), os quais avaliando-se o uso de extratos de moringa no tratamento de caldos de cana, indicaram valores de glicerol na ordem de 1,94 a 2,03% para as amostras de vinho analisadas.

Em condições normais, a levedura utiliza-se de açúcares fermentescíveis para manter seus processos metabólicos na produção de ATP (Adenosina Trifosfato) e demais compostos, com parte do carboidrato sendo direcionado para a regeneração do NAD (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo) (BASSO et al., 2011). Porém, em condições de maior produção do glicerol, pode indicar a utilização dos açúcares para outras finalidades, sendo diminuída a produção de etanol (COSTA et al., 2018b).

Para os dados da eficiência fermentativa, não foram verificadas diferenças significativas, ao passo que o tratamento com o EAV teve um acréscimo de 3,4% em relação ao tratamento

Controle, diferindo-se dos tratamentos com PSA e POC, o qual teve um acréscimo próximo a 1%.

Estes resultados são promissores, indicando que em escalas industriais, o acréscimo para o processo pode ser significativo, considerando-se que através de pequenos ajustes do processo industrial, podem resultar em economias gerais de até 5% (THIELMANN; CAVALCANTE; YOUNG, 2022), impulsionando o desenvolvimento sustentável do setor sucroenergético nacional (VANDENBERGHE et al., 2022).

CONCLUSÃO

Com base nos ensaios realizados, foi possível concluir que:

1. Há diferença entre os delineamentos experimentais de extração (uni-variado e multivariado), resultando em três diferentes métodos de preparo do extrato de alga vermelha (*Kappaphycus alvarezii*), tendo sido escolhido o delineamento multivariado de extração como satisfatório;
2. É recomendada a dosagem de 1000 mg.L^{-1} para o delineamento experimental univariado, assim como a concentração de 500 mg.L^{-1} o delineamento multivariado, levando-se em consideração que há a influência da variedade da cana utilizada no processo de clarificação;
3. Os extratos de alga vermelha demonstram efeito clarificante similar ao polímero sintético aniônico e polímero orgânico comercial;
4. O uso dos extratos de alga vermelha não afeta a produção de etanol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDI, I. A.; STOBIE, R. Evaluating the suitability of two mud level sensing technologies for juice clarifiers. **Sugar Research Australia**, 2021. Disponível em: <<https://elibrary.sugarresearch.com.au/handle/11079/18229>>. Acesso em: 20 mar. 2023.

DE ABREU, L. G. F. et al. Energy cane vs sugarcane: watching the race in plant development. **Industrial Crops and Products**, v. 156, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112868>>. Acesso em: 14 jun. 2021.

ALBUQUERQUE, L. M. **Processo de Fabricação de Açúcar**. 2. Ed. UFPE: Recife, 2011.

AL-ASHEH, S. et al. Separation of Ethanol–Water Mixtures Using Molecular Sieves and Biobased Adsorbents. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 82, n. 7, p. 855-864, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1205/0263876041596779>>. Acesso em: 10 maio 2023.

AL-KINDI, S. et al. Partially hydrolyzed polyacrylamide: enhanced oil recovery applications, oil-field produced water pollution, and possible solutions. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 194, n. 875, 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10661-022-10569-9>>. Acesso em: 20 mar. 2023.

DE ALMEIDA, J. C. et al. Cachaça production from sugarcane infested by *Diatrea saccharalis*. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 1, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/fst.38918>>. Acesso em: 08 maio 2023.

AMORIM, H. **Fermentação alcoólica, ciência & tecnologia**. Fermentec: Piracicaba, 2006.

AMORNRAKSA, S. et al. Systematic design of separation process for bioethanol production from corn stover. **BMC Chemical Engineering**, v. 2, n. 10, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s42480-020-00033-1>>. Acesso em: 03 ago. 2022.

AOAC. **Association of Oficial Analytical Chemists - Official methods of analysis**. 18. ed. AOAC: Gaithersburg, 1997.

BASSO, L. C.; BASSO, T. O.; ROCHA, S. N. Ethanol production in Brazil: The industrial process and its impact on yeast fermentation. **Biofuel production**, v. 1530, p. 87-100, 2011. Disponível em:

<https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5250932/mod_resource/content/1/BASSO%202011a%20InTech-Ethanol_production_in_brazil_the_industrial_process_and_its_impact_on_yeast_fermentation.pdf>. Acesso em: 03 ago. 2022.

BARBOSA, J.C.; MALDONADO JUNIOR, W. **Experimentação Agronômica & AgroEstat – Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agronômicos**. FUNEP: Jaboticabal, 2017.

BELLUCO, A. E. S.; ALCARDE, A. R. Cana e milho: métodos distintos convergem ao etanol. **Visão agrícola**. Piracicaba – São Paulo, nº 8, jan/jun 2008. Secção Processamento. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA08-pesquisa08.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2021.

BHUYAR, P. et al. Antioxidant and antibacterial activity of red seaweed; *Kappaphycus alvarezii* against pathogenic bacteria. **Global Journal of Environmental Science and Management**, v. 6, n. 1, p. 47 – 58, 2020. Disponível em: <<https://iranjournals.nlai.ir/bitstream/handle/123456789/91870/BFB00266F8AB38C7D56E1400B48EC7B8.pdf?sequence=-1&isAllowed=y>>. Acesso em: 19 maio. 2022.

BONO, A.; ANISUZZAMAN, S. M.; DING, O. W. Effect of process conditions on the gel viscosity and gel strength of semi-refined carrageenan (SRC) produced from seaweed (*Kappaphycus alvarezii*). **Journal of King Saud University – Engineering Sciences**, v. 26, p. 3-9, 2014. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S101836391200027X>>. Acesso em: 22 jul. 2021.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Frota de veículos**. Brasília: IBGE, 2020. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/22/28120?ano=2015>>. Acesso em: 03 jun. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº47, de 30 de agosto de 2018**. Brasília: Casa civil, 2018. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/39939558/do1-2018-09-06-instrucao-normativa-n-47-de-30-de-agosto-de-2018-39939440>. Acesso em: 20 jul. 2021.

BRC – The Business Research Company. Polyacrylamide Global Market Report 2023 – By Product (Anionic, Cationic, Nonionic, Other Products), By Physical Form (Powder, Liquid, Emulsion Or Dispersions), By End User (Water Treatment, Oil And Gas, Pulp And Paper, Mining, Other End-Users) – Market Size, Trends, And Global Forecast 2023-2032. **The Business Research Company**, 2023. Disponível em: <<https://www.thebusinessresearchcompany.com/report/polyacrylamide-global-market-report#:~:text=The%20global%20polyacrylamide%20market%20size,least%20in%20the%20short%20term.>>. Acesso em: 01 abr. 2023.

CAMPANHOL, B. S. et al. Effect of the nutrient solution in the microbial production of citric acid from sugarcane bagasse and vinasse. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.19, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878818118306698>>. Acesso em: 22 jul. 2021.

CARABALLO, A. N. et al. Sustainable Ethanol Production From Sugarcane Molasses by *Saccharomyces cerevisiae* Immobilized on Chitosan-Coated Manganese Ferrite. **Frontiers**, v. 5, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.683170>>. Acesso em: 10 maio 2023.

CECCATO-ANTONINI, S. R. **Microbiologia da fermentação alcoólica** – A importância do monitoramento microbiológico em destilarias. São Carlos: EdUfscar, 105 p., 2010.

Companhia Nacional de Abastecimento (Brasil). **Acompanhamento da safra brasileira: Cana-de-açúcar – Terceiro levantamento | dezembro/2022**. Brasília: Conab, 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar/item/download/45671_7a038e9b1579f67261d6351884075e16>. Acesso em: 10 jan. 2023.

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

COSTA, G. H. G. **Emprego do extrato de moringa (moringa oleífera lamarck) na clarificação do caldo de cana para produção de açúcar e etanol**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veteriárias, Tese (doutorado), 135 p., Unesp: Jaboticabal, 2015.

COSTA, G. H. G. et al. Acrylamide replaced by moringa extract in sugar production. **Food Science and Technology**, v.38, n. 4, p. 591-599, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/fst.00417>>. Acesso em: 31 jul. 2022.

COSTA, G. H. G. et al. The effect of calcium concentration on the physiology of saccharomyces cerevisiae yeast in fermentation. **Sugar Tech**, v. 20, p. 371 – 374, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12355-018-0603-5>>. Acesso em: 18 jun. 2021.

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

CUDDIHY, J. A.; PORRO, M. E.; RAUH, J. S. The presence of total polysaccharides in sugar production and methods for reducing their negative effects. **Journal of American society of Sugarcane Technologists**, v. 21, p. 73-91, 2001. Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20033183410>>. Acesso em: 05 abr. 2023.

DAROUNEH, E.; PIRHOOSHYARAN, T.; SHALAGHEH, H. The lime and flocculant dose optimization in the clarification process of a sugar factory. **International Journal of New Chemistry**, v. 6, n. 3, p. 151-155, 2019. Disponível em: <http://www.ijnc.ir/article_35128.html>. Acesso em: 20 jun. 2021.

DAS, A. K. et al. Deep eutectic solvents as efficient solvent system for the extraction of κ -carrageenan from *Kappaphycus alvarezii*. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 930-935, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.114>>. Acesso em: 05 ago. 2022.

DAS, A. K. et al. Bio-ionic liquid promoted selective coagulation of κ -carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* extract. **Food Hydrocolloids**, v. 111, 106382, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106382>>. Acesso em: 19 maio. 2022.

DAS, N. et al. Wastewater treatment using plant-derived bioflocculants: green chemistry approach for safe environment. **Water Science & Technology**, v. 83, n. 8, p. 1797 – 1812, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.2166/wst.2021.100>>. Acesso em: 10 abr. 2022.

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

DIOLA, V.; SANTOS, F. **Fisiologia**. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e álcool: tecnologias e perspectivas. Viçosa: Editora UFV. p. 25-49, 2010.

DUU-JONG, L.; YIN-RU, C. Bioflocculants from isolated stains: A research update. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 87, p. 211 – 215, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.03.037>>. Acesso em: 10 abr. 2022.

EGGLESTON, G.; MONGE, A.; PEPPERMAN, A. Preheating and incubation of cane juice to

liming: a comparison of intermediate and cold lime clarification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n.3, p. 484-490, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jf010999p>>. Acesso em: 02 ago. 2022.

ESWARAN, K. et al. Integrated method for production of carrageenan and liquid fertilizer from fresh seaweeds. Patente: US006893479B2, 2005. Disponível em: <<https://patentimages.storage.googleapis.com/4a/0b/45/d8fb22b2b9852f/US6893479.pdf>>. Acesso em: 19 maio. 2022.

FÁVERO, L. P.; BELFIORE, P. **Manual de análise de dados** – Estatística e modelagem Multivariada com Excel®, SPSS® e STATA®. 1 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017. ISBN 978-85-352-7087-7.

FDA - Food and Drug Administration. **Polymer Substances and Polymer Adjuvants for Food Treatment Section § 173.10 - Modified polyacrylamide resin**. EUA: FDA, 2021. Disponível em: <<https://www.govinfo.gov/content/pkg/CFR-2021-title21-vol3/pdf/CFR-2021-title21-vol3-sec173-10.pdf>>. Acesso em: 31 jul. 2022.

FERMENTEC. **Método analítico**: Caldo de cana – Análise: Polissacarídeos Totais. Piracicaba: Fermentec, 2004.

FERNANDES, A.C. **Cálculos na agroindústria de cana-de-açúcar**. Piracicaba: EME/STAB, 2003.

FIRDAUS, M. et al. Carrageenan characteristics of Kappaphycus alvarezii from various harvest ages. **IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.**, 860, 2021. Disponível em: <<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/860/1/012067/meta>>. Acesso em: 20 maio. 2022.

FOLIN, O.; CIOCALTEU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **The**

journal of biological chemistry, v.73, n.2, p. 627-50, 1927.

FREITA, C. M. et al. Bioethanol production with different dosages of the commercial Acrylamide polymer compared to a Bioextract in clarifying sugarcane juice. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 89, n. 4, p. 3093-3102, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170473>>. Acesso em 20 dez 2022.

FU, X. T.; KIM, S. M. Agarase: review of major sources, categories, purification method, enzyme characteristics and applications. **Marine Drugs**, v.8, n. 1, p. 200–218, 2010. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1660-3397/8/1/200>>. Acesso em: 22 jul. 2021.

GANESAN, A. R.; SHANMUGAM, M.; BHAT, R. Producing novel edible films from semi refined carrageenan (SRC) and ulvan polysaccharides for potential food applications. **Biological Macromolecules**, v. 112, p. 1164 – 1170, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813017338047>>. Acesso em: 19 maio. 2022.

GERENIU, C. R. N. et al. Characteristics of functional materials recovered from Solomon Islands red seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) using pressurized hot water extraction. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, p. 1609 – 1621, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10811-017-1052-3>>. Acesso em: 20 maio. 2022.

GRIMALDO, S. A. Characteristics and performance of the cromption LLT clarifier. **Cromption**, 2019. Disponível em: <https://cromption.com/wp-content/uploads/2020/05/201911_LL_T_Clarifier_Whitepaper_Rev_0.pdf>. Acesso em: 08 maio 2023

HAMERSKI, F.; DE AQUINO, A. D.; NDIAYE, P. M. Clarificação do caldo de cana-de-açúcar por carbonatação. **Acta Scientiarum Technology**, v. 33, n. 3, p. 337 – 341, 2011. Disponível em: <<https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciTechnol/article/view/7914/7914>>. Acesso em:

19 jun. 2021.

HARTREE, E.F. Determination of protein: A modification of the Lowrey method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemistry**, v.48, n.2, 1972.

HASSIMI, A. H. et al. Bioflocculant production using palm oil mill and sago mill effluent as a fermentation feedstock: Characterization and mechanism of flocculation. **Journal of Environmental Management**, v. 260, 110046, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.110046>>. Acesso em: 10 abr. 2022.

HESSAMI, M. J. et al. Bioethanol production from agarophyte red seaweed, *Gelidium elegans*, using a novel sample preparation method for analysing bioethanol content by gas chromatography. **Biotech**, v. 9, n. 25, 2019. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-018-1549-8>>. Acesso em: 03 jun. 2021.

HOANG, N. V. et al. High-throughput profiling of the fiber and sugar composition of sugarcane biomass. **BioEnergy Research**, v. 10, p. 400 – 416, 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12155-016-9801-8>>. Acesso em: 10 jun. 2021.

HUGOT, E. **Manual da engenharia açucareira**. Tradução: MIOCQUE, I.; MORGANTI, H., v. 1, 593 p., Mestre Jou: São Paulo, 1969.

HONIG, P. **Princípios de tecnologia azucareira**. v.1. Companhia editorial, Continental: Mexico

JAOUADI, T. et al. Aloe sp. leaf gel and water glass for municipal wastewater sludge treatment and odour removal. **Water Science and Technology**, v. 81, n. 3, p. 479–490, 2020. Disponível em:<[10.2166/wst.2020.123](https://doi.org/10.2166/wst.2020.123)> em:

JAYKODY, M. M.; VANNIARACHCHY, M. P. G., WIJESEKARA, I. Seaweed derived alginate, agar, and carrageenan based edible coatings and films for the food industry: a review. **Journal of**

Food Measurement and Characterization, v. 16, p. 1195-1227, 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11694-021-01277-y>>. Acesso em: 01 ago. 2022.

JUNQUEIRA, T. L. et al. Techno-economic analysis and climate change impacts of sugarcane biorefineries considering different time horizons. **Biotechnology for Biofuels**, v. 10, n. 50, 2017. Disponível em: <<https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-017-0722-3#citeas>>. Acesso em: 14 jun. 2021.

JÖNSSON, M. et al. Extraction and Modification of Macroalgal Polysaccharides for Current and Next-Generation Applications. **Molecules**, v. 25, n. 4, 930, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/molecules25040930>>. Acesso em: 20 maio. 2022.

KARTHIKEYAN, K.; SHANMUGAM, M. The effect of potassium-rich biostimulant from seaweed *Kappaphycus alvarezii* on yield and quality of cane and cane juice of sugarcane var. Co 86032 under plantation and ratoon crops. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, p. 3245-3252, 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-017-1211-6>>. Acesso em: 22 jul. 2021.

LALUCE, C. et al. Chapter 3 – Fermentation of sugarcane juice and molasses for ethanol production. **Sugarcane-Based Biofuels and Bioproducts**, p. 55-85, 2016. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118719862.ch3#citedby-section>>. Acesso em: 22 jul. 2021.

LANDELL, M. G. et al. Potencialidade de novas variedades de cana-de-açúcar. In: **Tópicos em tecnologia sucroalcooleira**. p. 17 – 30, 2006.

DE LA ROSA, E. O. et al. Bioethanol production process rheology. **Industrial Crops and Products**, v. 106, p. 59-64, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669016308147>>. Acesso em: 22 jul. 2021.

LEE, S. S. et al. Rapid determination of yeast viability. **Biotechnology Bioengineering Symposium**, n. 11, 1981.

LEITE, I. R. **Avaliação e otimização do desempenho do extrato de tanino de Acácia Negra na clarificação de caldo e xarope de cana para fabricação de açúcar**. Tese (doutorado): Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. São José do Rio Preto: Unesp, 2019. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/181270>>. Acesso em: 01 ago. 2022.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. Edgard Blücher: São Paulo, Brasil, 2001; V. 3.; p. 1-43.

MACRI, R. C. V. et al. Moringa extracts used in sugarcane juice treatment and effects on ethanolic fermentation. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 42, p. 4124-4130, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.5897/AJB2014.14025>>. Acesso em: 05 abr. 2023.

MAGALHÃES, P. S. G. **Cana - Máquinas e implementos**. Embrapa: Brasília, 2022. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/producao/maquinas-e-implementos#:~:text=Colheita%20mecanizada.&text=Preparo%20do%20solo%3A%20utiliza-se,calcário%20e%20gesso%2C%20se%20necessário.>>>. Acesso em: 01 ago. 2022.

MAKUR, M. M.; DURAISAMY, R.; BIRHAU, T. Clarifying Capacity of Eco-Friendly Nano Cao and Okra(*Abelmoschus Esculentus*) Extract on the Processing of Sugarcane Juice: A Review. **International Research Journal of Science and Technology**, v.1, n.1, p. 21-30, 2019. Disponível em: <<https://irjst.com/wp-content/uploads/December2019-v1-i1/IRJST111904.pdf>>. Acesso em 31 jul. 2022.

MARTINY, T. R. et al. Extração e caracterização de carragenana obtida da alga vermelha *Gigartina skottsbergii*. **Revista da 14ª jornada da pós-graduação e pesquisa – Congrega**, 2017. ISSN:

2526-4397 1982-2960. Disponível em:
<<http://revista.urcamp.tche.br/index.php/rcjgpg/article/view/659>>. Acesso em: 03 jun. 2021.

MARQUES, M. O. et al. **Tecnologias na agroindústria canavieira**. Jaboticabal: Gráfica Multipress Ltda, 2008. 319 p.

MATSUOKA, S.; RUBIO, L. C. S. Chapter 3: Energy cane – a sound alternative of bioenergy crop for tropics and subtropics. **Sugarcane Biofuels**, v. 1, p. 39-66, 2019. Disponível em:
<https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-18597-8_3>. Acesso em: 14 jun. 2021.

MASSON, I. S. et al. Produção de bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, v. 45, n. 9, p. 1695-1700, 2015. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20130549>>. Acesso em: 10 jan. 2023.

MENDES, M. S. L.; OLIVEIRA, P. F.; MANSUR, C. R. E. Synthesis of polyacrylamide copolymers cross-linked by chitosan hydrogels with potential application for conformance control of petroleum reservoirs. **Iranian Polymer Journal**, v. 32, p. 433-446, 2023. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1007/s13726-022-01132-x>>. Acesso em: 01 abr. 2023.

MENDONÇA, J. F. **Comparação dos custos de produção e logísticos de etanol entre Brasil e Estados Unidos**. Volta Redonda, 2010.

MILLER, G. L. Use of de dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426 – 428, 1959. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1021/ac60147a030>> Acesso em: 22 jul. 2021.

MONTOLALU, R. I. et al. Effects of extraction parameters on gel properties of carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology**, v. 20, p. 525-526, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10811-007-9284-2>> Acesso em: 03 jun. 2021.

MI – Mordor Intelligence. Polyacrylamide market - growth, trends, covid-19 impact, and forecasts (2023 - 2028). **Mordor Intelligence**, 2023. Disponível em: <<https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/polyacrylamide-market>>. Acesso em: 01 abr. 2023.

MCHUGH, D. J. **Carrageenan**. A guide to the seaweed industry, FAO: Australia, 2003. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/y4765e/y4765e0a.htm>>. Acesso em: 01 ago. 2022.

MUNIZ, G.L. **Otimização do tratamento de efluente lácteo sintético com o uso de coagulantes alternativos**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa: Viçosa, 181p., 2018. Disponível em: <<http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/20891>>. Acesso em: 31 jul. 2022.

MUTTON, M. J. R. Reflexos da qualidade da matéria-prima sobre a fermentação etanólica. In: WORKSHOP SOBRE “PRODUÇÃO DE ETANOL: QUALIDADE DA MATÉRIA-PRIMA”. Lorena, 2008.

MUTTON, M. J. R. et al. The clarification of sugarcane juice and the use of CA-11 yeast produces better quality cachaça. **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 51, n. 4, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.5935/1806-6690.20200067>>. Acesso em: 03 ago. 2022.

NISIZAWA, K. **Chapter 4 - preparation and marketing of seaweeds as foods**. Production and Utilization of Products from Commercial Seaweeds, FAO: Japan, 1987. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/x5822e/x5822e06.htm#chapter%20%20%20preparation%20and%20marketing%20of%20seaweeds%20as%20foods>>. Acesso em: 01 ago. 2022.

NOGUEIRA, G. A. et al. **Tecnologias na Agroindústria Canavieira**: Capítulo 3 - Produção e viveiro de mudas de cana-de-açúcar. Jaboticabal: FCAV, 2008.

NGOC, N. H. T. et al. Study on the optimal conditions for fucoidan extraction from *Kappaphycus alvarezii*. **Can Tho University Journal of Science**, v. 11, n. 2, p. 22-30, 2019. Disponível em:

<<https://doi.org/10.22144/ctu.jen.2019.020>>. Acesso em: 10 jan. 2023.

OGBONNA, C. N.; NWOBA, E. G. Bio-based flocculants for sustainable harvesting of microalgae for biofuel production. A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 139, 110690, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110690>>. Acesso em: 10 abr. 2022.

OGANDO, F. I. B. et al. Removal of phenolic, turbidity and color in sugarcane juice by electrocoagulation as a sulfur-free process. **Food Research International**, v. 122, p. 643-652, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996919300390>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

O'HARA, I. M.; MUNDREE, S.G. **Sugarcane-Based Biofuels and Bioproducts**.

OLDONI, B. et al. Uso de tanino como alternativa aos coagulantes químicos no tratamento de efluente de laticínio. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v.10, n. 3, p. 100-116, 2022. Disponível em: <<https://www.revistabrasileirademeioambiente.com/index.php/RVBMA/article/view/1146>>. Acesso em: 01 ago. 2022.

OLIVEIRA, M. P.; PONTES, W.; GANDOLFI, M. V. C. Clarificação do caldo da cana-de-açúcar: relação entre a turbidez, pH e teor de impurezas minerais. **Revista Engenharia em Ação UniToledo**, v. 3, n. 2, p. 152 – 163, 2018. Disponível em: <<http://ojs.toledo.br/index.php/engenharias/article/view/2948>>. Acesso em: 20 jun. 2021.

OLIVERIO, J. L. et al. Juice extraction systems: mills and diffusers - the Brazilian experience. **International Sugar Journal**, v. 116, n. 1383, p. 190-202, 2014. Disponível em: <<http://www.agranet.com/portal2/isj/>>. Acesso em: 02 ago. 2022.

PAUL, N. A.; TSENG, C. K. **Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants** – Chapter 13:

Seaweed. 2.ed, Blackwell Publishing: 2012.

PEREIRA, L. **Extracção, caracterização e utilização das carragenanas**. Coimbra: UC, 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/341056733_EXTRACCAO_CHARACTERIZACAO_E_UTILIZACAO_DAS_CARRAGENANAS>. Acesso em: 22 jul. 2021.

PEREZ, R. et al. **La Culture Des Algues Marines dans le Monde**. Ifremer: 148 - 177, p. 227 – 266, 1992.

PUTRA, L. K.; KRISTINI, A.; JATI, W. W. Viral diseases of sugarcane in Indonesia: Occurrence notes, pathogenic characteristics and management strategies. **AIP Conference Proceedings**, 020038, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1063/5.0116089>>. Acesso em: 08 maio 2023.

PRIYADHARSINI, P.; DAWN, S. S. Optimization of fermentation conditions using response surface methodology (RSM) with kinetic studies for the production of bioethanol from rejects of *Kappaphycus alvarezii* and solid food waste. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13399-021-01819-w>>. Acesso em: 10 jan. 2023.

RASTOGI, R. P. et al. Algal Green Energy – R&D and technological perspectives for biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 2946 – 2969, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.10.038>>. Acesso em: 10 abr. 2022.

RAO, G. P. **Chapter 27 – Perspectives and Potentials of Organic Farming in Sugarcane Cultivation**

RAHIMALIMAMAGHANI, A. et al. New hydrophilic carbon molecular sieve membranes for bioethanol dehydration via pervaporation. **Chemical Engineering Journal**, v. 435, 134891, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.134891>>. Acesso em: 10 maio 2023.

REBAH, F. B. et al. Microbial Flocculants as an Alternative to Synthetic Polymers for Wastewater Treatment: A Review. **Symmetry**, v. 10, n. 11, 556, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/sym10110556>>. Acesso em: 10 abr. 2022.

REIN, P. **Ingenieria de la Cana de Azucar**. 1 ed, 883 p., Bartens: Berlin, 2012.

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

RODRIGUES, G. S. S. C.; ROSS, J. L. S. **A trajetória da cana-de-açúcar no Brasil: perspectivas geográfica, histórica e ambiental**. Uberlândia: Edufu, 2020. E-book. Disponível em: <http://www.edufu.ufu.br/sites/edufu.ufu.br/files/edufu_a_trajetoria_da_cana-de-acucar_no_brasil_2020_ficha_corrigida.pdf>. Acesso em: 02 jun. 2021.

RODRIGUES, R.; SPERANDIO, L. C.; ANDRADE, C. M. G. Investigation of color and turbidity in the clarification of sugarcane juice by ozone. **Journal of Food Process Engineering**, v. 41, n. 3, 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfpe.12661>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

ROSSETTO, R. Corte. Ageitec, 2000. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-deacucar/arvore/CONTAG01_98_22122006154841.html>. Acesso em: 01 ago. 2022.

SCIESZKA, S.; KLEWICKA, E. Algae in food: a general review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 21, p. 3538-3547, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1496319>>. Acesso em: 01 ago. 2022.

SEGATO, S. V. et al. Aspectos fenológicos da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. Atualização em produção de cana-de-açúcar. Piracicaba: CP 2, p. 19-36, 2006.

SEGHOSIME, A. et al.. Comparative studies on proximate composition and phytochemical screening of mango, key lime, African star apple and African pear seeds as possible coagulant aids for water treatment. **American Journal of Environmental Sciences**, v. 13, n. 4, p. 325–333, 2017. Disponível em: <>. Acesso em: 10 br, 3o32

SHAHADAT, M. et al. Bacterial biofloculants: A review of recent advances and perspectives. **Chemical Engineering Journal**, v. 328, p. 1139 – 1152, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.07.105>>. Acesso em: 10 abr. 2022.

SILVA, L.F.L.F.; BERNARDINO, C.D.; RÉ, F.R.; FURTADO, C.H.F.; AMORIM, H.V. **Métodos analíticos para o controle da produção de açúcar e etanol**. 3ª ed. Fermentec: Piracicaba, 2003.

DA SILVA, R. B. et al. Comparação entre o desempenho do extrato de tanino de acácia negra e o da quitosana como auxiliar de clarificação de caldo de cana. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 24373-24380, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.34117/bjdv5n11-124>>. Acesso em: 31 jul. 2022.

SINGH, A.; NIGAM, P.S.; MURPHY, J.D. Renewable fuels from algae: an answer to debatable land-based fuels. *Bioresource Technology*, v.102, n.1, p.10–16, 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852410010138>>. Acesso em: 22 jul. 2021.

SRARFI, F. et al. Emerging plant-based flocculation treatment of phosphate clay: case study from Metlaoui-Gafsa (southwest Tunisia). **Water Science and Technology**, v.17, n. 3, p. 743–751, 2018. Disponível em: <10.2166/wst.2018.241>. Acesso em: 10 abr. 2022.

SRI – Sugar Research Institute. **SRI Short Retention Juice Clarifiers**, Australia: SRI, 2017. Disponível em: < <https://www.sri.org.au/short-retention-juice-clarifiers/>>. Acesso em: 10 jan. 2023.

SUNWOO, I.Y., RA, C.H., JEONG, GT. et al. Evaluation of ethanol production and bioadsorption of heavy metals by various red seaweeds. **Bioprocess Biosyst Eng**, v. 39, p. 915–923, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00449-016-1571-3>>. Acesso em: 14 maio. 2021.

TEIXEIRA, V. et al. Moringa seed extract with a potential similar flocculant activity to a synthetic polymer during sugarcane clarification. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13399-021-01694-5>>. Acesso em: 26 jun. 2022.

THANGAMUTHU, P.; KHANDAGAVE, R. B. A vegetable clarifying agent for cane juice clarification. **Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.**, v. 27, 2010. Disponível em: <<https://www.atamexico.com.mx/wp-content/uploads/2017/11/PROCESSING-POSTERS-8-Chabdramuthu.pdf>>. Acesso em 31 jul. 2022

THIELMANN, E.; CAVALCANTE, R. M.; YOUNG, A. F. Simulation and economic evaluation of different process alternatives for the fermentation and distillation steps of ethanol production. **Energy Conversion and Management**, v. 265, 115792, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2022.115792>>. Acesso em: 10 maio 2023.

TROLLER, J. A. **Sanitation in food storage and facilities**. In Sanitation in Food Processing, p. 353–375. Academic Press Inc. Publishing: San Diego (California), 2012.

TORO, S. J. H. et al. Acrylamide in sugar products. **Current Opinion in Food Science**, v. 45, 100841, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100841>>. Acesso em: 20 jul. 2022

VANDENBERGHE, L. P. S. et al. Beyond sugar and ethanol: The future of sugarcane biorefineries in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 167, 112721, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112721>>. Acesso em: 10 maio 2023.

VENIL, C. K. et al. Marine Algal Colorants for the Food Industry. **Sustainable Global Resources of Seaweeds**, v.2, p. 163-179, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-92174-3_8>. Acesso em: 01 ago. 2022

VENTURINI FILHO, W.G. et al. Simple method to quantify the aerobic and anaerobic metabolism of alcoholic yeast. **Food Processing Center Bulletin**, v. 31, n 2., p. 227-236, 2013 Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20143081811>> Acesso em: 22 jul. 2021.

VERMA, P. et al. Why jaggery powder is more stable than solid jaggery blocks. *Food Science and Technology*, v. 110, p. 299–306, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.093>>. Acesso em: 20 jul. 2022.

VILELA, J. M. C. L.; D'AVILA, F. M.; MENATO, M. D. D. **Tecnologias na Agroindústria Canavieira**: Capítulo 19 – Inovações na purificação do caldo. Jaboticabal: FCAV, 2008.

VU, T.; LEBLANC, J.; CHOU, C. C. Clarification of sugarcane juice by ultrafiltration membrane: toward the direct production of refined cane sugar. **Journal of Food Engineering**, v. 264, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877419303140>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

WEBBER, V. et al. Optimization of extraction of carrageenan from *Kappaphycus alvarazii* using response surface methodology. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 4, p. 812 – 818, 2012. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cta/a/mMgpQ7VV7f3pq8N9hbdZV7B/?lang=en>>. Acesso em: 03 jun. 2021.

XIAO, Z.; LIAO, X.; GUO, S. Analysis of sugarcane juice quality indexes. **Journal of Food Quality**, 6 p., 2017. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/1746982>. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jfq/2017/1746982/>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

XIONG, B. et al. Polyacrylamide degradation and its implications in environmental systems. **NPJ**

Clean Water, v. 1, n. 17, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41545-018-0016-8>>. Acesso em: 20 mar. 2023.

XU, S. et al. Molecular characterization of carbendazim resistance of Fusarium species complex that causes sugarcane pokkah boeng disease. **BMC Genomics**, v. 20, n. 115, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12864-019-5479-6>>. Acesso em: 08 maio 2023.

YANG, X. et al. Ethanol fermentation characteristics of recycled water by *Saccharomyces cerevisiae* in an integrated ethanol-methane fermentation process. **Bioresource Technology**, v. 220, p. 609-614, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.040>>. Acesso em: 20 mar. 2023.

YOUSSEF, L. et al. Ultrasound-assisted extraction and structural characterization by NMR of alginates and carrageenans from seaweeds. **Carbohydrate Polymers**, v. 166, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.041>>. Acesso em: 20 maio. 2022.

ZHUANG, X. et al. The production of biofloculants by *Bacillus licheniformis* using molasses and its application in the sugarcane industry. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 17, p. 1041 – 1047, 2012. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12257-012-0213-0>>. Acesso em: 20 jun. 2021.

APÊNDICES

Apêndice 1

Tabela 2: Ensaios para avaliação das interações entre os fatores de Tempo de secagem (h), Granulometria (mesh), Concentração (g.L⁻¹), pH, Temperatura (°C) e Tempo de agitação (min) na extração de polissacarídeos das amostras de alga vermelha (*Kappaphycus alvarezii*).

Ensaio	Tempo de secagem (h)	Granulometria (mesh)	Concentração (g.L ⁻¹)	pH	Temperatura (°C)	Tempo de agitação (min)
1	24,0 (+1)	35,0 (+1)	3,0 (-1)	9,0 (+1)	70,0 (-1)	25,0 (+1)
2	18,0 (0)	20,0 (0)	6,0 (+α)	8,0 (0)	80,0 (0)	20,0 (0)
3	18,0 (0)	20,0 (0)	4,0 (0)	8,0 (0)	80,0 (0)	30,0 (+α)
4	18,0 (0)	50,0 (+α)	4,0 (0)	8,0 (0)	80,0 (0)	20,0 (0)
5	12,0 (-1)	5,0 (-1)	3,0 (-1)	9,0 (+1)	90,0 (+1)	15,0 (-1)
6	18,0 (0)	20,0 (0)	4,0 (0)	10,0 (+α)	80,0 (0)	20,0 (0)
7	24,0 (+1)	5,0 (-1)	3,0 (-1)	9,0 (+1)	70,0 (-1)	15,0 (-1)
8	24,0 (+1)	5,0 (-1)	5,0 (+1)	7,0 (-1)	90,0 (+1)	25,0 (+1)
9	24,0 (+1)	35,0 (+1)	5,0 (+1)	9,0 (+1)	70,0 (-1)	15,0 (-1)
10	18,0 (0)	20,0 (0)	4,0 (0)	6,0 (-α)	80,0 (0)	20,0 (0)
11	12,0 (-1)	35,0 (+1)	3,0 (-1)	9,0 (+1)	90,0 (+1)	25,0 (+1)
12	24,0 (+1)	5,0 (-1)	5,0 (+1)	9,0 (+1)	70,0 (-1)	25,0 (+1)
13	18,0 (0)	20,0 (0)	4,0 (0)	8,0 (0)	80,0 (0)	20,0 (0)
14	18,0 (0)	20,0 (0)	4,0 (0)	8,0 (0)	100,0 (+α)	20,0 (0)
15	18,0 (0)	20,0 (0)	2,0 (-α)	8,0 (0)	80,0 (0)	20,0 (0)
16	24,0 (+1)	35,0 (+1)	3,0 (-1)	7,0 (-1)	90,0 (+1)	25,0 (+1)
17	24,0 (+1)	5,0 (-1)	3,0 (-1)	7,0 (-1)	90,0 (+1)	15,0 (-1)
18	12,0 (-1)	5,0 (-1)	5,0 (+1)	9,0 (+1)	90,0 (+1)	25,0 (+1)
19	12,0 (-1)	35,0 (+1)	5,0 (+1)	7,0 (-1)	70,0 (-1)	15,0 (-1)
20	12,0 (-1)	35,0 (+1)	3,0 (-1)	7,0(-1)	70,0 (-1)	25,0 (+1)
21	18,0 (0)	20,0 (0)	4,0 (0)	8,0 (0)	60,0 (-α)	20,0 (0)
22	18,0 (0)	20,0 (0)	4,0 (0)	8,0 (0)	80,0 (0)	20,0 (0)
23	24,0 (+1)	35,0 (+1)	5,0 (+1)	7,0 (-1)	90,0 (+1)	15,0 (-1)
24	12,0 (-1)	5,0 (-1)	5,0 (+1)	7,0 (-1)	70,0 (-1)	25,0 (+1)
25	18,0 (0)	20,0 (0)	4,0 (0)	8,0 (0)	80,0 (0)	10,0 (-α)
26	30,0 (+α)	20,0 (0)	4,0 (0)	8,0 (0)	80,0 (0)	20,0 (0)
27	6,0 (-α)	20,0 (0)	4,0 (0)	8,0 (0)	80,0 (0)	20,0 (0)
28	18,0 (0)	0,2 (-α)	4,0 (0)	8,0 (0)	80,0 (0)	20,0 (0)
29	12,0 (-1)	5,0 (-1)	3,0 (-1)	7,0 (-1)	70,0 (-1)	15,0 (-1)
30	12,0 (-1)	35,0 (+1)	5,0 (+1)	9,0 (+1)	90,0 (+1)	15,0 (-1)

Apêndice 2

Tabela 3: Resultados obtidos para a variável resposta (extração de polissacarídeos) para cada ensaio de preparos dos extratos de alga vermelha (*Kappaphycus alvarezii*).

Ensaio	Polissacarídeos (g.L ⁻¹)
1	0,14
2	0,15
3	0,12
4	0,13
5	0,11
6	0,12
7	0,15
8	0,13
9	0,11
10	0,15
11	0,11
12	0,18
13	0,10
14	0,10
15	0,15
16	0,08
17	0,14
18	0,13
19	0,12
20	0,13
21	0,09
22	0,18
23	0,13
24	0,13
25	0,14
26	0,14
27	0,14
28	0,15
29	0,13
30	0,12