

EFEITO DE TRATAMENTOS HIDROLÍTICOS SOBRE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

MARCOS OMIR MARQUES

Orientador: JORGE HORII

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Tecnologia de Alimentos.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Fevereiro - 1986

Aos meus pais,

Ruth e Alcides,

OFEREÇO

À *Rose*, minha esposa,

Márcia e Tadeu, meus irmãos,

com carinho,

DEDICO

A G R A D E C I M E N T O S

Ao PROF. DR. JORGE HORII, pela orientação e apoio.

À ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ",
por tudo.

À FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL - UNESP, pela oportunidade desse aperfeiçoamento.

À PFIZER S.A., que gentilmente cedeu as enzimas empregadas neste trabalho.

À CAPES, pela Bolsa de Estudos concedida.

Aos PROFS. DRS. DÉCIO BARBIN e EUCLIDES BRAGA MALHEIROS, pela orientação nas análises estatísticas.

Aos docentes e funcionários do DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA da FCAVJ/UNESP, pelas manifestações de apoio.

Às colegas VIVIANE, ÉRIKA, REGINA, KÁTIA e ELIANE, pela colaboração e amizade.

Ao saudoso amigo GABRIEL ("BIÉ") e demais amigos do DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA RURAL da ESALQ/USP, pela amizade.

Aos amigos JORGÉ e WAGNER pelo apoio nos momentos mais difíceis.

À LUIZA MARIA VILLANOVA, pelos serviços de datilografia e dedicação.

À Sra. EISA APARECIDA A. CESAR GARCIA, pelas orientações nas referências bibliográficas.

À Profa. ELIANA e Prof. MANUEL VICTOR FRANCO LEMOS, pela elaboração do "Summary".

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para este trabalho.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	xiv
SUMMARY	xvi
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1. Composição do Melaço.....	03
2.2. Hidrólise ácida	13
2.3. Hidrólise Enzimica.....	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1. Levedura.....	30
3.2. Enzimas	30
3.3. Preparo do Mosto Hidrolisado com Ácidos Mine- rais	31
3.3.1. Tratamento testemunha	31
3.3.2. Tratamento com ácido sulfúrico.....	32

	Página
3.3.3. Tratamento com ácido clorídrico.....	32
3.3.4. Tratamento com ácido sulfúrico e aqueci mento por uma hora.....	33
3.3.5. Tratamento com ácido clorídrico e aque- cimento por uma hora.....	33
3.3.6. Tratamento testemunha com meio semi-sin tético.....	34
3.4. Preparo do Mosto Hidrolisado Enzimicamente....	35
3.4.1. Adição simples de alfa-amilase.....	35
3.4.2. Adição simples de amiloglicosidase.....	35
3.4.3. Adição simples de alfa amilase e amilo glicosidase.....	35
3.4.4. Tratamento testemunha absoluta.....	36
3.4.5. Tratamento sob condições controladas I..	36
3.4.6. Tratamento com alfa-amilase e amilogli cosidase sob condições controladas I... 3.4.7.	37
Tratamento com alfa amilase sob condi- ções controladas II.....	37
3.4.8. Tratamento com alfa-amilase sob condi- ções controladas III.....	38
3.4.9. Tratamento com amiloglicosidase sob con dições controladas IV.....	39
3.5. Fermentação.....	39
3.6. Métodos Analíticos.....	40

3.7. Cálculo da Eficiência Fermentativa e de Conversão	41
3.8. Análise Estatística.....	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1. Hidrólise ácida	43
4.2. Hidrólise Enzimica.....	56
5. CONCLUSÕES.....	95
6. LITERATURA CITADA.....	97

LISTA DE TABELAS

TABELAS	Página
1. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão.....	44
2. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão hidrolizado com ácido sulfúrico	45
3. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão hidrolizado com ácido clorídrico	46

TABELAS

Página

4. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão hidrolizado com ácido sulfúrico e aquecimento em refluxo por uma hora.....	47
5. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão com ácido clorídrico e aquecimento em refluxo por uma hora.....	48
6. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em meio semi-sintético - YPD.....	49
7. Médias comparativas dos parâmetros: Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão, Relação RR/AT (%) e FND (%).....	51
8. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão hidrolizado enzimicamente com alfa-amilase.....	58

TABELAS

Página

9.	Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melaço hidrolizado enzimicamente com amiloglicosidase.....	59
10.	Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melaço hidrolizado enzimicamente com alfa-amilase e amiloglicosidase.	60
11.	Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melaço.....	61
12.	Médias comparativas dos parâmetros: Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão, Relação RR/AT (%) e FND (%).....	62
13.	Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melaço com pH corrigido a 5,0.....	66

TABELAS

Página

14.	Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melãoço	67
15.	Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melãoço submetido à correção de pH a 6,8 e aquecimento por 70°C por 30 minutos; redução de pH a 5,0 e aquecimento a 50°C por 30 minutos (Condições Controladas II).....	68
16.	Médias comparativas dos parâmetros Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão, RR/AT (%) e FND (%).....	69
17.	Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melãoço com pH corrigido a 5,0.....	72
18.	Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melãoço.....	73

TABELAS

Página

19.	Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão submetidos às condições controladas I com adições de alfa-amilase e amiloglicosidase.....	74
20.	Médias comparativas dos parâmetros: Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão RR/ AT (%) e FND (%).....	75
21.	Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão com pH corrigido a 5,0	78
22.	Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão.....	79
23.	Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão submetido à correção de pH a 6,8 com solução de NaOH 1 N, aquecimento a 70°C por 30 minutos com alfa-amilase (sob condições controladas II).....	80

TABELAS	Página
24. Médias comparativas dos parâmetros de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, RR/AT (%) e FND (%).....	81
25. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão com pH corrigido a 5,0.....	84
26. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão.....	85
27. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão submetido a correção do pH a 6,8 com solução de NH_4OH 10%; aquecimento a 70°C por 30 minutos com alfa-amilase (Condições Controladas III)....	86
28. Médias comparativas dos parâmetros Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, RR/AT (%) e FND (%)..	87

TABELAS

Página

29. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melaço com pH corrigido a 5,0.....	89
30. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melaço... ..	90
31. Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melaço submetido à correção do pH a 5,0; aquecimento a 50°C por 30 minutos com amiloglucosidase (Condições Controladas IV).....	91
32. Médias comparativas dos parâmetros Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão, RR/AT (%) e FND (%).....	92

RESUMO

EFEITO DE TRATAMENTOS HIDROLÍTICOS SOBRE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Marcos Omir Marques

Orientador Jorge Horii

Visando a hidrólise dos polissacarídeos presentes em mosto de caldo e melaço, para possível incremento da disponibilidade de Açúcares Assimiláveis, aplicou-se a mostos de melaço tratamentos hidrolíticos químicos com ácido sulfúrico e ácido clorídrico, além de tratamentos enzimicos empregando as enzimas alfa-amilase e amiloglicosidase.

A avaliação dos efeitos dos tratamentos sobre a fermentação foi realizada através dos parâmetros: Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa e Eficiência de Conversão.

Concluiu-se que as hidrólises realizadas com ácidos minerais não produziram quaisquer alterações nos teores de Substâncias Redutoras Residuais, na Eficiência Fermentativa e na Conversão. O emprego de ácidos minerais seguidos de aquecimento em refluxo por 1 hora proporcionou queda da Eficiência Fermentativa e de Conversão e aumentos nos teores de Substâncias Redutoras Residuais de 21 e 52,2%, para o

ácido sulfúrico e clorídrico, respectivamente.

As hidrólises enzimicas com amiloglicosidase apresentaram certa vantagem sobre as hidrólises com alfa-amilase.

No que se refere à aplicação de condições controladas de pH e temperatura para posterior emprego das citadas enzimas, verificou-se a necessidade de um estudo de custo rigoroso, para sua possível indicação.

SUMMARY

HIDROLITIC TREATMENTS EFFECTS ON ALCOHOLIC FERMENTATION

Autor: Marcos Omir Marques

Orientador : Dr.Jorge Horii

With the purpose to get polissacarides hidrolisis of those present in must of juice and molasse for possible increase of fermentable sugars it was applied to must of molasse chemical hidrolitic treatments including sulphuric and hydrochloric acids besides of enzymatic treatments using the enzymes α -amilase and amiloglycosidase.

The evaluation of the treatment effects of fermentation was conducted through the following parameters: Weigh of residual reductant substances, fermentative efficiency and conversion efficiency.

It was then concluded that the hidrolisis carried out using the mineral acids has not produced any alteration in the levels of residual reductant substances as well as in the fermentative efficiency and conversion efficiency. Application of the mineral acids followed by heating with reflux during 1 hr has resulted in decrease of the fermentative and conversion efficiencies but increased the levels of residual reductant substances from 21 to 52,2% either with sulphuric or hydrochloric acids.

The enzymatic hidrolisis using amiloglycosidase presented a certain advantage over the hidrolisis using α -amilase.

Considering the use of controled conditions of temperature and pH for the above cited enzymes it is necessary a highly criterions study of expenses for its final indication.

1. INTRODUÇÃO

A composição do caldo e do melaço é muito variável, porém seus principais componentes para a fabricação do álcool são a sacarose, a glicose e a frutose, os quais são assimilados pelas leveduras alcoólicas através de uma sequência de reações que conduzem ao etanol, o qual é o principal dentre os produtos finais.

Surgem ainda, no caldo ou no melaço, como constituintes naturais ou produtos de biodegradação, os polissacarídeos, constituídos de polímeros de glicose ou frutose, cujas moléculas são unidas por ligações (1-2), (1-3), (1-4) e (1-6) que podem se apresentar como cadeias lineares ou ramificadas.

A ocorrência desses polissacarídeos pode se dar em consequência tanto da ação de enzimas da própria cana, quanto de enzimas das muitas espécies de bactérias que se desenvolvem como contaminantes na matéria prima ou no processo de fabricação.

Assim, tais polissacarídeos podem se constituir em material de reserva cuja hidrólise para posterior metabolização, ocorre enzimicamente em função de ser um processo biológico no

complexo planta-microrganismo. Contudo deve-se ressaltar a possibilidade de emprego de processo químico para a referida hidrólise.

Os polissacarídeos estão presentes nos caldos e melancos em concentrações relativamente baixas, entretanto, sua hidrólise poderia contribuir para incrementar a disponibilidade de açúcares assimiláveis às leveduras, na produção de álcool.

Pouco ainda é conhecido sobre a utilização de enzimas e sua atividade sobre os polissacarídeos da cana ou do melado. De tal forma que, os tratamentos hidrolíticos são usuais apenas na obtenção de mostos de matérias primas amiláceas e celulósicas, onde aparecem em concentrações relativamente altas, e de modo geral são bem conhecidos.

Tratamentos hidrolíticos químicos ou enzimáticos e sua influência sobre o processo fermentativo não são muito estudados, principalmente em nosso meio.

Assim, o presente trabalho teve o objetivo de estudar a influência dos tratamentos hidrolíticos com ácidos minerais e enzimas sobre o teor de Substâncias Redutoras Residuais da fermentação e a produção de álcool medida pelas Eficiências de Fermentação e de Conversão.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Composição do Melaço

A composição do melaço consiste predominantemente de sacarose e açúcar invertido, OLBRICH (1960). Porém, esse mesmo autor menciona a existência de compostos dextrínicos cuja composição não era suficientemente conhecida na época.

Para NOVAES (1961) existem também no melaço di e trissacarídeos que, por tratamentos especiais, facilmente se decompõem nos seus monossacarídeos constituintes.

De acordo com MAUCH & FARHOUDI (1980) as gomas são carboidratos de alto peso molecular, representadas pelo dextrano, levano, dextrinas, pentosanas e hemiceluloses.

Parte dessas gomas são constituintes da própria matéria prima. Outras se formam em alguns setores da fabricação do açúcar, como consequência de algumas operações inerentes aos processos.

Vários tipos de gomas ou polissacarídeos podem

ocorrer na cana, entre as quais LOPEZ & CREMATA (1980) enumeram: hemiceluloses (de baixo peso molecular), arabinogalactanas (de alto peso molecular), levanas, mananas, sarcaranas, poliglucanas (de baixo peso molecular, com altas proporções de ligações alfa, 1-4), amido e dextrana, além de outras. Outras caracterizações também são encontradas, por exemplo, KENIRY *et alii* (1967) dividem os polissacarídeos da cana em apenas três frações: dextrana, amido e outros polissacarídeos.

Com relação ao teor de amido, o que pode-se observar, pela literatura, é que existe uma grande variação quanto à concentração.

De acordo com SPENCER & MEADE (1963) os teores de amido em caldos extraídos variam de 0,016 a 0,046%. Assim, BENNETT & SCHIMIDT (1953) citam teores de 46 mg/100 ml de caldo.

CESAR *et alii* (1978) estudando o efeito da aplicação de vinhaça ao solo, sobre o nível de amido, em quatro variedades de cana, encontraram como valor médio 30,55 mg/100 ml de caldo.

Os teores de amido são variáveis nos diferentes estágios de desenvolvimento da cana. Kerby, citado por CESAR *et alii* (1974), afirma que com a maturação ocorre aumento nos teores de amido e, por outro lado, o florescimento promove decréscimo.

GUPTA & SHUKLA (1970) estudando os efeitos da adubação potássica sobre a composição química do caldo obser-

varam um decréscimo na fração orgânica (amido, gomas, etc) quando do aumento da mesma.

Martin, citado por CESAR & MAZZARI (1972) afirma que o amido torna-se gel pelo aquecimento, na clarificação do caldo. Em função disso, torna-se impossível a sua eliminação do processo, fazendo com que o mesmo sofra uma concentração até a obtenção do melaço. A ocorrência no melaço se reforça quando esse mesmo autor comenta que em açúcar bruto da Louisiana foi encontrado de 0,012% a 0,018% de amido.

Para ROBERTS & FRILLOUX (1965) os polissacarídeos da cana se dividem em dois grupos, os quais diferem entre si apenas quanto ao peso molecular, ou seja, os polissacarídeos de alto peso molecular e os de baixo peso molecular.

OLBRICH (1960), EGAN (1971) e LIMA *et alii* (1974) são unânimes em atribuir a formação dessas gomas a microrganismos.

FORSYTH & WEBLEY (1950), LEONARD & RICHARDS (1969), TILBURY (1971), LOPEZ & CREMATA (1980), BOSE & SINGH (1981 a-b) e ROBERTS (1981) são concordantes na sua totalidade ao citarem a dextrana como sendo produzida por via microbiológica.

A bactéria da espécie *Leuconostoc mesenteroides*, de acordo com a maioria dos autores, é o principal agente produtor de dextrana em presença de sacarose. BOSE & SINGH (1981b) acrescentam a bactéria *Aerobacter xylinum* produzindo dextranas a partir de dextrinas e amido.

Por outro lado, MAUCH & FARHOUDI (1980) afirmam

que a dextrana pode se formar na cana, após colheita, mesmo na ausência de infecção, através da ação de enzimas. BRUIJN (1966b) estudando as estruturas dos polissacarídeos da cana e dextrana pura encontrou diferenças relacionadas com o tipo de ligação existente.

LI SUI FONG & MBAGA (1982) consideram que a cana pode sofrer deterioração por duas vias: (1) autólise causada pela atividade de enzimas naturais da própria cana; (2) biodegradação, como consequência da atividade de microrganismos.

Para THE AUSTRALIAN SUGAR JOURNAL (1969) os polissacarídeos são insolúveis em água ou álcool metílico, mas solúveis em alcalis. ARAÚJO *et alii* (1961) por sua vez, afirmam que a determinação de gomas nos méis finais é realizada aproveitando-se da propriedade que elas têm de serem precipitáveis por etanol 95^o-96^o GL. O precipitado, além de conter pectinas, hemiceluloses, dextrinas e substâncias nitrogenadas, podem eventualmente conter polissacarídeos resultantes da ação de microrganismos. Os teores de gomas encontrados por esses autores variaram de 1,36% a 2,58%, sendo esses, na maior parte, inferiores ao limite máximo dos melãos de Cuba, Java e Louisiana.

ROBERTS & GODSHALL (1978) estudando as diferentes frações que constituem os polissacarídeos na cana, obtiveram teores de ácido glicurônico entre 3 e 8,5% dos polissacarídeos presentes. Ainda, os autores salientam que o referido ácido tem sido encontrado na hemicelulose do bagaço de cana.

Curiosa foi a ausência do ácido galacturônico, indicando a não ocorrência de pectinas nesses polissacarídeos. Também, LOPEZ & CREMATA (1980) afirmam que, não tem sido demonstrada a presença de pectina nas frações que constituem os polissacarídeos do caldo de cana até então.

Outros polissacarídeos, conforme FORSYTH & WBLEY (1950) também podem ser sintetizados por via microbiológica. A levana, por exemplo, pode ser sintetizada pelas bactérias *Bacillus megatherium* e *Bacillus polymyxa*, sendo que esta última sintetiza outro polissacarídeo composto de glicose, manose e unidades de ácido urônico. IRVINE (1981) e BOSE & SINGH (1981b) afirmam ser a levana um polímero de frutose produzido pelas bactérias *Aerobacter levanicum*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus cereus*. *Rhizobium radicicolum* sintetiza um polissacarídeo contendo glicose e pequena quantidade de ácido urônico, a partir de açúcares. *Bacillus circulans* sintetiza um polímero de glicose, manose e ácido urônico, a partir de sacarose ou monossacarídeos.

CLARKE *et alii* (1980) são categóricos em afirmar que a principal causa microbiológica de perdas de sacarose nas usinas é a formação de dextrana, principalmente por *Leuconostoc mesenteroides* e, até certo ponto, por *Leuconostoc dextranicum*.

Já para LI SUI FONG & MBAGA (1982) a dextrana pode ser sintetizada também pelas espécies *Leuconostoc casei* e *Leuconostoc confusus*. McCALIP & HALL (1938) citam as espécies

Leuconostoc dextranicum e *Leuconostoc citrovorum*.

A enzima responsável por tal produção é denominada de "dextransucrase" (CLARKE *et alii*, 1980 e BOSE & SINGH, 1981b), produzida extracelularmente por bactérias denominadas "láticas", as quais têm como principal consequência da sua atividade na produção do açúcar, a biodeterioração. Como resultado do seu crescimento pode haver diminuição de açúcar e produção de polissacarídeos, principalmente dextrana, além de outros compostos em quantidades variáveis.

A formação desses polissacarídeos promove um decréscimo no teor dos açúcares da cana com consequente redução na recuperação dos mesmos, além de dificuldades nas etapas de clarificação, evaporação e cristalização, promovendo a formação de cristais alongados, também denominados de "Cristais Agulha", além do aumento da viscosidade dos méis. Ao mesmo tempo, devido ao seu poder dextro-rotatório, esses polissacarídeos (dextrana), promovem acréscimo nas polarizações, expressando falsos teores de açúcares, superiores à realidade (OLBRICH, 1960; Geerligis & Browne, citados por STUPIELLO, 1966 e 1970; EGAN, 1971; AYALA *et alii*, 1978; GUZMAN, 1978; CLARKE *et alii*, 1980).

Além das frações já citadas, outros polissacarídeos podem ocorrer. BRUIJN (1970) cita o polissacarídeo denominado de Pululana, produzido pelo fungo da espécie *Aureobasidium pullulans*.

Outro polissacarídeo, denominado de sarcarana,

segundo BOSE & SINGH (1981b) forma-se em colmo de cana cortada e não industrializada de imediato.

TILBURY (1971) cita que a sacarana forma-se em ausência de infecção microbiana, o que está em concordância com as afirmações de IRVINE (1981), onde o autor acredita ser o referido polissacarídeo consequência mais da ação enzimica da própria cana do que microbiana. Para LOPEZ & CREMATA (1980) este polissacarídeo é de baixo peso molecular (10.000 a 35.000).

Também, deve ser feita referência à "Kestose", que segundo MATIC (1981) é um trissacarídeo existente na cana, o qual é conhecido como modificador do hábito do cristal de sacarose.

Do ponto de vista fermentativo, os polissacarídeos devem ser encarados levando-se em consideração: a capacidade de fermentação e a assimilação por parte das leveduras alcoólicas.

De acordo com Lodder, citado por KREGER-VANRIJ (1974), no que se refere às características acima mencionadas, as leveduras alcoólicas não fermentam nem assimilam amido solúvel.

Entretanto, HORII (1980) afirma que a parede celular da levedura apresenta poros de pequenas dimensões, funcionando como filtros, por onde passam apenas substâncias de peso molecular inferior a 4500. Assim, substâncias de alto peso molecular, como polissacarídeos (dextrana, amido e outros) e proteínas, não são absorvidos pelas leveduras.

Conforme GERONIMOS & GREENFIELD (1978) a dextra na se constitui de unidades de glucanas, unidas por ligações alfa (1-6). Para BOSE & SINGH (1981a) a dextrana apresenta uma cadeia altamente ramificada, onde predominam ligações glicosídicas do tipo alfa (1-6).

Contudo, sua origem é de grande importância, pois BOURNE *et alii* (1962) estudando a composição de dextranas produzidas por *Streptococcus bovis* encontraram serem estas constituídas totalmente por ligações do tipo alfa (1-6).

MATIC (1981) por sua vez, afirma que as dextranas produzidas por *Leuconostoc mesenteroides* apresenta 90% das ligações do tipo (1-6) e poucas ramificações.

De acordo com SPENCER & MEADE (1963) na estrutura dos polissacarídeos da cana estão presentes pelo menos cinco diferentes açúcares: glicose, galactose, arabinose, xilose e rhamnose.

De outra forma, BRUIJN (1970) afirma que os polissacarídeos formados durante a deterioração da cana apresentam 25% de ligações (1-6) e 75% de ligações (1-4), sendo ambas glicosídicas do tipo alfa. Também, cerca de 49% dos mesmos se constituem de maltotriose e 38% de maltotetrose. Ainda, na faixa dos 13%, ocorrem outros polímeros contendo ligações alfa (1-4), que em parte é concordante com LEONARD & RICHARDS (1969) que reconhecem na dextrana um polímero de glicose onde estão presentes ligações glicosídicas do tipo alfa (1-4) e alfa (1-6).

TILBURY (1971) baseado nos resultados obtidos pela utilização de enzimas na hidrólise da dextrana, concluiu ser alta a proporção de ligações alfa (1-4).

BRUIJN (1966b) baseado nos resultados obtidos quando da utilização de metodologia que emprega a oxidação pelo periodato e cromatografia líquida-gasosa, concluiu que a cadeia principal da dextrana é unida na posição (1-6). Entretanto, o polissacarídeo isolado de cana de açúcar deteriorada mostrou ser de peso molecular relativamente baixo, apresentando ligações alfa (1-4) na proporção de 75% e ligações alfa (1-6) na proporção de 25%.

BAILEY *et alii* (1961) estudando a hidrólise enzimica da dextrana salientou a presença de ligações glicosídicas alfa (1-3) e alfa (1-6).

No que se refere a proporção de ligações alfa (1-3), BOURNE *et alii* (1963) afirmam que estas ocorrem na faixa de 12% a 15% do total das ligações existentes. Já BAILEY & CLARKE (1959) ampliam esta faixa para 10% a 15%.

ROBERTS (1981) complementando o exposto até então, afirma serem as dextranas constituídas de uma cadeia reta de glicose, ligações (1-6), além de ligações (1-4) e (1-3).

HIDI *et alii* (1974) analisando os resultados obtidos a respeito da composição da dextrana, concluíram que estas se constituem de um polímero onde predominam as ligações glicosídicas alfa (1-6), cuja proporção aumenta com o aumento do teor de dextrana no caldo. As ligações glicosídicas do tipo

alfa (1-3) apresentam um teor mais ou menos constante de 12%. E finalmente, as do tipo alfa (1-4) têm seus teores decrescentes à medida que o teor de dextrana aumenta no caldo.

Além de SUTHERLAND & PATON (1969) também LOPEZ & CREMATA (1980) salientam a ocorrência de ligações alfa (1-6), alfa (1-4) e alfa (1-3), com grau e incidência de ramificações variáveis. Esses últimos autores, afirmam ainda que é possível algumas dextranas apresentarem ligações do tipo (1-3) na cadeia principal. De forma geral, as ligações do tipo (1-6) aparecem na proporção de 95%, vindo em seguida as ligações do tipo (1-3) com 4,5%, o que em parte é concordante com TURVEY & WHELAN (1957) pois para as ligações do tipo (1-3) esses autores encontraram uma proporção de 5%, o que leva a se descartar qualquer possibilidade da ocorrência de um outro tipo de ligação.

A situação atual constante na literatura a respeito da estrutura da dextrana, está resumida nos trabalhos de CLARKE *et alii* (1980) onde os autores afirmam ser a dextrana um polímero de glicose, cujas cadeias retilíneas são formadas por ligações alfa (1-6), alfa (1-2), alfa (1-3), além de ligações alfa (1-4) nos pontos de ramificação e no trabalho de BOSE & SINGH (1981b) onde de forma contrária ao trabalho de CLARKE *et alii* (1980) afirmam que a cadeia principal da dextrana apresenta ligações do tipo alfa (1-6), tendo, nos pontos de ramificação, ligações do tipo alfa (1-4), alfa (1-3) e alfa (1-2), devendo, as ligações do tipo alfa (1-6) aparecerem numa

proporção de pelo menos 50-60% para definir uma dextrana.

2.2. Hidrólise ácida

Segundo TILBURY (1973) estima-se na Jamaica uma diminuição de 4,75% na recuperação da sacarose para cada dia que se passa, entre o corte e o processamento, devido à ação de *Leuconostoc mesenteroides*. Isso ao ano corresponde, em média, a uma perda de 9,2%.

Ainda, esse mesmo autor afirma que no início da fabricação, onde o pH do caldo se acha na faixa de 5,0-5,5, as condições são favoráveis ao desenvolvimento da *L. mesenteroides*. De acordo com PAYNE & ZAPERLON (1976) as perdas de sacarose causadas por microrganismos em condições normais é da ordem de 0,2 kg/ton de cana. Já em condições não higiênicas pode chegar até 1,0 kg por tonelada de cana.

De maneira geral, desde o corte até a obtenção do produto final, calcula-se a perda total de sacarose variando de 5 a 35%, de acordo com a região e a tecnologia empregada (CLARKE *et alii*, 1980).

Em média, caldo originário de cana recém-colhida apresenta um teor de polissacarídeos na faixa de 0,2% a 0,3% Brix (BRUIJN, 1966a).

O desdobramento desses polissacarídeos pode ser realizado mediante tratamentos ácidos ou enzimáticos. Entretanto,

SULTANOV & USMANOV (1956) propõem a utilização de CO_2 (dióxido de carbono), para promover a hidrólise de sacarose, dextrinas e amido. No caso de amido ou dextrinas, 45 g do material em 30 ml de água destilada foi aquecido a $190-195^\circ\text{C}$ à pressão de 140atm por 1,5 horas, produzindo-se um hidrolisado que, após tratamento com NORITE, filtração e evaporação, originou um xarope com 40 g de glicose.

A hidrólise ácida, pode também ser empregada na clivagem de oligossacarídeos. De acordo com HEIDT *et alii* (1952) a taxa de hidrólise ácida da sacarose aumenta para tempos de reações superiores a 2000 minutos, sendo mais acentuada a altas temperaturas.

TROEPOL'SKAYA & ZUBCHENKO (1978) avaliando os efeitos do tratamento ácido sobre uma solução de sacarose 82% concluíram que após 4,5 minutos a 90°C , com 3 ml de HCl 10%/kg de açúcar, a inversão foi completa, resultando numa concentração final de redutores de 72%.

Entretanto, outros compostos presentes no meio podem exercer influências sobre a hidrólise.

Para GRANDCHAMP-CHAUDUN (1956) a taxa de hidrólise de uma solução de sacarose 5%, por HCl N/10, é aumentada na presença de iguais quantidades de Soluções Normais de NaCl, KCl, LiCl. O mesmo autor, em 1965 volta a ressaltar o efeito dos cloretos sobre a mesma solução de sacarose, durante a hidrólise ácida, promovendo um acréscimo na capacidade hidrolítica da ordem de 50%.

As características hidrolíticas podem ser alteradas tanto pelo ácido empregado quanto pelo carboidrato a ser hidrolisado. Exemplo disso é apresentado por GRANDCHAMP-CHAUDUN & MOREAU (1951) que encontraram diferenças entre HCl, H₂SO₄ e ácido oxálico, hidrolisando maltose e sacarose. Ainda, segundo os autores, o que apresentou maior capacidade hidrolítica foi o HCl, seguido pelo H₂SO₄ e ácido oxálico respectivamente. Também, as diferenças foram muito mais acentuadas quando se hidrolisou maltose, em comparação com a sacarose, evidenciando dessa forma o efeito da natureza do carboidrato em relação a hidrólise.

A hidrólise ácida, além de alterações estruturais, dependendo de sua intensidade, pode promover alterações químicas nos compostos resultantes. Conforme TROEPOL'SKAYA & ZUBCHENKO (1978) cerca de 10% dos açúcares inicialmente presentes na forma de sacarose, foram transformados em lactose, maltose, isomaltose e dois outros produtos não identificados. Esses mesmos autores (1979) sugerem uma fórmula para o cálculo do tempo de tratamento em função da temperatura e do pH durante a hidrólise. Afirmam ainda, que dessa forma, as perdas que normalmente são da ordem de 1,5%, no caso de inversão a 80-90^oC por 20-30 minutos, passam com essas novas medidas para 0,1-0,2%.

ZHELTUKHIN (1953) afirma que a taxa de decomposição da glicose por ácido sulfúrico 0,5% a 167^oC é a mesma em soluções 3, 5, 10 e 15%. Ainda, a constante de uma solução a

15% é 10% maior do que a de uma solução a 3%.

OKANO & KOSAKA (1958) comparando dois métodos de determinação de açúcares em melão, concluíram que as maiores quantidades de açúcares não fermentáveis são produzidas pelas maiores quantidades de HCl empregadas na inversão. Dessa forma, além do tipo de ácido empregado e do tempo de reação, fica evidenciado que a concentração do ácido também exerce influência.

TAUFEL & BURMEISTER (1949) submeteram uma solução de sacarose 50% a uma hidrólise fraca (redução do pH a 2,4 e manutenção por tempos variáveis a 68-70 °C); e a uma hidrólise forte, em que a solução acidificada foi mantida por uma hora em banho de água fervente. Observaram que nos primeiros estágios da hidrólise fraca, a glicose não sofreu mudanças, mas a frutose formou polímeros facilmente hidrolisáveis, os quais desapareceram no transcorrer do aquecimento. Após 3 horas, praticamente toda sacarose tinha sido hidrolisada. Com relação a hidrólise forte, algumas soluções apresentaram coloração progressiva, decréscimo no teor de açúcares redutores, além da formação de produtos de degradação. A glicose não formou produtos de decomposição, mas originou polímeros dextrínicos de difícil hidrólise. Já a frutose formou além de produtos de decomposição, também uma pequena quantidade de polímeros de difícil hidrólise. Dentre os produtos de decomposição foram identificados o diacetil (acetona), furfural, hidroximetil furfural e metil glioxal. Também, em função da formação de produtos de decomposição da

frutose, foi observado um decréscimo no poder redutor, além da progressiva formação de cor devido a caramelização e formação de um precipitado de huminas.

Por outro lado, SHICHIJI & MISONO (1954) salientam que o aquecimento promove um decréscimo, de forma considerável, das Substâncias Redutoras Não Fermentáveis no melaço.

Concluindo, afirmam que a taxa de aquecimento ótimo para se obter um máximo de Substâncias Fermentáveis foi de 2 horas a 100°C, ou 30 minutos a 1,0 kg/d e pressão. Ainda, com relação ao decréscimo acima mencionado, afirmam ser consequência do aumento de frutose no meio, como resultado do fracionamento de Substâncias Não Fermentáveis, as quais se achavam combinadas com o referido sacarídeo.

De forma geral, a origem e a natureza das substâncias redutoras no melaço podem ser atribuídas a compostos produzidos pela decomposição térmica, reductonas, as quais são caracterizadas por estruturas enediólicas e compostos nitrogenados.

De interesse prático nos dias atuais, vem a ser a ação hidrolítica dos ácidos sobre os polissacarídeos, a qual tem apresentado uma grande variação.

Para SMITH & POLLARD (1952) a hidrólise ácida da dextrana pode ser realizada com H₂SO₄ 2,5% a 80°C por 9 horas. Por outro lado, BOGDANOV (1967) o ácido sulfúrico deve ser utilizado a concentração de 4N, a 100°C por 60 minutos.

HSIEH *et alii* (1955) verificaram que as gomas

precipitadas do caldo de cana, pela ação de H_2SO_4 0,6% por 15 minutos a $150^{\circ}C$, originaram galactose, arabinose, xilose e ácidos urônicos. Já a utilização de HCl 6N por 20 horas levou formação de ácido glutâmico, cisteína, glicina, lisina, histidina, arginina, alanina, valina, leucina e ácido aspártico, além de oito compostos não identificados.

Para LEONARD & RICHARDS (1969) os polissacarídeos encontrados no caldo de cana podem sofrer hidrólise ácida onde para cada 10 mg de polímero basta 0,1 ml de H_2SO_4 72% a $30^{\circ}C$ por uma hora, sendo em seguida, realizada diluição com 2,8 ml de água destilada e fervura em refluxo por 3 horas. DARIAS *et alii* (1977), por sua vez, sugerem que os polissacarídeos originários do caldo de cana podem sofrer hidrólise mediante tratamento com H_2SO_4 (0,5 N na mistura) por 3 horas a $100^{\circ}C$. Glicose, arabinose e xilose, em proporções similares, aparecem no hidrolisado como derivados da dextrana e hemicelulose. Rhamnose também aparece em algumas amostras de melão.

Fort & McKaig, citados por ROBERTS & FRILLOUX (1965) sugerem que a hidrólise ácida dos polissacarídeos precipitados com etanol 75%, pode ser realizada com o emprego de HCl. Entretanto, para ZURCHER & HADORN (1977) o emprego do HCl não diluído a $68-70^{\circ}C$ por 5 minutos promove a hidrólise parcial de oligossacarídeos e dextrinas presentes em xarope de glicose.

STUPIELLO (1970) em várias análises de Açúcares Redutores realizadas em melões de algumas usinas, encontrou va

lores entre 8,27% e 28,40%. Para Açúcares Totais, o valor mínimo foi de 52,13% e o máximo de 71,08%. Já para a fração "Não Açúcares Orgânicos", os valores oscilaram entre 6,88% e 25,41%.

ARAÚJO *et alii* (1961) estudando a viscosidade de melaços coletados em usinas dos Estados de Pernambuco, Minas Gerais e Rio de Janeiro, obtiveram nas análises realizadas para Açúcares Totais, expressos em Açúcar Invertido, valores que variaram de 57,31% até 67,43%. Para Açúcares Redutores, os valores encontrados oscilaram entre 14,82% e 28,41%. Entretanto, OLBRICH (1960) apresentou como valores médios 64% de Açúcares Totais e 30% de Açúcar Invertido. Salientou, também esse mesmo autor, que a somatória da Sacarose Real obtida, transformada em Açúcares Redutores, com os Açúcares Redutores presentes no melaço, não correspondia ao valor obtido quando da determinação de Açúcares Totais.

Sua explicação para esse fato, foi que no método para a determinação de Açúcares Totais são computadas outras substâncias Redutoras Não Fermentáveis, as quais proporcionam um teor superior ao que realmente existe. HONIG (1969) complementou essa explicação citando a ocorrência de Substâncias Não Açúcares, opticamente ativas, quando da utilização de métodos baseados na polarimetria.

Ainda, uma avaliação mais segura do melaço, de acordo com ambos os autores, pode ser feita através da determinação do seu rendimento em álcool. Em escala de laboratório, HONIG (1969) utilizando certos melaços de Cuba, obteve 30,75 l

de álcool por 100 kg de melaço, ou seja, 57,58 l de álcool/100 kg de Açúcares Totais.

Para KRETZSCHMAR (1961) quase sempre o rendimento em álcool esperado, a partir da determinação química de açúcares, é superior ao que realmente se consegue. Entretanto, sua explicação é que a presença de ácidos graxos voláteis formados em consequência de infecções, inibem a fermentação.

A ocorrência de Substâncias Redutoras Não Fermentáveis e demonstrada por diversos autores.

WONG SAK HOI (1982) caracterizou muito bem tais substâncias tanto em caldo quanto em melaço, quando comparou o método proposto por LANE & EYNON (1934) para Açúcares Redutores, com a alta especificidade e precisão da Cromatografia - líquida-gasosa (G.L.C.), para a determinação de glicose, frutose e sacarose. No caso do caldo de cana, o método proposto por LANE & EYNON (1934) proporcionou 3,39% de Açúcares Redutores. Já para o método que emprega a G.L.C., o teor de Açúcares Redutores foi de 2,96%. Quando se analisou melaço, os teores de Açúcares Redutores pelo método proposto por LANE & EYNON (1934) foi de 18,18% e para o método que emprega a G.L.C. foi de 15,61%.

ALFA LAVAL (1982) tecendo considerações ao processo BIOSTIL de fermentação contínua, considerou que os melaços normalmente produzidos apresentam uma relação FERMENTÁVEIS / NÃO FERMENTÁVEIS (F/N) entre 1,5 e 3,0. Para caldo de cana essa relação normalmente excede a 4,0.

ABOU EL ELA & LETIEF (1982) estudando os fatores que controlam a formação de Substâncias Redutoras Não Fermentáveis, encontraram para caldo misto em processo 0,28% de Sólidos Totais; para xarope 0,5g % Sólidos Totais e para melão de 3^a 3,20g % Sólidos Totais.

Ainda, segundo esses mesmos autores, as Substâncias Redutoras Não Fermentáveis se constituem em produtos da condensação do nitrogênio formados pela reação de Açúcares Redutores e compostos de carbonil simples com aminoácidos presentes e suas amidas, acelerada pela elevação da temperatura.

Para STURION & STUPIELLO (1973) a porcentagem de Substâncias Redutoras Não Fermentáveis no melão, não é bem definida, pois os dados citados por outros autores se encontram em faixas cujos limites de variação são amplos.

Os resultados por eles obtidos foram inferiores aos já citados na literatura, entretanto, se encontravam dentro das faixas anteriormente estabelecidas. Concluindo, esses mesmos autores citam que a porcentagem de Substâncias Redutoras Não Fermentáveis no melão, não tem nenhuma correlação com o esquema de fabricação do açúcar.

BROWNE (1938), estudando melões estocados, observou uma diminuição nas suas polarizações, como consequência da perda constante de sacarose, um aumento demorado e irregular em Açúcar Invertido, perda crescente de Açúcar Total após inversão, tendo como consequência o aumento constante das matérias orgânicas não açucaradas.

Entretanto, a análise bacteriológica nada revelou, fazendo com que se concluísse que a causa dessa auto-decomposição fosse química.

Acerca das alterações químicas que ocorrem no melão, CLARKE et alii (1980) não recomendam a utilização de métodos polarimétricos para avaliar as perdas de sacarose, pois no caso de ocorrer inversão e a frutose formada desaparecer antes que a glicose, o que é normal ter-se-ia uma polarização alta, refletindo exatamente o contrário da situação real.

Para HEINZ (1950) cerca de 57,76% de Substâncias Redutoras ocorrem no melão, e após rápida fermentação, cerca de 5% se comportou como Substância Redutora Não Fermentável. Tal valor, após a utilização de aeração foi reduzido para 4,4%. Concluindo, o autor afirma que os resultados indicaram a presença de substâncias inibidoras da fermentação.

Segundo INGRAM *et alii* (1955) foram incompletas as fermentações de soluções de sacarose 12%, pH 3,5 e autoclavadas por 8 horas a 120° C. Os autores afirmaram que a causa disto foi o hidroximetilfurfural, produzido nas reações de escurecimento envolvendo açúcar-ácido, em concentrações inibitórias.

JANICKI & SKWARA (1950) afirmam que as deficiências no rendimento da fermentação quando se emprega melão, são devidas à presença de Substâncias Redutoras Não Fermentáveis representadas pelo 1,2 anidrido de D-frutose.

Indo um pouco mais além, HOUSSIAU (1948) afirma

que os compostos ditos Não Fermentáveis, em grande parte são fermentados na vinhaça. Ainda, a hidrólise com HCl forma novos Compostos Redutores Fermentáveis.

2.3. Hidrólise Enzimica

A hidrólise enzimica dos polissacarídeos presentes no caldo de cana é possível. Entretanto, em função da complexidade desses polímeros, diferentes enzimas são necessárias para hidrolisar as diferentes frações constituintes.

Definidas por BRUIJN & JENNINGS (1968) como estruturas complexas protéicas de peso molecular entre 10^4 e 10^6 , apresentam "Sítios Ativos" e são catalizadores específicos em numerosas reações de síntese e degradação.

Uma enzima que ocorre naturalmente no caldo de cana e a amilase, que é específica para atuar sobre o amido.

Segundo Elzeini, citado por CESAR *et alii* (1974) a manutenção do caldo a $70-72^{\circ}\text{C}$ permite a degradação do amido em até 50%, bastando para tanto a adição de fósforo até o nível entre 350 e 400 ppm em P_2O_5 . Para VIGNES & SAINT ANTOINE (1965) o pH em que ocorre a maior atividade enzimica se acha próximo do pH natural do caldo. Já no que se refere à temperatura, a faixa de $70-75^{\circ}\text{C}$ deve destruir uma grande porção do amido presente.

De acordo com NICHOLSON & HORSLEY (1958) a temperatura de gelatinização de amido no caldo de cana, condição

necessária para sofrer a ação enzimica, se acha em torno de 70°C. Com relação ao índice de pH, a faixa ótima varia de 5,5 a 5,7. Entretanto, à temperatura de 70°C, apesar de ocorrer alta atividade enzimica, a desnaturação pelo calor se faz presente, o que faz com que se empregue a temperatura de 60°C. De forma contrária ao exposto, SAYED *et alii* (1974) afirmam ser 60°C a temperatura em que a amilase do caldo apresenta máxima atividade, e que nessas condições, uma exposição prolongada da enzima, conduz a uma desnaturação gradual da mesma. Entretanto, SAYED *et alii* (1972) salientam a necessidade da temperatura se encontrar na faixa de 75°C-80°C. MAUCH & FARHOU DI (1980), por sua vez, afirmam que a decomposição do amido possível se a exposição a enzima ocorrer por 60 minutos, no mínimo, e a uma temperatura de 85°C.

Conforme VIGNES & SAINT ANTOINE (1965) a redução do teor de amido variou em função do tempo de exposição. Mantendo-se a temperatura a 73°C, obteve-se uma redução de 43% num tempo de exposição de 5 minutos. Aumentando-se para 10 minutos a redução passou para 52% e após 15 minutos esta foi de 56%.

Dentre os três principais tipos de enzimas de um dos dois grupos que rompem ligações glicosídicas α -D-(1-4), encontramos as amilases microbianas, as quais liberam glicose como produtos primários.

Algumas dessas amiloglicosidases, de acordo com BRUIJN & JENNINGS (1968) apresentam capacidade de hidrolisar

ligações (1-4) e (1-6). Também, amilases bacterianas derivadas de *Bacillus subtilis*, apresentam estabilidade a altas temperaturas, o que segundo o mesmo autor é uma propriedade que desperta a atenção quando se pensa no seu emprego a nível de processamento. Salienda ainda, que a utilização de 10 ppm da enzima por 15 minutos pode destruir cerca de 85% do amido presente.

VIGNES & RANDABEL (1970) estudando o emprego de uma amilase com nome comercial "Bactamyl" a nível de 10 ppm no caldo misto, encontraram uma redução no teor de amido de 13%, quando da injeção da mesma na passagem que dá acesso ao último vaso do conjunto evaporador.

De acordo com a PFIZER (1981a) a alfa-amilase bacteriana produzida a partir de *Bacillus subtilis*, atua sobre ligações do tipo alfa (1-4), tanto da amilose quanto da amilopectina produzindo dextrinas e pequenas quantidades de carboidratos de baixo peso molecular, inclusive maltose e glicose.

Experimentos realizados onde se empregaram diferentes matérias primas com concentrações de amido variando de 12-45% (P/V), indicaram uma faixa de pH, ótima para a atuação da enzima, variando de 6,5 a 7,0. Com relação a temperatura ótima, esta variou de 80-86°C.

De acordo com a PFIZER (1979) a ação da amilase é caracterizada pela hidrólise de ligações alfa (1-4) formando cadeias ramificadas e lineares de dextrinas. Já quando a ação é prolongada, os produtos finais se resumem em oligossacarídeos e glicose. Ainda, quando atua sobre a amilose a formação

de glicose e maltose é mais rápida do que no caso da amilopectina em que cadeias de maltose, oligossacarídeos e dextrinas se fazem presentes.

Com relação ao pH, a PFIZER afirma que o valor de 6,8 é o ideal e para a temperatura, a mais indicada é 70°C. Ainda a enzima deve ser empregada na dosagem de 342 BAU/kg de amido; onde 1 BAU vem a ser a quantidade da enzima que, a pH 6,7 na temperatura de 50°C, durante uma hora, decompõe 1,0 g de amido solúvel (PFIZER, 1978).

A PFIZER (1981b) tece comentários sobre a enzima amiloglicosidase de nome comercial "Amilo-P-250", afirmando que esta é produzida a partir de *Aspergillus niger*. Atua também sobre o amido, hidrolisando ligações alfa (1-4) e alfa (1-6), tanto nas cadeias lineares quanto nas ramificadas, ocasião em que origina como produto principal, a glicose. Entretanto, a PFIZER (1979) afirma que além das ligações alfa (1-4) e alfa (1-6), estas atuam também sobre as ligações alfa (1-3), e que, neste tipo de conversão não ocorre o aparecimento de produtos intermediários como maltose, maltotriose e outros.

Segundo essa mesma companhia o melhor desempenho da referida enzima se dá a valores de pH variando de 4,5 a 5,0 e numa faixa de temperatura entre 30 e 60°C no máximo.

Com relação à dosagem, afirmam que o ideal é utilizar 163,2 DU/kg de amido, onde DU é trazido como "Dextrins Units".

Com relação à dextrana, outra fração dos polissacarídeos do caldo de cana, a hidrólise enzimica também aparece com possibilidades.

Conforme BAILEY & CLARKE (1959) e BOURNE *et alii* (1962) a atuação de dextranases fúngicas sobre as ligações glicosídicas da dextrana, ocorre ao acaso.

Trabalhos realizados por Frome, citado por TILBURY (1971) concluíram que o tratamento do caldo com dextrana se reduziu o teor de dextrana em cerca de 78%, empregando uma concentração da enzima de 300 unidades/100 ml de caldo. O tempo de reação foi de 40-60 minutos a 43°C. TILBURY & FRENCH (1974) afirmam que em média uma dosagem de 3-6 unidades dextranase (DU) por 100 ml de caldo promove uma redução de 66-69% da dextrana no caldo misto em 20 minutos a 40°C.

O binômio concentração da enzima e tempo de tratamento, também influem sobre o efeito do tratamento enzimico.

De acordo com TILBURY (1971) uma redução na concentração da enzima de 300 unidades/100 ml para 30 unidades/100 ml, além de uma redução no tempo de tratamento de 60 minutos para 30 minutos, promoveu uma redução de 76% da dextrana. Ainda, uma redução no tempo para 15 minutos promoveu uma remoção média de dextrana de 79%, indicando ser variável o grau de hidrólise da mesma. Explicação para essa variação é dada por Bourne, Hutson & Weigel, citados por TILBURY (1971) segundo os quais tais fatos são função da alta especificidade da dex-

tranase por ligações alfa (1-6). A mesma afirmação se acha no trabalho de ROBERTS (1981) onde o autor salienta a existência também de ligações (1-3) e (1-4) na dextrana, sugerindo que em função disso a dextranase deve romper a dextrana em pontos de forma a não originar sō glicose. Tais afirmações são concordantes com BAILEY & CLARKE (1959) que baseados no comportamento da referida enzima afirmam que a mesma não tem preferência por um tipo final de cadeia.

Alēm das diferentes "linhagens" de bactērias produzem dextranas com características prōprias, o caldo de cana deve conter outros polissacarīdeos.

De acordo com BAILEY & CLARKE (1959) o ataque a dextranas ramificadas por enzimas que levam ā formaçāo de gli cose parece ser limitada. Em experimentos realizados com dextranases de *Lactobacillus bifidus*, os autores salientam nao ter sido observada qualquer açāo da mesma sobre isomaltose, isomaltotriose, e tetrose-pentose. Contudo, isomaltoheptose e octose foram hidrolisadas facilmente.

Jā no caso de dextrana nāo ramificadas, BAILEY *et alii* (1961) afirmam que tais enzimas promovem a formaçāo de isomaltotriose, isomaltotetrose, isomaltopentose, isomaltohexose, alēm de traços de isomalheptose, mas nāo originam gli cose ou isomaltose. De tal forma que a quantidade de Açūcares Redutores produzidos, bem como dos oligossacarīdeos, variam em funçāo do grau de ramificaçāo da dextrana.

Entre as dextranases, encontra-se as produzidas

por bactérias ou por fungos. Um exemplo das fúngicas, são as produzidas pelo fungo do gênero *Penicillium*, que segundo BOURNE *et alii* (1962) apresentam certa dificuldade na hidrólise de dextranas altamente ramificadas. Atuando sobre dextranas não ramificadas de *Streptococcus bovis*, a dextranase de *Penicillium funiculosum* originou glicose, isomaltose, isomaltotriose e oligossacarídeos homologos de baixo peso molecular. Já BOURNE *et alii* (1963) nas mesmas condições encontraram isomaltose ou glicose como açúcares livres. Afirmaram ainda, que as dextranases não conseguem hidrolisar ligações anômalas da dextrana. Por outro lado, BAILEY & CLARKE (1959) utilizando-se de dextranase produzida por *Lactobacillus bifidus* na hidrólise da dextrana de *Leuconostoc mesenteroides*, obtiveram após 24 horas de incubação, uma mistura de di, tri, tetra e pentas-sacarídeos, além de sacarídeos superiores. Também afirmam de não ter sido possível provar que as ligações alfa (1-3) da dextrana foram atacadas pela dextranase. Para ROBERTS (1981) tais ligações não exercem efeito inibitório sobre a atividade da referida enzima.

Tsuchiya citado por BAILEY & CLARKE (1959) salienta que a exceção de uma linhagem de *Aspergillus niger* e bactérias intestinais do gênero *Bacterioides*, que desdobram a dextrana produzindo unicamente glicose, as dextranases fúngicas, atuando sobre dextranas produzem isomaltose e pequenas quantidades de glicose e isomaltotriose.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Levedura Alcoólica

A levedura utilizada nos experimentos de fermentação foi *Saccharomyces cerevisiae* - fermento prensado comercial Fleishmann.

Cada alíquota submetida à fermentação recebeu como inóculo, 12 g de fermento prensado, equivalente a aproximadamente 4,8% do peso do mosto original empregado.

3.2. Enzimas

Alfa-amilase - Preparação Enzimica líquida de origem bacteriana (*Bacillus subtilis*) - 171 BAU/ml (Bacterial amilase units), de nome comercial ALFA P.500, produzido pela PFIZER S.A.

Amiloglicosidase - Preparação Enzimica líquida de

origem fúngica (*Aspergillus niger*) -10,2 DU/ml (Dextrins units), de nome comercial AMILO-P-250, produzido pela PFIZER S.A.

3.3. Preparo do Mosto Hidrolisado com Ácidos Minerais

Para o preparo do mosto foi utilizado melaço ou mel final proveniente do processamento de fabricação de açúcar cristal branco das usinas de açúcar.

Inicialmente, utilizando - se de uma balança semi-analítica, digital, pesou-se 1500 g de melaço a 87^o Brix, o qual foi diluído a 3000 g com água destilada, obtendo-se assim o melaço diluído na proporção um para dois (melaço diluído (1)).

Devidamente homogeneizado, este melaço diluído (1) foi subdividido em aliquotas de 500 g colocadas em bequer de 1000 ml.

3.3.1. Tratamento testemunha

Tratamento 1

Neste tratamento, a aliquota de melaço diluído (1) contida em um bēquer de 1000 ml, teve seu índice de pH corrigido através de titulação potenciométrica com uma solução de H₂SO₄ N, até se atingir o valor 5,0.

Em seguida, utilizando-se de água destilada, completou-se o peso a 1000 g, obtendo-se dessa forma o respectivo

mosto.

3.3.2. Tratamento com ácido sulfúrico

Tratamento 2

Uma alíquota do melão diluído (1) foi levada a um banho-maria, onde permaneceu até que a temperatura de 65^oC fosse atingida. Em seguida, foram adicionados 33 ml de uma solução de H₂SO₄ 6,34 N. Posteriormente a mistura foi homogeneizada e deixada em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente. Completou-se o resfriamento em água corrente. Para a correção do índice de pH ao valor 5,0, foi empregada uma solução de NaOH 1,0 Normal.

Para a complementação do peso a 1000 g, utilizou-se de água destilada, obtendo-se assim o respectivo mosto.

3.3.3. Tratamento com ácido clorídrico

Tratamento 3

Uma alíquota do melão diluído (1) foi introduzida no banho-maria, até que se atingisse a temperatura de 65^oC.

Nesse caso, foram adicionados 33 ml de solução de HCl 6,34 N. Após adequada homogeneização, a mistura foi deixada em repouso, à temperatura ambiente, por 30 minutos.

Após o repouso, o resfriamento foi completado em água corrente, para posteriormente proceder-se a correção do índice

de pH ao valor 5,0, com uma solução de NaOH 1,0 Normal.

Para a complementação do peso a 1000 g, utilizou-se de água destilada.

3.3.4. Tratamento com ácido sulfúrico e aquecimento por uma hora

Tratamento 4

Foi adicionado ao melaço diluído (1), 33 ml de uma solução de H_2SO_4 6,34 N. Em seguida, a mistura acidificada foi transferida para balão com condensador para refluxo.

Foi mantido o refluxo durante uma hora, após o que foi realizado resfriamento em água corrente.

A correção do índice de pH ao valor 5,0 foi realizada com solução de NaOH 1,0 Normal, ao potenciômetro e em agitação.

A complementação do peso a 1000 g, foi realizada com água destilada.

3.3.5. Tratamento com ácido clorídrico e aquecimento por uma hora

Tratamento 5

Ao melaço diluído (1) foram adicionados 33 ml de HCl 6,34 Normal.

A mistura foi homogeneizada e transferida para balão de 1000 ml, com condensador para refluxo, permanecendo em ebu-

lição por uma hora.

Em seguida, foi realizado o resfriamento em água corrente.

A correção do índice de pH ao valor 5,0 foi realizada com uma solução de NaOH 1,0 Normal.

Para a complementação do peso a 1000 g utilizou-se de água destilada, obtendo-se, após adequada homogeneização, o respectivo mosto.

3.3.6. Tratamento testemunha com meio semi-sintético

Tratamento 6

O meio semi-sintético empregado foi o YPD (Extrato de levedura peptona - glicose), na seguinte proporção: extrato de levedura 1%, peptona 1% e glicose 15% e completado com 1000 ml de H₂O destilada.

Uma vez preparado o mosto, as frações correspondentes a cada uma das repetições, foram colocadas em 3 frascos sorológicos de 500 ml de capacidade, contendo cada frasco 250 g. (Assim, o tratamento foi constituído de três repetições)

3.4. Preparo do Mosto Hidrolisado Enzimicamente

3.4.1. Adição simples de alfa-amilase

Tratamento 7

Tomou-se uma alíquota de 500 g do melaço diluído (1) e levou-se a 1000 g com água destilada. Esta amostra foi subdividida em três alíquotas de 250 g que foram transferidas para frascos sorológicos de vidro com capacidade de 500 ml.

Adicionou-se a cada um dos frascos 1,0 ml da enzima alfa-amilase, obtendo-se assim, o respectivo mosto para a fermentação.

3.4.2. Adição simples de amiloglicosidase

Tratamento 8

As alíquotas de 250 g de melaço diluído na proporção 1:4, contidas nos frascos sorológicos de 500 ml, adicionou-se 1,5 ml da enzima amiloglicosidase. Após homogeneização obteve-se o respectivo mosto.

3.4.3. Adição simples de alfa amilase e amiloglicosidase

Tratamento 9

As alíquotas de 250 g de melaço diluído 1:4, adicionou-se 1,0 ml da alfa-amilase e 1,5 ml da amiloglicosidade.

Após homogeneização obteve-se o respectivo mosto.

3.4.4. Tratamento testemunha absoluta

Tratamento 10

Foi utilizado o melão diluído na proporção 1:4 (p/p) e sua subdivisão em três alíquotas de 250 g. sem correção do índice de pH.

3.4.5. Tratamento sob condições controladas I

Tratamento 11

As alíquotas de 250 g de melão diluído na proporção 1:4, contidas nos frascos sorológicos de 500 ml, procedeu-se as seguintes operações:

- Ajustou-se o índice de pH das alíquotas ao valor 6,8 através de titulação potenciométrica com uma solução de NaOH 1,0 Normal;
- Aqueceu-se as alíquotas em banho maria a 70°C, permanecendo a essa temperatura por 30 minutos;
- Após o resfriamento em água corrente, promoveu-se a acidificação do meio até o índice de pH 5,0;
- Em seguida, aqueceu-se as alíquotas em banho-maria até 50°C, permanecendo em repouso a essa temperatura por 30 minutos;
- Após o resfriamento em água corrente, obteve-se o respectivo mosto.

3.4.6. Tratamento com alfa-amilase e amiloglicosidase sob condições controladas I

As alíquotas de 250 g de melão diluído na proporção 1:4, procedeu-se às seguintes operações:

- Ajustou-se o pH do mosto a 6,8, com solução de NaOH 1,0 Normal.

- Efetuou-se aquecimento do mosto em banho maria regulado a 70°C, até o equilíbrio térmico;

- Adicionou-se 1,0 ml de alfa amilase e manteve-se o frasco após homogeneização por trinta minutos, em banho maria a 70°C;

- Após resfriamento em água corrente, procedeu-se a correção do pH ao valor 5,0, com solução de H₂SO₄ 1,0 Normal.

Aqueceu-se novamente em banho até 50°C;

- Adicionou-se 1,5 ml da enzima amiloglicosidase, mantendo-se o tratamento por 30 minutos;

- Após o tratamento, as amostras foram resfriadas em água corrente obtendo-se o mosto.

3.4.7. Tratamento com alfa amilase sob condições controladas II

Tratamento 13

As alíquotas de 250 g de melão diluído na proporção

1:4

foram submetidas aos seguintes tratamentos:

- Ajustou-se o índice de pH da alíquota ao valor 6,8 através da adição de NaOH 1,0 Normal.

Realizou-se o aquecimento em banho maria a temperatura de 70°C;

Adicionou-se 1,0 ml da enzima-alfa amilase tendo sido mantida a temperatura constante por 30 minutos após a homogeneização;

- Realizado o resfriamento em água corrente, procedeu-se a redução do índice de pH ao valor 5,0, com uma solução de H₂SO₄ 1,0 Normal, obtendo-se o mosto.

3.4.8. Tratamento com alfa-amilase sob condições controladas III

Tratamento 14

As alíquotas de 250 g de melão diluído na proporção 1:4, procedeu-se os seguintes tratamentos:

- Ajustou-se o índice de pH das alíquotas ao valor 6,8, com solução de NH₄OH 10%;

- Realizou-se o aquecimento da alíquota em banho maria a

- Adicionou-se 1,0 ml da alfa-amilase;

- Deixou-se em repouso à temperatura constante de 70°C por 30 minutos.

- Resfriou-se a temperatura ambiente, em água correnu

te e corrigiu-se o índice de pH ao valor 5,0, com solução de H_2SO_4 1,0 Normal, obtendo-se o mosto.

3.4.9. Tratamento com amiloglicosidase sob condições controladas IV

Tratamento 15

As alíquotas de 250 g de melão diluído na proporção 1:4, procedeu-se os seguintes tratamentos:

- Ajustou-se o índice de pH da alíquota ao valor 5,0 com solução de H_2SO_4 1,0 Normal;

- O aquecimento das alíquotas foi realizado em banho maria a $50^{\circ}C$;

Adicionou-se 1,5 ml da enzima amiloglicosidase;

- Após homogeneização, a alíquota permaneceu por 30 minutos à temperatura constante de $50^{\circ}C$;

- Realizado o resfriamento, em água corrente, obteve-se o mosto.

3.5. Fermentação

Os mostos obtidos nos diferentes tratamentos foram inoculados com o fermento prensado, segundo descrição no item 3.1. e os frascos tamponados com algodão hidrófilo foram incubados durante 24 horas, à temperatura constante de $30^{\circ}C$.

A fração restante de melão diluído (1:4) utilizada para cada tratamento foi analisada quanto ao teor de Açúcares Redutores Totais.

Os vinhos provenientes da fermentação de cada alíquota, de cada tratamento, foram analisados quanto ao teor de Substâncias Redutoras Residuais e de álcool.

3.6. Métodos Analíticos

As análises de Açúcares Redutores Totais no mosto foram realizadas segundo a técnica descrita por LANE & EYNON (1934), adaptada ao aparelho ebulliostático, marca REDUTEC, Tecnal, por HORII *et alii* (1985).

O vinho foi clarificado antes da determinação de substâncias redutoras através de técnica descrita por VILELLA *et alii* (1973).

A análise de substâncias redutoras no vinho foi efetuada segundo a técnica descrita por NIZOVKIN & EMEL'YANOVA (1959).

A determinação da concentração de etanol no vinho foi efetuada através de destilação de alíquota de vinho e posterior determinação da densidade relativa em densímetro digital A. PAAR - DMA 45.

3.7. Cálculo da Eficiência Fermentativa e de Conversão

Eficiência fermentativa é a relação percentual entre o etanol produzido e o etanol teórico esperado com base na conversão total dos Açúcares Redutores Totais do mosto.

Assim, o cálculo da Eficiência Fermentativa pode ser definida através da seguinte equação:

$$EF = \frac{100 \cdot PV \cdot E}{PM \cdot AT \cdot 0,5111} , \text{ onde}$$

EF = Eficiência Fermentativa (%)

PV = Peso de vinho (g)

E = Porcentagem (p/p) de etanol no vinho

PM = Peso de mosto (g)

AT = Porcentagem de Açúcares Totais do mosto (p/p)

0,5111 = Peso de etanol (g) por 100g de Açúcares Totais.

Por Eficiência de Conversão entende-se a relação percentual entre o etanol produzido e o etanol teórico esperado com base na fração de Açúcares Redutores Totais do mosto assimilada pela levedura.

Dessa forma, para o seu cálculo empregou-se a seguinte equação:

$$EC = \frac{100 \cdot PV \cdot E}{[(PM \cdot AT) - (PV \cdot RR)] \cdot 0,5111} , \text{ onde}$$

EC = Eficiência de Conversão (%)

PV = Peso de vinho (g)

E = Porcentagem (p/p) de etanol no vinho

PM = Peso de Mosto (g)

AT = Porcentagem de Açúcares Totais do mosto (p/p)

RR = Porcentagem de substâncias Redutoras Residuais do vinho (p/p).

3.8. Análise Estatística

O delineamento experimental utilizado, na análise estatística dos resultados, foi o de blocos inteiramente casualizados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Hidrólise Ácida

O objetivo do presente estudo foi avaliar os possíveis efeitos dos tratamentos hidrolíticos com ácidos minerais sobre o desempenho da fermentação alcoólica.

Os resultados analíticos do mosto quanto a Açúcares Totais e do vinho no que se refere à concentração e conteúdo de Etanol e de Substâncias Redutoras Residuais, bem como as Eficiências Fermentativas e de Conversão dos tratamentos a seguir:

- Testemunha (1);
- Tratamento com ácido sulfúrico (2);
- Tratamento com ácido clorídrico (3);
- Tratamento com ácido sulfúrico e aquecimento por 1 hora (4);
- Tratamento com ácido clorídrico e aquecimento por 1 hora (5);

Tratamento testemunha com meio semi-sintético (6);
são apresentados nas tabelas de 1 a 6.

TABELA 1 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão.

Repetições	Y R A T A M E N T O I - T E S T E M U N I A									
	Peso de Açúcares Teor/mosto (g)	Densidade do destilado (20º/4°C)	Etanol % v/v (p/p)	Peso de etanol. no vinho (g)	Redutores Residuais % vinho (p/p)	Peso de Redutores Residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)		
1	59,855	0,9852	7,72	18,6515	0,48	1,1596	91,56	94,30		
2	59,850	0,9852	7,72	18,6515	0,47	1,1585	91,56	94,24		
3	59,850	0,9852	7,72	18,6515	0,46	1,1113	91,56	94,18		
4	59,850	0,9853	5,68	15,7228	0,76	1,8591	80,33	84,99		
5	59,850	0,9852	5,75	15,8920	0,71	1,7153	81,32	85,72		
6	59,850	0,9853	5,68	15,7228	0,68	1,6428	80,33	84,18		
7	59,850	0,9855	7,52	18,1683	0,56	1,5329	93,42	96,94		
8	59,850	0,9855	7,52	18,1683	0,56	1,5329	93,42	96,99		
9	59,850	0,9855	7,52	18,1683	0,55	1,3288	95,42	96,95		
10	59,850	0,9872	6,39	15,4382	0,79	1,6912	85,63	89,94		
11	59,850	0,9874	6,26	15,1241	0,70	1,6912	83,89	88,11		
12	59,850	0,9874	6,26	15,1241	0,68	1,6428	83,89	87,98		
13	59,850	0,9858	7,45	17,9992	0,66	1,5945	92,37	96,43		
14	59,850	0,9856	7,45	17,9992	0,62	1,4979	92,37	96,15		
15	59,850	0,9858	7,32	17,6851	0,66	1,5945	90,76	94,72		
16	59,850	0,9854	7,58	18,3132	0,55	1,3288	90,48	93,74		
17	59,850	0,9854	7,53	18,3132	0,55	1,3288	90,48	93,74		
18	59,850	0,9854	7,58	18,3132	0,55	1,3288	90,48	93,74		
19	59,850	0,9854	7,58	18,3132	0,53	1,2804	91,70	94,81		
20	59,850	0,9854	7,58	18,3132	0,52	1,2563	91,70	94,76		
21	59,850	0,9854	7,52	18,1683	0,53	1,2804	91,97	94,06		
22	59,850	0,9852	7,72	18,6592	0,51	1,2326	92,78	95,78		
23	59,850	0,9852	7,72	18,6592	0,52	1,2547	92,56	95,66		
24	59,850	0,9853	7,65	18,4977	0,52	1,2573	91,97	94,99		
Médias	59,850	0,9853	7,65	18,4977	0,52	1,4123	89,58	95,00		
S.D.	5,82			14,86			4,85	4,20		

TABELA 2 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão hidrolisado com ácido sulfúrico.

Repetições	T R A F A M E N T O 2									
	Peso de Açúcares Totais/mosto (g)	Densidade do destilado (20°/4°C)	Etanol % vinho (g/p)	Peso da etanol no vinho (g)	Redutores Residuais 1 vinho (v/v)	Peso de Redutores Residuais no vinho (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)		
1	39,6589	0,9852	7,72	18,6609	0,41	0,9513	91,56	91,30		
2	39,6559	0,9851	7,79	18,8562	0,49	1,2848	91,56	91,24		
3	39,6559	0,9852	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
4	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
5	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
6	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
7	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
8	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
9	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
10	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
11	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
12	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
13	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
14	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
15	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
16	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
17	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
18	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
19	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
20	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
21	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
22	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
23	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
24	39,6559	0,9851	7,72	18,6669	0,40	1,2848	91,56	91,18		
MÉDIAS	37,8448			1,4245		89,90		93,28		
C.A. (%)	5,52			15,07		4,58		4,28		

TABELA 3 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão hidrolisado com ácido clorídrico.

Repetições	T R A T A M E N T O 3									
	Peso Açúcares Totais/mosto (g)	Densidade do destilado (20°C)	Etanol 1 vinho (p/p)	Peso etanol no vinho (g)	Redutores Residuais % vinho (p/p)	Peso de Redutores Residuais no vinho	Eficiência fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)		
1	35,8559	0,9852	7,72	18,6592	0,52	1,2583	51,59	94,58		
2	39,6389	0,9852	7,72	18,6592	0,55	1,3293	51,59	94,75		
3	39,3559	0,9852	7,72	18,6592	0,52	1,2568	51,59	94,38		
4	35,4250	0,9883	5,68	15,7285	0,76	1,8369	80,36	85,03		
5	35,4250	0,9883	5,68	15,7285	1,01	2,4411	80,36	86,69		
6	33,4250	0,9823	5,68	15,7285	0,76	1,8369	80,36	85,03		
7	38,0500	0,9856	7,45	18,0066	0,58	1,4018	92,59	96,36		
8	38,0500	0,9856	7,45	18,0066	0,58	1,4018	92,59	96,26		
9	33,0500	0,9855	7,45	18,0066	0,59	1,4260	92,59	96,33		
10	35,2750	0,9874	6,26	15,1304	0,71	1,7150	83,92	88,21		
11	35,2750	0,9874	6,26	15,1304	0,71	1,7140	83,92	88,21		
12	35,2750	0,9874	6,26	15,1304	0,61	1,4743	83,92	87,58		
13	38,1250	0,9853	6,98	16,8706	0,68	1,6435	86,58	90,52		
14	38,1250	0,9860	7,18	17,3540	0,67	1,6193	89,06	93,01		
15	38,1250	0,9860	7,18	17,3540	0,62	1,4985	89,06	92,70		
16	39,6000	0,9855	7,45	18,0066	0,56	1,3535	88,97	92,22		
17	39,6000	0,9856	7,45	18,0066	0,56	1,3555	88,97	92,22		
18	39,6000	0,9856	7,45	18,0066	0,57	1,3776	88,97	92,29		
19	39,0750	0,9859	7,25	17,5232	0,55	1,3293	87,74	90,80		
20	39,0750	0,9856	7,45	18,0066	0,55	1,3293	90,16	93,31		
21	35,0750	0,9856	7,45	18,0066	0,54	1,3051	90,16	95,21		
22	39,3500	0,9855	7,52	18,1833	0,53	1,2910	90,41	93,44		
23	39,3500	0,9855	7,52	18,1833	0,54	1,3051	90,38	95,35		
24	39,3500	0,9856	7,45	18,0066	0,54	1,3051	89,64	92,70		
Médias	37,3448					1,4914	88,14	91,80		
C.V. (%)	5,82					18,18	4,47	5,67		

TABELA 4 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão hidrolisado com ácido sulfúrico e aquecimento em refluxo por uma hora.

Apetições	T R A T A M E N T O 4									
	Peso Açúcares Totais/mosto (g)	Densidade do destilado (20°/4°C)	Etanol % vinho (p/p)	Puro etanol no vinho	Redutores Residuais % vinho (p/p)	Peso Redutores Residuais (g)	Eficiência fermentativa (%)	Eficiência		
1	59,8589	0,9855	7,52	18,2585	0,71	1,725850	89,63	93,68		
2	59,8589	0,9855	7,52	18,2585	0,70	1,690670	89,63	93,62		
3	59,8589	0,9856	7,45	18,0380	0,75	1,821000	88,79	93,04		
4	55,4280	0,9887	5,43	13,1840	0,66	1,602430	77,76	81,00		
5	55,4280	0,9885	5,56	13,4696	0,78	2,893840	79,22	83,77		
6	33,4250	0,9885	5,56	13,4996	0,77	1,899560	79,22	83,70		
7	38,0300	0,9855	7,52	18,2585	0,68	1,651040	93,50	97,87		
8	38,0500	0,9856	7,45	18,0380	0,67	1,630760	93,83	96,80		
9	38,0500	0,9856	7,45	18,0380	0,68	1,651040	93,63	96,96		
10	55,2750	0,9875	6,33	15,2624	0,66	1,559220	88,24	89,50		
11	55,2750	0,9872	6,39	15,5192	0,67	1,559220	88,06	90,21		
12	55,2750	0,9872	6,39	15,5192	0,66	2,039520	86,06	90,15		
13	38,1250	0,9862	7,05	17,11740	0,84	1,845290	87,85	92,81		
14	38,1250	0,9860	7,18	17,43504	0,76	1,733850	89,47	94,02		
15	38,1250	0,9860	7,18	17,43504	0,71	1,626760	89,47	93,70		
16	39,6000	0,9864	6,92	16,80176	0,67	1,626760	83,01	86,68		
17	39,6000	0,9860	7,18	17,43504	0,67	1,578200	86,13	89,94		
18	39,6000	0,9860	7,18	17,43504	0,65	1,695900	86,13	89,82		
19	39,0750	0,9859	7,25	17,60500	0,70	1,699600	88,14	92,16		
20	39,0750	0,9858	7,32	17,77256	0,70	1,689600	88,99	95,05		
21	39,0750	0,9863	6,98	16,9744	0,70	1,699600	84,86	88,72		
22	39,3500	0,9860	7,18	17,43504	0,70	1,699600	86,61	90,50		
23	39,3500	0,9860	7,18	17,43504	0,70	1,699600	86,72	90,61		
24	39,3500	0,9860	7,18	17,43504	0,70	1,699600	85,68	90,59		
Medias	37,8416					1,7089	86,85	90,98		
C.V. (%)	5,82					6,85	4,64	4,50		

TABELA 5 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melaço hidrolisado com ácido clorídrico e aquecimento em refluxo por uma hora.

Repetições	T R A Y A M E N T O. 5									
	Peso açúcar	Densidade do destilado (20°/4°C)	Etnol % vinho (v/v)	Peso do etanol Redutores Residuais na vinho (g)	% vinho (v/v)	Peso de Redutores Residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)		
1	39,8559	0,9871	6,16	15,7236	0,95	2,3123	77,18	81,94		
2	39,8369	0,9872	6,29	12,5552	0,97	2,3098	76,55	81,15		
3	39,3559	0,9872	6,29	15,5552	0,91	2,2149	76,55	80,84		
4	33,4250	0,9882	5,75	13,0955	1,08	2,6287	81,72	88,92		
5	35,4250	0,9885	5,68	13,8251	1,00	2,4340	80,73	87,28		
6	32,4250	0,9881	5,81	14,1415	1,04	2,5313	82,57	89,56		
7	38,0500	0,9862	7,05	17,1597	0,69	1,6794	86,24	92,43		
8	38,0500	0,9862	7,05	17,1597	0,74	1,8011	88,24	92,75		
9	38,0500	0,9862	7,05	17,1597	0,74	1,8011	88,24	92,75		
10	35,2750	0,9883	5,68	13,8251	1,26	3,0668	76,68	83,98		
11	35,2750	0,9880	5,87	14,2815	1,30	3,1642	79,25	87,06		
12	33,2750	0,9866	5,49	13,3526	1,16	2,8254	74,12	80,57		
13	38,1250	0,9869	6,59	16,0400	0,90	2,1906	82,32	87,33		
14	38,1250	0,9869	6,59	16,0400	0,80	2,032	82,32	87,10		
15	38,1250	0,9862	6,59	16,0400	0,86	2,0932	82,32	87,10		
16	39,6000	0,9870	6,52	15,8696	0,75	1,8255	78,47	87,10		
17	35,6000	0,9868	6,65	16,1501	0,75	1,8255	79,97	82,31		
18	39,6000	0,9868	6,65	16,1501	0,74	1,8011	79,97	83,95		
19	39,0750	0,9865	6,85	16,6729	0,80	1,9472	83,48	85,89		
20	35,0750	0,9865	6,85	16,6729	0,80	1,9472	83,48	87,80		
21	39,0750	0,9865	6,85	16,6729	0,80	1,9472	83,48	87,79		
22	39,3500	0,9865	6,85	16,6729	0,70	1,7038	83,04	87,74		
23	39,3500	0,9865	6,85	16,6729	0,70	1,7038	83,04	86,77		
24	39,3500	0,9865	6,85	16,6729	0,69	1,6794	82,76	86,77		
Médias	37,8418					2,1493	81,43	86,45		
C.V. (%)	5,82					20,36	4,63	4,10		

TABELA 6 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em meio semi-sintético - YPD.

Experições	T R A T A M E N T O						Eficiência de Conversão (%)
	Peso Açúcares Totais/Mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	Etanol % vinho (v/v)	Peso de etanol no vinho (g)	% vinho (v/v)	Peso Redutores Residuais (g)	
1	37,84	0,9863	6,98	17,0193	< 0,03	< 0,0731	88,09
2	37,80	0,9802	7,05	17,1829	< 0,03	< 0,0731	88,94
3	37,83	0,9861	7,11	17,3284	< 0,03	< 0,0731	89,69
4	37,80	0,9863	6,98	17,0130	< 0,03	< 0,0731	88,06
5	37,80	0,9861	7,11	17,5520	< 0,03	< 0,0731	89,71
6	37,80	0,9861	7,11	17,3392	< 0,03	< 0,0731	89,70
7	37,80	0,9862	7,05	17,1829	< 0,03	< 0,0731	89,94
8	37,80	0,9862	7,05	17,1808	< 0,03	< 0,0731	88,93
9	37,80	0,9863	6,98	17,0109	< 0,03	< 0,0731	88,05
10	37,80	0,9863	6,98	17,0102	< 0,03	< 0,0731	88,05
11	35,95	0,9868	6,65	16,1196	< 0,03	< 0,0727	87,73
12	35,95	0,9867	6,72	16,3303	< 0,03	< 0,0729	88,91
13	35,95	0,9868	6,65	16,1528	< 0,03	< 0,0728	87,91
14	36,22	0,9864	6,92	16,8017	< 0,03	< 0,0728	90,76
15	36,22	0,9865	6,85	16,6318	< 0,03	< 0,0728	89,84
16	36,22	0,9865	6,85	16,6318	< 0,03	< 0,0728	89,84
17	35,90	0,9867	6,72	16,3161	< 0,03	< 0,0728	88,92
18	35,90	0,9863	6,98	16,9474	< 0,03	< 0,0728	92,56
19	35,90	0,9865	6,85	16,6318	< 0,03	< 0,0728	90,64
20	35,92	0,9864	6,92	16,8017	< 0,03	< 0,0728	91,52
21	35,92	0,9865	6,85	16,6318	< 0,03	< 0,0728	90,59
22	35,92	0,9864	6,92	16,8017	< 0,03	< 0,0728	91,52
Médias	36,3163					0,0729	89,53
C.V. (%)	2,51					0,20	1,47

O tratamento 6 (meio semi-sintético) foi introduzido também como tratamento testemunha, por ser um meio de fermentação praticamente isento de inibidores e Substâncias Redutoras Não Fermentáveis.

A comparação das médias relativas aos parâmetros: Peso de Redutores Residuais, Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão, Relação Percentual entre Substâncias Redutoras Residuais e Açúcares Totais, e Fração Não Determinada de Açúcares (assimilados ou convertidos em produtos não analisados) no vinho, são apresentados na Tabela 7.

A análise estatística aplicada as médias dos Pesos das Substâncias Redutoras Residuais mostrou um valor de F significativo ao nível de 1% para os tratamentos. Pela aplicação do teste de Tukey verificou-se haver diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade entre a média do tratamento 5 (hidrólise empregando HCl e aquecimento por 1 hora) e as demais. Entre a média do tratamento 4 (H_2SO_4 e aquecimento por 1 hora) e as médias dos tratamentos 1 e 2 (respectivamente Testemunha e Adição de ácido sulfúrico), verificou-se significância ao nível de 5% de probabilidade. Contudo, a comparação das médias dos tratamentos 1, 2 e 3 (Testemunha, H_2SO_4 e HCl) indicou que as possíveis diferenças foram devidas puramente ao acaso.

A análise estatística é apresentado também na Tabela 7.

Embora estatisticamente não tenha havido diferença significativa entre os tratamentos 1, 2 e 3, observou-se pela Tabela 7 que houve um gradiente crescente de Substâncias Redutoras

TABELA 7 - Médias comparativas dos parâmetros: Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão, Relação RR/AT (%) e FND (%).

Tratamentos	P A R Â M E T R O S				
	R.R.(g)	EF (%)	EC (%)	RR/AT(%)	FND (%)
1	1,4123C	89,58A	93,00A	3,73	6,69
2	1,4245C	89,99A	93,28A	3,80	6,21
3	1,4914BC	88,14A	91,80A	3,94	7,92
4	1,7089B	86,83A	90,98A	4,52	8,65
5	2,1493A	81,43B	86,43B	5,68	12,89
6	<0,0729	89,53	89,58	0,20	10,27
F Trat.	21,64**	19,23**	11,20**	-	-
F Blocos	6,25**	13,16**	9,25**	-	-
DMS (Tukey 5%)	0,2861	3,25	3,45	-	-
DMS (Tukey 1%)	0,3411	4,01	4,27	-	-

R.R.(g) = Substâncias Redutoras Residuais.

E.F.(%) = Eficiência Fermentativa

E.C.(%) = Eficiência de Conversão

RR/AT(%) = Substâncias Redutoras Residuais/Açúcares totais

FND(%) = Fração Não Determinada de açúcares (assimilados ou convertidos em produtos não analisados).

Residuais do tratamento 1 ao 5.

O tratamento 6 (meio semi-sintético) mostrou que o teor de Substâncias Redutoras Residuais foi inferior a 0,073g, o que representa menos que 0,03% vinho, após 24 horas de fermentação.

O tratamento 1 (Testemunha), apresentou após as 24 horas de fermentação 1,4123g de Substâncias Redutoras Residuais, ou seja, cerca de 0,58% no vinho que são possivelmente constituídas de Substâncias Redutoras Não Fermentáveis acrescidas de uma fração residual de Açúcares Fermentáveis.

Observou-se ainda que os mostos submetidos a tratamentos hidrolíticos considerados brandos, ainda assim proporcionaram teores ligeiramente superiores à Testemunha, e entre os tratamentos com ácido sulfúrico e clorídrico, verificou-se que o residual foi maior quando o agente hidrolítico foi o ácido clorídrico.

Tratamentos hidrolíticos mais enérgicos, como os tratamentos 4 e 5, visando a possível hidrólise de polissacarídeos, levaram a um considerável aumento de Substâncias Redutoras Residuais da ordem de 21,0 a 52,2%, sendo o maior percentual correspondente ao tratamento com ácido clorídrico, o que foi concorde com OKANO & KOSAKA (1958), segundo os quais as maiores quantidades de HCl promovem aumentos das Substâncias Redutoras Não Fermentáveis nos vinhos.

O aparecimento de Substâncias Redutoras Residuais dessa ordem pode ter sido em consequência da formação de Substân-

cias Redutoras Não Fermentáveis que segundo TAUFEL & BURMEISTER (1949) podem ser substâncias como diacetil (acetona), furfural, hidroximetil furfural e metil glioxal, formadas em função dos tratamentos realizados, ou ainda terem sido formadas substâncias inibidoras da fermentação e, como consequência, os teores residuais encontrados serem a somatória de novas Substâncias Redutoras mais açúcares não fermentados.

Dessa forma, observou-se que a possível ampliação dos teores de açúcares do meio através de tratamentos ácidos não se mostrou vantajosa, uma vez que o aumento das Substâncias Redutoras Residuais pareceu compensar os possíveis acréscimos ocorridos e ainda retardar a fermentação ou reduzir o açúcar redutor disponível à produção de álcool.

Observando-se a Eficiência Fermentativa sob o ponto de vista estatístico verificou-se um valor de F significativo ao nível de 1% para os tratamentos. A aplicação do teste de Tukey mostrou haver diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade apenas entre o tratamento 5 e os demais. Entretanto, como no caso das Substâncias Redutoras Residuais, os tratamentos hidrolíticos mais enérgicos (tratamentos 4 e 5) parecem influir decisivamente na Eficiência Fermentativa, sendo mais pronunciado o efeito quando o agente da hidrólise é o ácido clorídrico, como ficou evidenciado pela própria análise estatística.

Idênticas considerações podem ser feitas em relação à Eficiência de Conversão.

Em relação ao tratamento 6 (Tabela 6), verificou-se que os valores de Eficiência Fermentativa e Eficiência de Conversão são praticamente iguais, uma vez que o Peso de Substâncias Redutoras Residuais é praticamente desprezível.

Comparando os tratamentos 1 (Testemunha) e 6 (Testemunha empregando meio semi-sintético), em relação a Eficiência Fermentativa, observou-se que os valores são da mesma grandeza, contudo, quando se comparou esses mesmos tratamentos quanto a Eficiência de Conversão, notou-se que houve uma Conversão de açúcar em álcool, superior a 3% para o tratamento 1. Esta diferença pode ser explicada possivelmente em função da constituição dos meios. Assim, um meio mais completo pode ter contribuído para a formação de maior massa celular e outros componentes secundários, como no tratamento 6. No tratamento 1 uma possível inibição de crescimento pode ter gerado maior Eficiência de Conversão. Para MAIORELLA *et alii* (1983) alguns ácidos orgânicos como o ácido acético e o fórmico causam inibição do crescimento pela interferência química no transporte de fosfato através da membrana. Assim, diante da escassez de ATP, a célula passa a assimilar mais açúcar para compensar a necessidade de ATP, gerando, nessas condições, menos células porém com aumento de produção de álcool. Embora a produção ou conteúdo de ácidos não tenha sido determinada, não é descartada a hipótese de que tal fato tenha ocorrido entre esses tratamentos.

No que se refere à relação RR/AT (%) pode-se observar que mesmo no tratamento 1 (Testemunha) as Substâncias Redutoras

Residuais representaram 3,73% do Açúcar Total e cujo valor tendeu a aumentar com o rigor dos tratamentos, sendo sempre maior para os tratamentos com ácido clorídrico, chegando a representar 5,68%

Pela diferença entre os Açúcares Totais do mosto e a somatória de RR/AT (%) e Eficiência Fermentativa (%), obteve-se a fração FND (Fração Não Determinada), representada provavelmente por açúcar convertido em massa celular, componentes secundários da fermentação e Substâncias Não Redutoras formadas durante os tratamentos empregados e mesmo no transcorrer do processo fermentativo.

Ainda, em relação a esse parâmetro observou-se que a tendência do aumento da Fração Não Determinada acompanhou as observações efetuadas para o parâmetro RR/AT (%), indicando a possível formação conjunta de Compostos Não Redutores simultaneamente à formação de Compostos Redutores Não Fermentáveis. Para o tratamento 6, a Fração Não Determinada foi da ordem de 10,27% e a possível explicação já foi dada quando da discussão desse tratamento quanto à Eficiência de Conversão.

4.2. Hidrólise Enzimica

Os dados dos experimentos com hidrólise enzimica, cujos tratamentos seguem:

- Tratamento 1 - Testemunha;
- Tratamento 7 - Adição simples de alfa-amilase;
- Tratamento 8 - Adição simples de amiloglicosidase;
- Tratamento 9 - Adição simples de alfa-amilase e amiloglicosidase;
- Tratamento 10 - Testemunha absoluta;
- Tratamento 11 - Condições controladas I;
- Tratamento 12 - Adição de alfa-amilase e amiloglicosidase sob condições controladas I;
- Tratamento 13 - Adição de alfa-amilase sob condições controladas II;
- Tratamento 14 - Adição de alfa-amilase sob condições controladas III;
- Tratamento 15 - Adição de amiloglicosidase sob condições controladas IV;

se encontram nas Tabelas 8 a 32.

Para análise dos resultados de fermentação com mostos tratados com enzimas, adotou-se o seguinte esquema:

a) Comparação entre as fermentações realizadas com adição simples de alfa-amilase, adição simples de amiloglicosidase, adição simples de ambas e tratamento testemunha.

A realização dos ensaios supra-citados, deveu-se a pos

sibilidade de que uma, outra ou ambas enzimas pudessem ter uma atividade compensadora em relação à testemunha, ainda que fora das condições preconizadas para a hidrólise de polissacarídeos (amido) para as quais foram especificamente produzidas. Esta hipótese se confirmada, e dependendo da amplitude dos possíveis ganhos seria o tratamento indicado pela maior viabilidade técnica, operacional e econômica, ou seja, aquela que possibilitasse maior relação custo/benefício.

Os resultados obtidos na comparação desses tratamentos (7 a 10) são apresentados nas Tabelas 8 a 11.

A comparação das médias dos parâmetros Pesos de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa (%), Eficiência de Conversão (%), Relação RR/AT (%) e Fração Não Determinada de açúcares assimilados ou convertidos em produtos não analisados (FND %), no vinho, são apresentados na Tabela 12.

Observando-se a Tabela 12 para Substâncias Redutoras Residuais, verificou-se que seus teores foram inferiores aos observados na Tabela 7, mesmo em relação à Testemunha (Tratamento 1) em virtude de ter-se utilizado de novas partidas de melão de diferentes origens.

Analisando-se estatisticamente os dados referentes aos tratamentos 7, 8, 9 e 10, no que se refere às médias de Substâncias Residuais obteve-se valor de F para tratamentos significativo ao nível de 1% de probabilidade.

A aplicação do teste de Tukey indica que os tratamentos com alfa-amilase e amiloglicosidase, e o tratamento

TABELA 8 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão hidrolizado enzimicamente com alfa-amilase.

T R A T A M E N T O 7										
Repetições	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20 ^o /4 ^o C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de redutores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)		
1	37,7295	0,9862	7,05	17,2457	0,34	0,8317	89,43	91,49		
2	37,7295	0,9861	7,11	17,3697	0,34	0,8306	90,08	92,15		
3	37,7325	0,9861	7,11	17,2668	0,34	0,8304	90,05	92,13		
4	37,0544	0,9865	6,85	16,7845	0,35	0,8576	88,63	90,77		
5	37,0574	0,9865	6,85	16,7749	0,35	0,8571	88,57	90,71		
6	37,0544	0,9865	6,85	16,7770	0,35	0,8568	88,59	90,73		
7	36,8294	0,9863	6,98	17,0549	0,33	0,8063	90,60	92,68		
8	36,8279	0,9863	6,98	17,0647	0,33	0,8067	90,66	92,74		
9	36,8250	0,9863	6,98	17,0772	0,33	0,8073	90,73	92,81		
Médias	37,2044					0,8316	89,70	91,80		
C.V. (%)	1,09					2,62	1,03	0,97		

TABELA 9 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão hidrolizado enzimicamente com amilglicosidase.

T R A T A M E N T O 8									
Repetições	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de redutores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	37,7265	0,9859	7,25	17,7588	0,34	0,8328	92,10	94,22	
2	37,7265	0,9859	7,25	17,7414	0,33	0,8075	92,01	94,07	
3	37,7250	0,9859	7,25	17,7335	0,33	0,8071	91,97	94,03	
4	37,0574	0,9861	7,11	17,4465	0,35	0,8588	92,12	94,34	
5	37,0574	0,9863	6,98	17,1149	0,34	0,8336	90,36	92,48	
6	37,0500	0,9861	7,11	17,4266	0,34	0,8333	92,03	94,19	
7	36,8279	0,9862	7,05	17,2576	0,33	0,8078	91,68	93,79	
8	36,8308	0,9862	7,05	17,2605	0,33	0,8079	91,69	93,79	
9	36,8308	0,9863	6,98	17,1058	0,33	0,8087	90,87	92,95	
Médias	37,2036					0,8219	91,65	93,76	
C. V. (%)	1,08					2,25	0,68	0,67	

TABELA 10 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão hidrolizado enzimicamente com alfa-amilase e amiloglucosidase.

T R A T A M E N T O 9										
Repetições	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20 ^o /4 ^o C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de redutores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)		
1	37,7380	0,9861	7,11	17,4962	0,34	0,8366	90,74	92,83		
2	37,7280	0,9860	7,18	17,6678	0,34	0,8366	91,62	93,74		
3	37,7280	0,9860	7,18	17,6613	0,33	0,8117	91,59	93,64		
4	37,0544	0,9863	6,98	17,2043	0,35	0,8626	90,84	93,04		
5	37,0514	0,9863	6,98	17,2001	0,35	0,8624	90,82	93,02		
6	37,0559	0,9863	6,98	17,2015	0,35	0,8625	90,82	93,02		
7	36,8250	0,9863	6,98	17,1728	0,34	0,8365	91,24	93,40		
8	36,8208	0,9863	6,98	17,1777	0,34	0,8367	91,25	93,41		
9	36,8294	0,9863	6,98	17,1791	0,33	0,8112	91,26	93,36		
Médias	37,2034					0,8396	91,13	93,27		
C.V. (%)	1,10					2,38	0,37	0,33		

TABELA 11 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão.

TRATAMENTO 10 - TESTEMUNHA ABSOLUTA									
Repetições	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20 ^o /4 ^o C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de redutores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	37,7325	0,9861	7,11	17,3235	0,32	0,7796	89,82	91,77	
2	37,7310	0,9860	7,18	17,4675	0,33	0,8031	90,62	92,64	
3	37,7280	0,9861	7,11	17,2936	0,33	0,8026	89,68	91,33	
4	37,0514	0,9863	6,98	17,0325	0,34	0,8296	89,94	92,05	
5	37,0500	0,9863	6,98	17,0242	0,34	0,8292	89,90	92,01	
6	37,0514	0,9863	6,98	17,0109	0,34	0,8286	89,83	91,94	
7	36,8294	0,9863	6,98	17,0032	0,33	0,8038	90,39	92,40	
8	36,8294	0,9865	6,85	16,6955	0,33	0,8043	88,70	90,73	
9	36,8250	0,9863	6,98	17,0046	0,33	0,8039	90,34	92,42	
Médias	37,2031					0,8094	89,91	91,92	
C.V. (%)	1,10					2,06	0,61	0,64	

TABELA 12 - Médias comparativas dos parâmetros: Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão, Relação RR/AT (%) e FND (%)

Tratamentos	P A R Â M E T R O S				
	R.R. (g)	EF (%)	EC (%)	RR/AT(%)	FND (%)
7	0,8316AB	89,70B	91,80A	2,24	8,06
8	0,8219B	91,65A	93,76B	2,21	6,13
9	0,8396A	91,13AB	93,27A	2,26	6,61
10	0,8094C	89,91B	91,92A	2,18	7,91
F Trat.	16,90**	9,83*	10,32**	-	-
F Blocos	51,32**	1,74NS	1,19NS	-	-
DMS (Tukey 5%)	0,0122	1,469	1,492	-	-
DMS (Tukey 1%)	0,0254	2,108	2,140	-	-

R.R. (g) = Substâncias Redutoras Residuais

E.F. (%) = Eficiência Fermentativa

EC (%) = Eficiência de Conversão

RR/AT(%) = Substâncias Redutoras Residuais/Açúcares Totais

FND (%) = Fração Não Determinada de açúcares (assimilados ou convertidos em produtos não analisados).

com adição simples de alfa-amilase apresentaram médias significativamente superiores ao nível de 1% de probabilidade do tratamento Testemunha absoluta (Tratamento 10), sendo que o primeiro foi significativamente diferente, ao mesmo nível de probabilidade do tratamento com adição simples de amiloglicosidase. Entre os tratamentos com amiloglicosidase e Testemunha absoluta foi detectada diferença significativa com probabilidade ao nível de 5%.

Apesar de ter-se encontrado diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, a diferença entre a testemunha absoluta (Tratamento 10) e o tratamento com ambas enzimas (Tratamento 9) foi de apenas 3,74%, o que representa, em relação ao Açúcar Total, somente 0,08%. Assim, em função da ordem de grandeza observada torna-se difícil afirmar que as diferenças verificadas foram devidas exclusivamente aos tratamentos.

Se, entretanto, tal fato se verificou, é lícito esperar-se que maior teor de Substâncias Redutoras sejam realmente encontradas após tratamento com as citadas enzimas, pois suas ações sobre os polissacarídeos, ou o amido presente, podem resultar em Compostos Redutores onde uma fração pode ser fermentável (BAILEY & CLARK, 1959; BAILEY *et alii*, 1961; BOURNE *et alii*, 1962 e PFIZER, 1979).

Observando-se as Eficiências Fermentativas e de Conversão verificou-se um comportamento semelhante quando da aplicação da análise estatística. Encontrou-se, para ambos, valores de F significativos ao nível de 1% de probabilidade. Assim, a aplicação do teste de Tukey mostrou haver diferenças significativas

tivas entre as médias dos tratamentos 8 e 9 (adição de amiloglicosidase e adição de ambas) dos tratamentos 7 e 10 (adição de alfa-amilase e Testemunha absoluta). Não foram verificadas diferenças significativas entre as médias dos tratamentos 7, 9 e 10.

As mesmas observações efetuadas em relação às Substâncias Redutoras Residuais cabem também em relação às Eficiências, uma vez que o teor de amido em cana de açúcar é da ordem de 30,55 mg/100 ml de caldo, segundo CESAR *et alii* (1978) e a hidrólise parcial deste poderia resultar em ligeiro acréscimo de tais parâmetros mesmo que possa ocorrer proporcionalmente um acréscimo de Substâncias Redutoras.

A relação RR/AT (%) reflete as situações analisadas nos itens anteriores desta Tabela.

Observando-se a Fração Não Determinada verificou-se que o Tratamento 7 (com alfa-amilase) e a Testemunha apresentaram valores muito próximos diferenciando ainda que pouco, dos tratamentos 8 e 9 (respectivamente com amiloglicosidase e ambas), também muito próximos. É possível que a presente diferença decorreu em função do acréscimo de etanol como consequência da hidrólise do amido, o que reduziria aparentemente a Fração Não Determinada, sem entretanto significar uma alteração no comportamento metabólico.

b) Comparação dos resultados de fermentação entre os tratamentos 1, 10 e 11, ou seja: (1) Testemunha com pH corrigido a 5,0; (10) Testemunha absoluta, sem correção de pH (6,0 - 6,3) e (11) Tratamento sem adição de enzimas, porém, com correção de pH a 6,8, Tratamento térmico a 50°C, ajuste de pH a 5,0 e novo Tratamento térmico a 50°C. As condições descritas para o tratamento 11 encontram-se em Material e Métodos no item 3.4.6. e foram denominadas condições controladas I. Tais condições seguem a metodologia indicada para a hidrólise do amido pelo emprego das enzimas alfa-amilase e amiloglicosidase segundo a PFIZER (1979).

Os resultados experimentais obtidos estão representados nas Tabelas 13 a 15.

A comparação dos resultados médios dos Tratamentos 1, 10 e 11 se encontram na Tabela 16. Analisando-se estatisticamente os dados, verifica-se a obtenção de valor de F para tratamentos não significativo. Portanto, as diferenças observadas devem ser casuais. Neste caso, é de se supor que nem as fermentações realizadas com mostos a diferentes níveis de pH, nem os tratamentos térmicos prévios tiveram influência sobre os teores de Substâncias Redutoras Residuais. Segundo SHICHIJI & MISONO (1954) o aquecimento de melação a 100°C por 2 horas ou por 30 minutos a 1,0 kg/cm² de pressão, sem adições de ácidos, são suficientes para promover decréscimo nos teores de Substâncias Redutoras Não Fermentáveis, através da liberação de frutose ao meio, a qual se achava combinada anteriormente.

TABELA 13 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão com pH corrigido a 5,0.

T R A T A M E N T O 1 - T E S T E M U N H A										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20 ^o /4 ^o C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Paso de reduores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	5,03	36,3500	0,9872	6,39	16,4152	0,32	0,8220	88,36	90,40	
2	5,04	36,3514	0,9872	6,39	16,4440	0,32	0,8234	88,51	90,56	
3	5,08	36,3485	0,9376	6,13	16,5593	0,31	0,8379	89,18	91,29	
4	5,05	36,2572	0,9868	6,65	16,9442	0,34	0,8663	91,44	93,67	
5	5,04	36,2543	0,9868	6,65	17,0173	0,34	0,8700	91,84	94,10	
6	5,00	36,2543	0,9868	6,65	17,0738	0,34	0,8729	92,14	94,42	
7	5,00	36,5029	0,9868	6,45	16,9239	0,35	0,9169	90,71	93,05	
8	5,03	36,5000	0,9868	6,52	16,9076	0,35	0,9076	90,63	92,94	
9	4,88	36,5102	0,9869	6,52	17,2114	0,35	0,9239	92,24	94,63	
Médias		36,3698					0,8712	90,56	92,78	
C.V. (%)		0,30					4,45	1,86	1,77	

TABELA 14 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melaço.

TRATAMENTO 10 - TESTEMUNHA ABSOLUTA										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanól no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de redutores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	6,06	36,3539	0,9870	6,52	16,4388	0,32	0,8068	88,47	90,52	
2	6,05	36,3470	0,9871	6,46	16,3612	0,32	0,8104	88,07	90,08	
3	6,05	36,3500	0,9870	6,52	16,2263	0,32	0,7963	87,34	89,29	
4	6,22	36,2587	0,9868	6,65	16,5565	0,34	0,8464	89,74	91,48	
5	6,22	36,2572	0,9868	6,65	16,6316	0,34	0,8503	89,94	91,91	
6	6,22	36,2529	0,9870	6,52	16,8509	0,33	0,8528	90,94	93,14	
7	6,20	36,5058	0,9868	6,65	16,8637	0,37	0,9382	90,38	92,77	
8	6,20	36,5102	0,9868	6,65	16,9461	0,37	0,9428	90,81	93,22	
9	6,20	36,5102	0,9869	6,59	16,8796	0,35	0,8964	90,46	92,74	
Médias		36,3716					0,8601	89,50	91,68	
C.V. (%)		0,30					6,37	1,19	1,57	

TABELA 15 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão submetido à correção de pH a 6,8 e aquecimento por 70°C por 30 minutos; redução de pH a 5,0 e aquecimento a 50°C por 30 minutos (Condições Controladas II).

T R A T A M E N T O 11										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de reduzores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	4,99	36,3500	0,9872	6,39	16,5590	0,32	0,8292	89,13	91,21	
2	5,08	36,3529	0,9876	6,13	16,6472	0,31	0,8418	89,59	91,72	
3	5,06	36,3543	0,9874	6,26	16,7749	0,31	0,8307	90,25	92,39	
4	5,01	36,3558	0,9875	6,20	16,6656	0,31	0,8332	89,68	91,4	
5	5,00	36,3514	0,9875	6,20	16,5912	0,33	0,8830	89,30	91,15	
6	5,02	36,3514	0,9874	6,26	16,3216	0,33	0,8604	87,85	89,98	
7	4,99	36,3529	0,9879	5,94	16,5601	0,32	0,8921	89,14	91,37	
8	5,01	36,3558	0,9878	6,00	16,7082	0,32	0,8911	89,93	92,18	
9	5,03	36,3558	0,9877	6,07	16,9195	0,32	0,8919	91,06	93,35	
Médias		36,3526					0,8615	89,55	91,68	
C.V. (%)		0,006					3,27	0,98	1,02	

TABELA 16 - Médias comparativas dos parâmetros Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão, RR/AT (%) e FND (%).

Tratamentos	P A R Â M E T R O S				
	R.R. (g)	EF (%)	EC (%)	RR/AT(%)	FND (%)
1	0,8721	90,56	92,78	2,40	7,04
10	0,8601	89,50	91,68	2,36	8,14
11	0,8615	89,55	91,68	2,37	8,08
F Trat.	0,407NS	1,03NS	1,00NS	-	-
F Blocos	22,27**	2,72NS	2,93NS	-	-

RR(g) = Substâncias Redutoras Residuais

EF(%) = Eficiência Fermentativa

EC(%) = Eficiência de Conversão

RR/AT(%) = Relação Redutores Residuais/Açúcares Totais

FND (%) = Fração Não Determinada de açúcares convertidos em produtos não analisados.

Entretanto, como os tratamentos efetuados não foram da ordem dos experimentos de SHICHIJI & MISONO (1954), é possível que nenhuma interferência tenha sido detectada nos parâmetros experimentais estudados.

A aplicação da análise estatística aos dados de Eficiência Fermentativa e Eficiência de Conversão, forneceu valores de F para tratamentos, não significativos.

A observação dos dados médios desses parâmetros constantes à Tabela 16 mostram que realmente são muito próximos, existindo, entretanto, uma diferença de cerca de 1% em ambos os parâmetros (EF% e EC%) a favor do tratamento 1, em relação aos demais. Se tal diferença não for casual, tal conclusão estaria de acordo com os dados obtidos por WILKINSON & ROSE (1963), que afirmam existir diferença de produtos formados em fermentações conduzidas a diferentes pH (de 3 a 7), mantidos constantes.

A relação RR/AT (%) mostra que foi praticamente constante para qualquer dos tratamentos, reforçando as afirmações anteriores. Também, a FND(%) - Fração Não Determinada pode ser interpretada da mesma forma que os parâmetros anteriormente discutidos. Se houver diferença entre o tratamento 1 e os demais, a explicação mais provável seria aquela descrita por WILKINSON & ROSE (1963).

c) Comparação dos resultados de Fermentação entre os tratamentos 1, 10 e 12, respectivamente: (1) e (10) como descritos em b e (12) tratamento com alfa-amilase e amiloglicosí

dase dentro das condições descritas em b e denominadas condições controladas I. A repetição dos tratamentos 1 e 10 se deve ao fato de se constituir em experimento independente.

Os resultados experimentais obtidos estão apresentados nas Tabelas 17 a 19.

A comparação dos resultados médios dos tratamentos 1, 10 e 12 se encontra na Tabela 20.

Analisando-se estatisticamente os dados, para Substâncias Redutoras Residuais, obteve-se valor de F para tratamentos significativo ao nível de 5% de probabilidade. Pela aplicação do teste de Tukey encontrou-se apenas diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre as médias dos tratamentos 12 e 10, sendo que nas demais comparações não se verificou diferenças significativas. Todavia, observa-se que se diferença houve, esta se verificou entre o tratamento 12 e os demais e que, o próprio experimento anterior (b) já houvera revelado não haver diferenças entre os tratamentos 1 e 10. No caso presente, o maior valor de Substâncias Redutoras Residuais corresponde ao tratamento com as duas enzimas em conjunto. Se esta diferença realmente se deve à ação das enzimas, então possivelmente terá ocorrido desdobramento de polissacarídeos em frações redutoras fermentáveis e não fermentáveis, o que estaria de acordo com a PFIZER (1981a), em cujas citações se encontra, entre outros, compostos como dextrinas.

Pe-la análise estatística dos dados de Eficiência Fer-

TABELA 17 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão com pH corrigido a 5,0.

T R A T A M E N T O 1										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de reduores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	5,00	35,7307	0,9870	6,52	16,8092	0,33	0,8507	92,06	94,29	
2	5,03	35,7264	0,9870	6,52	16,7035	0,33	0,8454	91,48	93,69	
3	5,04	35,7307	0,9871	6,46	16,6797	0,33	0,8520	91,35	93,57	
4	5,03	37,2059	0,9868	6,65	16,8311	0,32	0,8099	88,52	90,48	
5	5,04	37,2014	0,9868	6,65	17,7932	0,32	0,8080	88,32	90,28	
6	5,03	37,2000	0,9868	6,65	16,8597	0,32	0,8112	88,68	90,65	
7	4,96	36,5543	0,9870	6,52	16,7766	0,32	0,8233	89,81	91,86	
8	4,96	36,5514	0,9872	6,39	16,6881	0,32	0,8357	89,34	91,42	
9	4,96	36,5543	0,9870	6,52	16,7459	0,32	0,8218	89,65	91,69	
Médias		36,4950					0,8287	89,91	91,99	
C.V. (%)		1,75					2,14	1,55	1,64	

TABELA 18 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão.

TRATAMENTO 10 - TESTEMUNHA ABSOLUTA										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de reduores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	6,22	35,7264	0,9869	6,59	16,4374	0,34	0,8480	90,02	92,21	
2	6,24	35,7292	0,9869	6,59	16,4315	0,33	0,8228	89,99	92,10	
3	6,23	35,7264	0,9869	6,59	16,4967	0,33	0,8260	90,35	92,48	
4	6,24	37,2029	0,9870	6,52	16,4603	0,32	0,8078	86,57	89,49	
5	6,24	37,2044	0,9867	6,72	16,5802	0,32	0,7895	87,20	89,08	
6	6,25	37,2044	0,9868	6,65	16,5172	0,32	0,7948	86,87	88,76	
7	6,14	36,5587	0,9868	6,65	16,6130	0,33	0,8244	88,94	90,96	
8	6,16	36,5529	0,9869	6,59	16,5362	0,32	0,8029	88,52	90,50	
9	6,16	36,5616	0,9869	6,59	16,5633	0,32	0,8042	88,67	90,53	
Médias		36,4963					0,8134	88,57	90,58	
C. V. (%)		1,75					2,26	1,61	1,69	

TABELA 19 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão submetidos às condições controladas I com adições de alfa-amilase e amiloglucosidase.

T R A T A M E N T O 12										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Pesc de redutores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	5,06	35,7264	0,9876	6,13	17,1082	0,32	0,8930	93,70	96,10	
2	5,04	35,7278	0,9870	6,52	17,0973	0,33	0,8653	93,64	95,95	
3	5,05	35,7292	0,9870	6,52	17,1645	0,34	0,8950	94,01	96,41	
4	5,04	37,2014	0,9873	6,33	17,2245	0,31	0,8435	90,59	92,69	
5	5,04	37,2074	0,9872	6,39	17,3891	0,31	0,8436	91,46	93,56	
6	5,04	37,2014	0,9874	6,26	17,1451	0,31	0,8490	90,18	92,28	
7	5,05	36,5558	0,9871	6,46	17,0466	0,31	0,8180	91,26	93,33	
8	5,06	36,5558	0,9872	6,39	17,0728	0,31	0,8282	91,40	93,50	
9	5,05	36,5514	0,9870	6,52	17,2349	0,31	0,8194	92,26	94,37	
Médias		36,4952					0,8506	92,05	94,24	
C.V. (%)		1,76					3,38	1,54	1,64	

TABELA 20 - Médias comparativas dos parâmetros: Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão, RR/AT (%) e FND (%).

Tratamentos	P A R Â M E T R O S				
	RR (g)	EF (%)	EF (%)	RR/AT(%)	FND (%)
1	0,8287AB	89,91B	91,99B	2,27	7,82
10	0,8134B	88,57C	90,58C	2,23	9,20
12	0,8506A	92,05A	94,24A	2,33	5,62
F Trat.	9,32*	252,30**	257,47**	-	-
F Blocos	12,03*	206,23**	223,36**	-	-
DMS (Tukey 5%)	0,0308	0,39	0,41	-	-
DMS (Tukey 1%)	0,0497	0,51	0,52	-	-

RR (g) = Substâncias Redutoras Residuais.

EF (%) = Eficiência Fermentativa.

EC (%) = Eficiência de Conversão

RR/AT(%) = Relação Redutores Residuais/Açúcares Totais.

FND (%) = Fração Não Determinada de açúcares convertidos em produtos não analisados.

mentativa e Eficiência de Conversão, verifica-se a obtenção de valores de F para tratamentos significativos ao nível de 1% de probabilidade. Assim, a aplicação do teste de Tukey mostrou haver diferenças significativas, entre as médias dos tratamentos 1, 10 e 12, sendo que a maior ocorreu para o tratamento 12, seguida pelo tratamento 1 e posteriormente pelo tratamento 10.

Se a interpretação estatística dos dados estiver correta então novamente poder-se-á atribuir a diferença ao enfoque dado por WILKINSON & ROSE (1963) ao menos para os tratamentos 1 e 10.

É possível ainda que fatores alheios ao controle do experimento possam ter influenciado para que tais diferenças ocorressem. Talvez por esta razão, dificilmente se encontre na literatura aplicações de modelos estatísticos para discussão de dados de Eficiências Fermentativas e de Conversão. Em relação ao tratamento 12 (Tratamento com alfa-amilase e amiloglicosidase sob condições controladas I), pode ter ocorrido um ganho de Eficiência em função da atividade das enzimas, o que, entretanto, não pode ser taxativamente afirmado, pois não foram analisados os teores de polissacarídeos antes e depois da fermentação.

Como os parâmetros em estudo não ficam claramente estabelecidos, em função dos modelos estatísticos aplicados, é de se propor que mais investigações sejam realizadas por bio-estatísticos, para aplicação nessa área.

A relação RR/AT (%) é um reflexo do que já foi discu-

tido para as Substâncias Redutoras Residuais.

A FDN (%), Fração Não Determinada, foi obviamente menor para o tratamento 12, uma vez que as Eficiências Fermentativas e de Conversão foram superiores possivelmente em função do acréscimo de Substâncias Redutoras Fermentáveis não computadas na análise do Açúcar Total inicial.

A diferença entre os tratamentos 1 e 10 ocorrida, se não foi devida a fatores externos não controlados, pode ser atribuída aos fatores já comentados no item b.

d) Comparação dos resultados de Fermentação entre os tratamentos 1, 10 e 13 respectivamente: (1) e (10) como descritos em b e (13) tratamento com emprego de alfa-amilase com prévios ajustes de pH a 6,8 e temperatura a 70°C, além de posterior correção do pH a 5,0. As condições descritas para o tratamento 13, se encontram em Material e Métodos no item 3.4.7. e foram denominadas de condições controladas II.

Os resultados experimentais obtidos estão nas Tabelas 21 a 23. A comparação dos resultados médios encontra na Tabela 24.

A aplicação da análise estatística aos dados de Substâncias Redutoras Residuais obteve-se valor de F para tratamentos significativo ao nível de 1% de probabilidade. Pelo teste de Tukey verificou-se diferenças significativas entre as três médias, de forma que o maior valor ocorreu para o tratamento 13, seguida pelo tratamento 1 e posteriormente pelo tratamento 10.

TABELA 21 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão com pH corrigido a 5,0.

T R A T A M E N T O 1										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de redutores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	5,00	35,4000	0,9874	6,26	16,0963	0,33	0,8485	88,96	91,15	
2	5,00	35,4070	0,9872	5,39	16,4280	0,33	0,8483	90,78	93,01	
3	5,00	35,3985	0,9870	6,52	16,7668	0,33	0,8486	92,67	94,95	
4	5,00	36,1250	0,9867	6,72	17,2092	0,33	0,8450	93,21	95,44	
5	6,00	36,1235	0,9870	6,52	16,7929	0,33	0,8499	90,96	93,15	
6	5,00	36,1250	0,9858	6,65	17,5187	0,33	0,8693	94,88	97,22	
7	5,00	36,7125	0,9874	6,26	16,9358	0,34	0,9198	90,26	92,58	
8	5,01	36,7154	0,9870	6,52	16,8854	0,34	0,8805	89,98	92,19	
9	5,03	36,7169	0,9868	6,65	16,9528	0,34	0,8672	90,39	92,58	
Medias		36,00804					0,8641	91,34	93,58	
C. V. (%)		1,58					2,80	2,04	2,03	

TABELA 22 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão.

TRATAMENTO 10 - TESTEMUNHA ABSOLUTA										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de reduzores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	6,20	35,4000	0,9873	6,83	16,6406	0,33	0,8040	91,97	94,11	
2	6,20	35,4028	0,9870	6,83	16,6378	0,33	0,8038	91,95	94,09	
3	6,20	35,2985	0,98610	7,11	16,3501	0,33	0,7588	90,37	92,35	
4	6,15	36,1250	0,9872	6,39	15,5820	0,33	0,8047	84,39	86,32	
5	6,15	36,1264	0,9872	6,39	15,5832	0,33	0,8047	84,40	86,32	
6	6,15	36,1278	0,9863	6,98	17,0214	0,33	0,8047	92,18	94,28	
7	6,24	36,7183	0,9870	6,52	15,8866	0,36	0,8771	84,65	86,72	
8	6,24	36,7154	0,9868	6,65	16,1974	0,35	0,8524	86,32	88,37	
9	6,24	36,7154	0,9868	6,65	16,1907	0,36	0,8764	86,28	88,39	
Médias		36,0699					0,8207	88,06	90,10	
C. V. (%)		1,63					4,81	3,96	3,93	

TABELA 23 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão submetido à correção de pH a 6,8 com solução de NaOH 1 N, aquecimento a 70°C por 30 minutos com alfa-amilase (sob condições controladas II).

T R A T A M E N T O 13										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de reduzores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	5,00	35,4042	0,9868	6,65	17,3132	0,34	0,8851	95,68	98,13	
2	5,00	35,4056	0,9877	6,07	16,4751	0,33	0,8956	91,04	93,41	
3	5,00	35,4056	0,9869	6,59	17,5630	0,33	0,8794	97,05	99,53	
4	5,00	36,1235	0,9875	6,20	17,2229	0,32	0,8889	93,32	95,64	
5	5,05	36,1250	0,9872	6,39	17,1136	0,33	0,8838	92,69	95,01	
6	5,04	36,1278	0,9870	6,52	16,9089	0,33	0,8558	91,57	93,79	
7	5,00	36,7125	0,9874	6,26	16,6159	0,34	0,9024	88,55	90,78	
8	4,98	36,7139	0,9880	5,87	17,0740	0,32	0,9307	90,99	93,36	
9	5,00	36,7139	0,9879	5,94	17,1077	0,32	0,9216	91,17	93,52	
Médias		36,1924					0,8937	92,45	94,79	
C.V. (%)		1,57					2,52	2,81	2,81	

TABELA 24 - Médias comparativas dos parâmetros: Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, RR/AT (%) e FND (%).

Tratamentos	P A R Â M E T R O S				
	RR (%)	EF (%)	EC (%)	RR/AT(%)	FND(%)
1	0,8641B	91,34A	93,58A	2,39	6,27
10	0,8207C	88,06B	90,10B	2,27	9,69
13	0,8937A	92,45A	94,80A	2,47	5,08
F Trat.	50,36**	11,26**	12,12**	-	-
F Blocos	18,68**	10,49**	10,18**	-	-
DMS (Tukey 5%)	0,0205	2,42	2,49	-	-
DMS (Tukey 1%)	0,0265	3,13	3,22	-	-

RR (g) = Substâncias Redutoras Residuais

EF (%) = Eficiência Fermentativa

EC (%) = Eficiência de Conversão

RR/AT(%) = Relação Redutores Residuais/Açúcares Totais

FND (%) = Fração Não Determinada de açúcares convertidos em produtos não analisados.

Contudo, observando - se os valores médios, verifica - se que a mesma interpretação dada no item c cabe igualmente neste experimento.

Pela análise estatística aplicada aos dados de Eficiência Fermentativa e Eficiência de Conversão, verificou-se serem os valores de F para tratamentos significativos ao nível de 1% de probabilidade. Pelo teste de Tukey constatou-se diferenças significativas apenas entre o tratamento 10 (menor valor) e os tratamentos (1) e (13).

Novamente as tendências observadas na Tabela 23 não diferem do experimento anterior (item c). Ao tratamento 13 (com tratamentos prévios e adição de alfa-amilase) correspondem as maiores médias. Também, a relação RR/AT (%) e FND (%), Fração Não Determinada, foram praticamente equivalentes às médias do experimento anterior (item c).

e) Comparação dos resultados de Fermentação entre os tratamentos 1, 10 e 14, respectivamente: (1) e (10) como descritos em b e (14) tratamento com alfa-amilase antecedido de correção do pH a 6,8 com solução de NH_4OH 10% e da temperatura a 70°C e posterior correção do pH a 5,0. As condições descritas para o tratamento 14 se encontram em Material e Métodos no item 3.4.8. e foram denominadas de condições controladas III.

A introdução desse tratamento deveu-se a verificação de possíveis efeitos negativos do hidróxido de sódio e paralelamente o efeito do NH_4^+ utilizado na neutralização, posterior

mente como nutriente na fermentação.

Os resultados experimentais obtidos estão apresentados nas Tabelas 25 a 27. A comparação dos resultados médios se encontra na Tabela 28.

Analisando estatisticamente os dados verificou-se a obtenção de valores de F significativos ao nível de 1% de probabilidade. A aplicação do teste de Tukey mostrou haver diferença significativa apenas em relação ao tratamento 14 e os demais (1 e 10). O valor médio obtido para o tratamento 14 foi o mais elevado entre todos os experimentos realizados a partir do item b. É possível que o aquecimento após neutralização com NH_4OH tenha levado à produção de maiores quantidades de Substâncias Redutoras Residuais.

Pela análise estatística dos dados de Eficiência Fermentativa e Eficiência de Conversão obteve-se valores de F não significativos.

Como no ensaio anterior (item d), novamente o tratamento com enzima superou os demais tratamentos. Entretanto, as Eficiências obtidas no presente experimento foram pouco menores que as obtidas para os tratamentos enzimáticos analisados até o momento. Se esta diferença corresponder a um decréscimo de álcool, certamente terá sido em função da formação de produtos secundários, entre os quais se inclui a massa celular líquida resultante do maior teor de NH_4^+ .

A relação RR/AT (%) também apresentou o maior valor

TABELA 25 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão com pH corrigido a 5,0.

T R A T A M E N T O										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	% Etanol vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de redutores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	5,00	36,5029	0,9868	6,46	16,9239	0,35	0,9169	90,71	93,05	
2	5,03	36,5000	0,9868	6,52	16,9076	0,35	0,9076	90,63	92,94	
3	4,88	36,5102	0,9869	6,52	17,2114	0,35	0,9239	92,24	94,63	
4	5,03	36,3500	0,9872	6,39	16,4152	0,32	0,8220	88,36	90,40	
5	5,04	36,3514	0,9872	6,39	16,4440	0,32	0,8234	88,51	90,56	
6	5,08	36,3485	0,9876	6,13	16,5593	0,31	0,8379	89,18	91,29	
7	5,05	36,2572	0,9868	6,65	16,9442	0,34	0,8663	91,44	93,67	
8	5,04	36,2543	0,9868	6,65	17,0173	0,34	0,8700	91,84	94,10	
9	5,00	36,2543	0,9868	6,65	17,0738	0,34	0,8729	92,14	94,42	
Médias		36,3698					0,8712	90,56	92,78	
C. V. (%)		0,30					4,45	1,69	1,77	

TABELA 26 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão.

TRATAMENTO 10 - TESTEMUNHA ABSOLUTA										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de redutores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	6,20	36,5058	0,9868	6,65	16,8637	0,37	0,9382	90,38	92,77	
2	6,20	36,5102	0,9868	6,65	16,9461	0,37	0,9428	90,81	93,22	
3	6,20	36,5102	0,9869	6,59	16,8796	0,35	0,8964	90,46	92,74	
4	6,06	36,3529	0,9870	6,52	16,4388	0,32	0,8068	88,47	90,52	
5	6,05	36,3470	0,9871	6,46	16,3612	0,32	0,8104	88,07	90,08	
6	6,05	36,3500	0,9870	6,52	16,2263	0,32	0,7963	87,34	89,29	
7	6,22	36,2587	0,9868	6,65	16,5565	0,34	0,8464	89,34	91,48	
8	6,22	36,2572	0,9868	6,65	16,6316	0,34	0,8503	89,74	91,98	
9	6,22	36,2529	0,9870	6,52	16,8509	0,33	0,8528	90,94	93,14	
Medias		36,3717					0,8601	89,50	91,69	
C.V. (%)		0,30					6,36	1,44	1,57	

TABELA 27 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão submetido a correção do pH a 6,8 com solução de NH_4OH 10%; aquecimento a 70°C por 30 minutos com alfa-amilase (Condições Controladas III).

T R A T A M E N T O 14										
Repetições	pH mosto	Peso de mosto (g)	Densidade dos destilados ($20^\circ/4^\circ\text{C}$)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de reduzores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	4,91	36,5102	0,9874	6,26	17,1987	0,36	0,9890	92,17	94,73	
2	4,94	36,5014	0,9874	6,26	17,0559	0,36	0,9808	91,42	93,95	
3	4,94	36,5043	0,9870	6,52	16,8672	0,37	0,9571	90,41	92,84	
4	4,94	36,5116	0,9872	6,39	17,0932	0,37	0,9897	91,60	94,15	
5	4,96	36,5058	0,9879	5,94	17,0448	0,35	1,0043	91,35	93,94	
6	4,94	36,5131	0,9870	6,52	17,2897	0,36	0,9546	92,65	95,13	
7	4,97	36,5029	0,9874	6,26	16,9589	0,35	0,9481	90,90	92,32	
8	4,98	36,5102	0,9875	6,20	17,0642	0,34	0,9357	91,45	93,85	
9	4,99	36,5131	0,9876	6,13	16,9850	0,34	0,9420	91,01	93,42	
Médias		36,5011					0,9668	91,44	93,92	
C. V. (%)		0,01					2,53	0,73	0,75	

TABELA 28 - Médias comparativas dos parâmetros: Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, RR/AT (%) e FND (%).

Tratamentos	P A R Â M E T R O S				
	RR (g)	EF (%)	EC (%)	RR/AT(%)	FND(%)
1	0,8712B	90,56	92,78	2,40	7,04
10	0,8601B	89,50	91,69	2,36	8,14
14	0,9668A	91,44	93,92	2,59	5,97
F Trat.	8,47*	2,25NS	2,48NS	-	-
F Blocos	3,07NS	1,79NS	1,79NS	-	-
DMS (Tukey 5%)	0,0930	-	-	-	-
DMS (Tukey 1%)	0,0717	-	-	-	-

RR (g) = Substâncias Redutoras Residuais

EF (%) = Eficiência Fermentativa

EC (%) = Eficiência de Conversão

RR/AT(%) = Relação Redutores Residuais/Açúcares Totais

FND(%) = Fração Não Determinada de açúcares convertidos em produtos não analisados.

para o tratamento com enzima e o menor valor para a Testemunha absoluta, embora tais diferenças sejam pequenas a ponto de não serem detectadas pela análise estatística.

A FND (%) - Fração Não Determinada - segue a mesma tendência dos experimentos anteriores.

f) Comparação dos resultados de fermentação entre os tratamentos 1, 10 e 15, respectivamente: (1) e (10) como descrito em b e (15) tratamento com amiloglicosidase antecedido de correção do pH a 5,0 e da temperatura a 50°C. As condições descritas para o tratamento 15 se encontram em Material e Métodos no item 3.4.9. e foram denominadas de condições controladas IV.

Os resultados experimentais obtidos estão apresentados nas Tabelas 29 a 31. A comparação dos resultados médios se encontra na Tabela 32.

Analisando estatisticamente os dados de Substâncias Redutoras Residuais verificou-se obtenção de valor de F para tratamentos significativos ao nível de 1% de probabilidade. A aplicação do teste de Tukey mostrou uma diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre a média correspondente ao tratamento 15 e as demais. Entre as médias dos tratamentos 1 e 10, não foi detectada diferença significativa.

A aplicação da análise estatística aos dados de Eficiência Fermentativa e Eficiência de Conversão proporcionou comportamentos semelhantes. Assim, para ambos, encontrou-se valores de F, para tratamentos, significativos res-

TABELA 29 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melaço com pH corrigido a 5,0.

T R A T A M E N T O 1										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de reduzores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	5,02	36,5014	0,9870	6,52	17,0009	0,35	0,9126	91,13	93,47	
2	5,04	36,5029	0,9868	6,65	17,0473	0,35	0,8972	91,37	93,68	
3	5,05	36,5043	0,9868	6,65	16,8897	0,35	0,8889	90,53	92,78	
4	5,04	36,5073	0,9868	6,65	16,9302	0,35	0,8910	90,73	93,00	
5	4,99	36,5000	0,9870	6,52	16,9885	0,35	0,9119	91,07	93,40	
6	4,92	36,5043	0,9868	6,65	16,9522	0,35	0,8922	90,86	93,14	
7	5,09	35,7307	0,9870	6,52	16,8229	0,35	0,8514	92,12	94,37	
8	4,99	35,7250	0,8970	6,52	16,4102	0,35	0,8305	89,87	92,01	
9	5,03	35,7264	0,9870	6,52	16,9233	0,28	0,7267	92,68	94,60	
Médias		36,2447								
C.V. (%)		1,07								

TABELA 30 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão.

TRATAMENTO 10 TESTEMUNHA ABSOLUTA										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20 ^o /4 ^o C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de redutores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	6,26	36,5043	0,9865	6,85	16,7592	0,36	0,8307	89,92	92,05	
2	6,17	36,5029	0,9863	6,98	17,0731	0,35	0,8561	91,51	93,71	
3	6,20	36,5029	0,9864	6,92	16,9284	0,36	0,8206	90,74	92,98	
4	6,29	36,5043	0,9865	6,85	16,7489	0,36	0,8802	89,77	91,99	
5	6,29	36,5073	0,9864	6,92	16,9187	0,36	0,8801	90,67	92,91	
6	6,25	36,5029	0,9865	6,85	16,7482	0,36	0,8802	89,77	91,99	
7	6,22	35,7335	0,9866	6,78	16,9290	0,33	0,8239	92,69	94,88	
8	6,22	35,7307	0,9868	6,65	16,6782	0,33	0,8276	91,33	93,49	
9	6,22	35,7307	0,9868	6,65	16,7686	0,33	0,8321	91,82	94,00	
Médias		36,2466					0,8602	90,90	93,11	
C. V. (%)		1,06					2,97	1,13	1,08	

TABELA 31 - Dados de Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão e Substâncias Redutoras Residuais em mosto de melão submetido à correção do pH a 5,0; aquecimento a 50°C por 30 minutos com amilglicosidase (Condições Controladas IV).

T R A T A M E N T O 15										
Repetições	pH mosto	Peso de AT no mosto (g)	Densidade dos destilados (20°/4°C)	Etanol % vinho (p/p)	Peso de etanol no vinho (g)	Redutores residuais % vinho (p/p)	Peso de reduzores residuais (g)	Eficiência Fermentativa (%)	Eficiência de Conversão (%)	
1	5,05	36,5014	0,9865	6,85	17,5134	0,35	0,8948	93,87	96,23	
2	5,05	36,5054	0,9870	6,52	17,2369	0,35	0,9252	92,38	94,78	
3	5,06	36,5029	0,9872	6,39	17,3802	0,35	0,9518	93,16	95,65	
4	5,04	36,5043	0,9872	6,39	17,1233	0,35	0,9378	91,78	94,20	
5	5,06	36,5029	0,9869	6,59	17,2789	0,35	0,9177	92,62	95,00	
6	5,05	36,5000	0,9867	6,72	17,2523	0,36	0,9242	92,48	94,88	
7	5,02	36,7350	0,9870	6,52	17,1769	0,32	0,8430	94,05	96,32	
8	5,06	35,7264	0,9865	6,85	17,6093	0,32	0,8226	96,44	98,71	
9	5,07	35,7321	0,9873	6,33	17,3056	0,31	0,8475	94,76	97,06	
Médias		36,3567					0,8961	93,50	95,87	
C.V. (%)		1,00					5,22	1,55	1,45	

TABELA 32 - Médias comparativas dos parâmetros: Peso de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa, Eficiência de Conversão, RR/AT (%) e FND (%).

Tratamentos	P A R Â M E T R O S				
	RR (g)	EF (%)	EC (%)	RR/AT(%)	FND(%)
1	0,8669B	91,15B	93,38B	2,39	6,46
10	0,8602B	90,90B	93,11B	2,37	6,73
15	0,8961A	93,50A	95,87A	2,47	4,03
F Trat.	5,89**	2,16*	31,51**	-	-
F Blocos	34,64**	12,40*	10,77**	-	-
DMS (Tukey 5%)	0,0281	0,96	0,96	-	-
DMS (Tukey 1%)	0,0363	1,24	1,24	-	-

RR (g) = Substâncias Redutoras Residuais

EF (%) = Eficiência Fermentativa

EC (%) = Eficiência de Conversão

RR/AT(%) = Relação Redutores Residuais/Açúcares Totais

FND(%) = Fração Não Determinada de açúcares convertidos em produtos não analisados.

pectivamente ao nível de 5% e de 1%.

A aplicação do teste de Tukey indicou haver diferença significativa apenas quando da comparação entre a média do tratamento 15 e qualquer outra das demais.

Para a relação RR/AT (%) e FND(%) - Fração Não Determinada, seguem as mesmas tendências dos experimentos anteriores.

Comparando todos os tratamentos dentro desta série experimental denominada Hidrólise Enzimica verifica-se que de um modo geral aos tratamentos com enzimas correspondem sempre um valor maior de Substâncias Redutoras Residuais após 24 horas de fermentação. Embora, à primeira vista, um aumento no teor de Substâncias Redutoras Residuais possa levar a concluir que tenha havido menor aproveitamento dos Açúcares Totais, no presente caso provavelmente o acréscimo se deva ao desdobramento de polissacarídeos em frações fermentáveis e não fermentáveis, de tal modo que a fração não fermentável final seja a soma das frações não fermentáveis existentes no melaço acrescida da resultante da hidrólise de polissacarídeos. É importante lembrar que o Açúcar Redutor Total, em função da metodologia empregada não inclui os polissacarídeos presentes. Desse modo, como o total de Açúcares Fermentáveis disponível as leveduras está aumentado é possível que se obtenha maior quantidade de etanol. Aliás, o emprego de enzimas hidrolíticas à matérias primas contendo polissacarídeos está justamente baseada nestes princípios (BRUIJN & JENNINGS, 1968; PFIZER, 1979, 1981a e 1981b).

O que foi exposto anteriormente pode ser observado

as Tabelas 12, 20, 24, 28 e 32, que aos maiores teores de Substâncias Redutoras Residuais, obviamente também corresponde aos maiores valores da relação RR/AT (%) e aos maiores parâmetros de Eficiência Fermentativa e de Conversão.

Do mesmo modo, as maiores Eficiências corresponderam às menores FND (%).

Observando-se os valores de Eficiências Fermentativas e de Conversão entre os tratamentos com adição simples e com prévio tratamento, nota-se que em relação às testemunhas houve um pequeno acréscimo para os tratamentos com adição simples e pouco mais acentuado para os com tratamento prévio antes da adição da enzima.

Entre as enzimas utilizadas, conquanto as diferenças em termos de resultados sejam muito pequenas, a adição de amiloglicosidase unicamente parece ser superior à alfa-amilase isolada ou combinada com amiloglicosidase. É possível que o tratamento combinado (Tratamento 12) tenha sofrido influência do duplo aquecimento (70 e 50°C) após os ajustes de pH (6,8 e 5,0) não levando à obtenção das melhores médias, como era de se esperar.

5. CONCLUSÕES

Os resultados dos experimentos conduzidos no presente trabalho permitiram as seguintes conclusões:

- A hidrólise em mostos de melão com o emprego de ácido sulfúrico e de ácido clorídrico não produziram qualquer alteração sobre os teores de substâncias Redutoras Residuais.

- Os tratamentos hidrolíticos descritos não tiveram influências sobre as Eficiências de Fermentação e de Conversão.

- A hidrólise com ácido sulfúrico e clorídrico e aquecimento em refluxo por 1 hora promoveu aumento do teor de Substâncias Redutoras Residuais.

- As condições supra-citadas levaram à obtenção de Eficiências Fermentativa de Conversão inferiores a Testemunha.

- A adição simples das enzimas alfa-amilase e amilo-glicosidase promoveram aumento das Substâncias Redutoras Residuais.

- A aplicação de enzimas com tratamentos prévios envolvendo aquecimento e pH resultaram em acréscimos variáveis dos teores de Substâncias Redutoras Residuais, Eficiência Fermentativa e Eficiência de Conversão.

- Os maiores acréscimos médios percentuais corresponderam aos tratamentos com amiloglicosidade isolada ou combinada com alfa-amilase.

6. LITERATURA CITADA

ABOU EL ELA, A. & A.Z.A. LETIEF, 1982. Estudos químicos sobre substâncias reductoras no fermentables en la Industria Azucarera Egipcia. *Sugar y Azucar*. New Jersey, 77: 72-79.

ALFA LAVAL, A.B., 1982. Cheaper production of industrial alcohol. *The South African Sugar Journal*. Durban, 66: 395-397.

ARAÚJO, N.Q.; D. GIACOMO & D. PARREIRA, 1961. Estudos sobre melão de cana e outros. *Brasil Açucareiro*. Rio de Janeiro, 314: 97-106.

AYALA, H.G.; D.B. LIMPIAS; A. DELFINI & C.A. GARGIULO, 1978. Action of some bactericides on raw sugar cane juice. *Proceedings of 16th International Congress of Society Sugar Cane Technologists*. São Paulo, 2909-2924.

BAILEY, R.W. & R.T.J. CLARKE, 1959. A bacterial dextranase *Biochemical Journal*. Liverpool, 72: 49-53.

BAILEY, R.W.; O.H. HUTSON; H. WEIGEL, 1961. The action of a *Lactobacillus bifidus* dextranase on a branched dextran. *Biochemical Journal*. Liverpool, 80: 514-519.

- BENNETT, M.C. & N.O. SCHIMIDT, 1959. Starch in cane juice clarification. *The International Sugar Journal*. London, 61: 295-298.
- BOGDANOV, S.A., 1967. Kinetics of dextran hidrolisis. *Pishcn. Prom. Mezhved. Resp. Nauch-Tekh.* (s.1) 5: 25-33 (Citado em *Tate & Lyley's Sugar Industry Abstracts*, 30(11): 180, 1968.
- BOSE, S. & L. SINGH, 1981a. Polarimetric Estimation of dextran in sugar house products. Part I - Studies with technical sugar solutions. *Indian Sugar*. Calcutta, 30: 585-588.
- BOSE, S. & L. SINGH, 1981b. Problems associated with dextran the major microbiological cause for sucrose loss and their remedies. *Indian Sugar*. Calcuttā, 31: 603-608.
- BOURNE, E.J.; D.H. HUTSON & H. WEIGEL, 1963. Studies on dextrans and dextranases. *Biochemical Journal*. Liverpool., 86: 555-562.
- BOURNE, E.J.; D.H. HUTSON & H. WEIGEL, 1962. Studies on dextrans and dextranases. *Biochemical Journal*. Liverpool, 85: 158-163.
- BROWNE, C.A., 1938. Síntese, qualidade e constância do melão de cana. *Brasil Açucareiro*. Rio de Janeiro, 1: 46-50.
- BRUIJN, J., 1966a. Deteriotation of sugar cane after harvesting. Part I - Change in juice composition. *The International Sugar Journal*. London, 68: 331-334.
- BRUIJ, J., 1986b. Deterioration of sugar cane after harvesting. Part II - Investigation of the polisaccharide formed. *The International Sugar Journal*. London, 68: 356-358.

- BRUIJN, J., 1970. Deterioration of sugar cane after harvesting. Part III - Enzymatic hydrolysis of the polisaccharide formed. *The International Sugar Journal*. London, 72: 195-198.
- BRUIJN, J. & R.P. JENNINGS, 1968. Enzymatic hydrolysis of starch in cane juice. *Proceedings of the South African Sugar Technologists Association*, Durban-South African, 45-50.
- CESAR, M.A.A. & M.R. MAZZARI, 1972. O teor de amido em função do estágio de maturação da cana. *Brasil Açucareiro*. Rio de Janeiro, 80: 54-57.
- CESAR, M.A.A.; E.R. OLIVEIRA & M.R. MAZZARI, 1974. Níveis de amido em cana de açúcar. *Brasil Açucareiro*. Rio de Janeiro, 83: 349-399.
- CESAR, M.A.A.; A.A. DELGADO & L.C. GABAN, 1978. Aumento do nível de amido e de potássio no caldo de cana decorrente da aplicação sistemática de vinhaça ao solo. *Brasil Açucareiro*. Rio de Janeiro, 92: 24-29.
- CHOPPED CANE deterioration research continues (1969). *The Australian Sugar Journal*. Brisbane, 60: 529-531.
- CLARKE, M.A.; E.J. ROBERTS; M.A. GODSHALL; M.A. BRANNAN; F.G. CARPENTER & E.E. COOL, 1980. Perdida de sacarosa en la fabricación de la caña de azúcar. *Sugar y Azucar*. New Jersey, 75: 70-78.
- DARIAS, M.; I. VALENTIN & C. HERNANDEZ, 1977. Mono-saccharides by hydrolysis of the colloidal fraction in cane sugar manufacture. ATAC - *Asociación Tecnológica Azucar Cuba*. Havana, 36: 57-65.

- EGAN, B. T., 1971. *Post harvest deterioration of sugar cane*. Brisbane, Sugar Experiment Station Board. 32p.
- FORSYTH, H.G.C. & D. M. WEBLEY, 1950. The reducing sugars liberated during the bacterial synthesis of polysaccharides from sucrose. *The Journal of General Microbiology*. Cambridge, 4:87-91.
- GERONIMOS, G. & P. F. GREENFIELD, 1978. An enzymatic technique for the detection of dextran in cane juice and production of viscosity increases. *The International Sugar Journal*. London, 80:227-232.
- GRANDCHAMP-CHAUDUM, A. & M. T. MOREAU, 1951. Comparison of the hydrolysis of maltose and sucrose by dilute acids. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences*. Paris, 233:1222-1224.
- GRANDCHAMP-CHAUDUM, A., 1956. Sur l'influence des sels neutres dans l'hydrolyse des sucres par les acides étendus. I - Action des chlorures alcalins sur l'inversion du saccharose par l'acide chlorhydrique. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences*. Paris, 242:690-692.
- GRANDCHAMP-CHAUDUM, A., 1965. Influence des sels neutres sur l'hydrolyse des glucides par les acides étendus. Action des chlorures autres que les chlorures alcalins sur l'hydrolyse du saccharose par l'acide chlorhydrique. *Comptes Rendus Hebdomadaires des seances de l'Academie des Sciences*. Paris, 260: 6723-6725.
- GUPTA, A.P. & S. P. SHUKLA, 1970. Potash fertilization of sugar cane. II - Effect of potash manuring on the chemical composition of cane juice. *Proceeding of 37th Convention of Sugar Technology Association of India*, Kanpur, 31-35.

- GUZMAN, B., 1978. Polarimetric analysis in the sugar Industry-Influence of clarifying agents and of polysaccharides on the polarization of cane juices and molasses. *Proceedings of 16th Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists*, São Paulo, 2897-2909.
- HEIDT, L.J.; F.W. SOUTHAM & E.A. SULLIVAN; 1952. Autocatalysed hydrolysis of sucrose by acid. *Journal American Chemical Society*, Easton, 74: 2377-2378 (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 14(6): 97, 1952).
- HEINZ, L., 1950. Attempts to determine the sugar in molasses utilizable by yeast. *Mitt. Versuchsanstalt Carungsgewerbe*. (s.l.): 68-71 (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 12(10): 207, 1950).
- HIDI, P.; J.S. KENIRY; V.C. MAHONEY & N.H. PATON, 1974. Observations on the occurrence and nature of polysaccharide in sugar canes. *Proceedings of the 15th Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists*. Durban, 3: 13-29.
- HONIG, P., 1969. *Princípios de Tecnologia Azucareira*. 1ª edição, México, Compañía Editorial Continental S.A., 3 volumes.
- HORII, J., 1980. Características Gerais das Leveduras: Classificação, Morfologia, Citologia, Reprodução e Fisiologia. In: I Seminário sobre Tecnologia e Economia do Alcool, Piracicaba-SP, Secretaria da Indústria e Comércio, p.27-35.
- HORII, J.; STUPIELLO, J.P.; MARQUES, M.O. & TORTELLI, M., 1985. Aplicação de alguns métodos oxiredutimétricos para determinação de açúcares redutores em aparelho ebulliostático (em publicação).
- HOUSSIAU, A., 1948. Unfermentable compounds in cane sugar molasses. In: VII Congress Int. des Ind. Agric., (s.l.), 1, p.39 (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 10(8): 90, 1948).

- HSIEH, P. T.; Y. H. LIAU & Y. L. YOW, 1955. Studies on the gummy substances in Taiwan cane molasses. I - Precipitation of gummy substances at various pH and identification of sugars and amino acids in the gummy substances by paper chromatography. *Journal Chinese Chem. Society*, (s.l.), 2:154-162 (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 18(11):182, 1956)
- INGRAM, M.; D. A. A. MOUSSEL & P. LANGE, 1955. Factors produced in sugar acid browning reactions which inhibit fermentation. *Chem. & Ind.*, (s.l.), 63-64 (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 17(2):36, 1955).
- IRVINE, J.E., 1981. Origenes del campo de dextran y de otras substâncias que afectan la cristalización de la sacarosa. *Sugar y Azúcar*, New Jersey, 76:129-131.
- JANICKI, J. & A. SKWARA, 1950. Effect on pH and some of the chemical constituents on the content of unfermentable reducing substances in molasses. *Przemysł Rolny i spożywczy*, (s.l.), 4:338-342 (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 13(8-9):124, 1951).
- KENIRY, J.S.; J. B. LEE & C. W. DAVIS, 1967. Determination of mechanically harvested chopped-up cane. Part I - Dextran - A promising quantitative indicator of the processing quality of chopped-up cane. *The International Sugar Journal*. London, 69:330-333.
- KREGER-VAN RIJ, N. J. W., 1974. Taxonomy and systematics of yeasts. In: ROSE, A. H. & J. S. HARRISON. *The Yeast*. 3^a edição, London, Academic Press, 5-78, volume 1.
- KRETZSCHMAR, H., 1961. Levaduras y alcoholes y otros productos de la fermentación. *Manual de la técnica de la fermentación incluyendo los aparatos correspondientes a las novas nor-*

- mas de analisis*. Barcelona, Editorial Reverté S.A., p.602.
- LANE, L.H. & L. EYNON, 1934. Determination of reducing sugars by Fehlings solution with metilene blue indicator, Norman Rodgers, London, p.8.
- LEONARD, G.J. & G.N. RICHARDS, 1969. Polysaccharides as causal agents in production of elongated sucrose crystals from cane juice. *The International Sugar Journal*, London, 71: 263-267.
- LIMA, U.A.; J.S. GOLDONI; M.P. CEREDA & L.G.S. SOUZA, 1974. Ocorrência de microrganismos em caldo bruto, misto e água de embebição em uma usina de açúcar de cana. *Brasil Açúcar - reiro*. Rio de Janeiro, 83: 21-27.
- LI SUI FONG, J.C. & G.T. MBAGA, 1982. A modified base-enzimic method of dextran determination. *The International Sugar Journal*. London, 84: 105-106.
- LOPEZ, M. & J.A. CREMATA, 1980. Determinación de dextrans en los jugos de cana. *Cuba Azucar*. Havana, (abril-junho): 3-10.
- MAIORELLA, B.; H.W. BLANCH & C.R. WILKE, 1983. By-product inhibition effects on ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology and Bioengineering*. New York, 25: 103-121.
- MATIC, M., 1981. Dextrans en el ingenio azucarera. *Sugar y Azucar*. New Jersey, 76: 131-132.
- MAUCH, W. & F. FARHOUDI, 1980. Quality factors in commercial white granulated sugar. *Sugar Technology Reviews*. Amsterdam, 7: 87-171.
- McCALIP, M.A. & H.H. HALL, 1938. Effect on factory cane juices and dirups of *Leuconostoc mesenteroides* isolated from frost damaged Louisiana sugar cane of the 1937 crop. *Proceedings of the 6th Congress of the International Society Sugar Cane Technologists*. Louisiana, 1986-1004.

- NICHOLSON, R.I. & M. HORSLEY, 1958. The removal of starch from cane juices. *The International Sugar Journal*. London, 60:260-267.
- NIZOVKIN, V.K. & I.Z. EMEL'YANOVA, 1969. Ebulioscopic method of determining reducing sugar. *Zhurn. Priklad. Klim*, 32, 2516-2521. Citado em *Sugar Journal* 8, August, 1960, 230.
- NOVAES, R. F., 1961. Técnicas e métodos para a análise do melão. In: Referetas e Seminários do Instituto Zimotécnico, USP, Piracicaba - SP, agosto:120-156.
- OKANO, K. & T. KOSAKA, 1958. Studies on the determination of sugars in molasses, especially on the comparison of the Bertrand method and the Lane method and determination of unfermentable reducing sugars, varying the condition of inversion. *Proceedings of Research Society Japan Sugar Refiners' Technology*. (s.l.), 7:51-64 (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 21(3): 48, 1959).
- OLBRICH, H., 1960. *O Melão*. (Tradução H. Serzedello); 3^a ed. Rio de Janeiro, Instituto do Açúcar e do Alcool, p. 153.
- PAYNE, J. H. & F. ZARPELON, 1976. Controle das perdas de sacarose nas usinas. In: Anais do IV Seminário da Agroindústria Açucareira; São Paulo, Copersucar, p. 425-430.
- PFIZER, 1978. *Determinação da potência da Alfa - Amilase pelo método B.A.U.* 001/78. p.6. Boletim Técnico.
- PFIZER, 1979. *Alfa P-1 e Amilo P-8. A obtenção de álcool da mandioca.* 004/79. p.12. Boletim Técnico.
- PFIZER, 1981a. *Alfa P-500 - Alfa-amilase.* 009/81. p.4. Boletim Técnico.
- PFIZER, 1981b. *Amila P-250 - Amiloglicosidase.* 010/81. p. 5.

Boletim Técnico.

- ROBERTS, E.J. & J. J. FRILLOUX, 1965. Determination of the soluble polysaccharides in sugar cane products. *Sugar y Azucar*. New Jersey, 60:66-67.
- ROBERTS, E.J. & M. A. GODSHALL, 1978. Identification and estimation of gluconic acid in endogenous sugar cane polysaccharide. *The International Sugar Journal*. London, 80:10-12.
- ROBERTS, E.J., 1981. Análises de dextran: Métodos y Problemas. *Sugar y Azucar*. New Jersey, 76:135-136.
- SAYED, G. EL.K; A. A. EL BADAWI & M. S. MOHAMED, 1972. Control of level in cane juice during sugar processing. *The Technology Bulletin Egyptian Sugar and Distillation Co. Sugar Cane Depto.* 42. 25p.
- SAYED, G.EL-K , A. A. EL BADAWI & M. S. MOHAMED, 1974. Cane juice Alfa Amylase. *Proceedings of XV Congress of International Society of Sugar Cane Technologists*. Durban, 1266-1276.
- SHICHIJI, S. & M. MISONO, 1954. Alcohol fermentation of molasses. I - Unfermented reducing substances in molasses. *Journal Agricultural Chemical Society of Japan*. (s.l.) 28: 217-223 (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 16(6):79, 1954.
- SMITH, P. B. & A. L. POLLARD, 1952. Chromatographic methods in the study of a polysaccharide. *Journal of Bacteriology*. Baltimore, 63:129-132.
- SPENCER, E. F. & G. P. MEADE, 1963. *Cane sugar. Handbook - a manual for cane sugar manufacturers and their chemists*. 9th ed. New York, John Wiley & Sons, Inc. p. 845.

- STUPIELLO, J. P., 1966. Viscosidade de soluções de sacarose. In: Seminários nº 2 - Instituto Zimotécnico "Prof. Jayme Rocha de Almeida". Piracicaba, p. 14.
- STUPIELLO, J.P., 1970. Esgotabilidade dos melaços. *Brasil Açucareiro*. Rio de Janeiro, 76:35-42.
- STURION, A. C. & J. P. STUPIELLO, 1973. Variação do teor de substâncias infermentescíveis no melão de cana. *Brasil Açucareiro*. Rio de Janeiro, 3:20-27.
- SULTANOV, A. S. & K. U. USMANOV, 1956. Quantitative hydrolysis of sucrose dextrin and starch by means of carbon dioxide. *Zhurn. Priklad. Khim.* (s.l.), 29:1726-1730 (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 19(2-3):39, 1957).
- SUTHERLAND, D. N. & N. PATON, 1969. Dextran and crystal elongation: Further experiments. *The International Sugar Journal*. London, 71:131-135.
- TAUFEL, K. & H. BURMEISTER, 1949. Behavior of sucrose in Technological process. I - Model experiments in acid solution. 2. *Anal. Chem.*, (s.l.), 129:352-365, (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 12(2), 75, 1950).
- TILBURY, R. H. 1971. Dextrans and dextranase. *Proceedings of the XIV Congress of the International Society of sugar cane Technologists*. New Orleans, october-november, 1444-1458.
- TILBURY, R.H., 1973. Occurrence and effects of lactic bacteria in the sugar industry. In CARR, J. G.; C. V. CUTTING; and G.C. WHITING. *Lactic acid bacteria in beverages and Food*. London, Academic Press, p. 177-191.
- TILBURY, R. H. & S. M. FRENCH, 1974. Further studies on enzi

matic hydrolysis of dextran in mill juice by dextranase and fungal alfa-amylase. *Proceedings of XV Congress of South Africa International Society of Sugar Cane Technologists*, Durban, June, 1277-1287.

TROEPOL'SKAYA, T.G. & A.V. ZUBCHENKO, 1978. Acid hydrolysis of sucrose in concentrated solutions. *Khlebopes. Konditer. Prom.* (s.l.), (8): 21-23 (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*. England, 42(10): 145, 1980).

TROEPOL&SKAYA, T.G. & A.V. ZUBCHENKO, 1979. Temperature regimes for invert syrup preparation. *Khlepoppek. Konditer. Prom.*, (s.l.), (7): 26-27. (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 42(10): 145, 1980).

TURVEY, J.R. & W.J. WHELAN, 1957. Preparation and characterization of the isomalto dextrans. *The Biochemica l Journal*. Liverpool, 67: 49-52.

VIGNES, E.C. & J.D.R. SAINT ANTOINE, 1965. Investigations on the removal of starch from cane juice. *Annual Report of Mauritius Sugar Industry Research Institute*. Mauritius, 123-127.

VIGNES, E.C. & M. RANDABEL, 1970. Further experiments with bacterial amylase for reducing the starch content of sugar products. *18th Annual Report of Mauritius Sugar Industry Research Institute*. Mauritius, 167-170.

VILELLA, G.G.; M. BACILA & H. TASTALDI, 1973. *Técnicas e Experimentos de Bioquímica*. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan, 552p.

- WILKINSON, J.F. & A.H. ROSE, 1963. *Biochemistry Industrial microorganisms*, Eds. C. Rainbow and A.H. Rose. Academic-Press, London, 379-414.
- WONG SAK HOI, Y.L., 1982. Gās-liquid chromatografic determination of fructose glicose and sucrose in cane sugar products. *The International Sugar Journal*. London, 84: 68-72.
- ZHELTUKHIN, D.V., 1953. The effect of concentration of glucose on its decomposition on heating in dilute sulphuric acid. *Zhum. Priklad. Khim.* (s.l.), 26:882-885 (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 16(3): 46, 1954).
- ZURCKER, K. & H. HADORN, 1977. Problem of the hydrolysis of sugars and glucose syrup with hydrochloric acid (sucrose inversion). *Mitt. Geb. Lebens nuttelunters Hyg.* (s.l.), 68: 200-212 (citado em *Tate & Lyle's Sugar Industry Abstracts*, 40(9): 125, 1978).