

Avaliação do processamento de três híbridos de milho na produção de etanol

Evaluation of the processing of three corn hybrids in ethanol production

Lucas Conegundes Nogueira¹, Osania Emericiano Ferreira², Giovanni Uema Alcantara³, Gustavo Henrique Gravatim Costa⁴

RESUMO: Com uma crescente demanda energética, o Brasil busca diversificar suas fontes de matéria-prima. Neste contexto, o milho torna-se uma importante fonte de produção energética, uma vez que é utilizado principalmente na produção do etanol combustível. Com isso, cabe considerar uma possível influência do tipo de híbrido utilizado, devido a diferença de produtividade de grãos durante o período de cultivo, podendo impactar diretamente na eficiência industrial/fermentativa. Portanto, o presente estudo avaliou os reflexos do processamento de três híbridos de milho na produção de etanol. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada tratamento. Os híbridos utilizados foram: Dekalb 636, Pioneer 3754 e Syngenta 8454. Os grãos foram triturados e imersos em água acidulada ($\text{pH} \approx 5,5$) na proporção de 250 g.L^{-1} , adição de enzima α -amilase (LpHera® Novozymes), submetidos a aquecimento por 1h (100°C). As pastas foram resfriadas a temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$), filtradas em peneira de 20 meshes, com o ajuste do Brix para 16% e pH para 4,5, originando o mosto. Os mostos foram inoculados com a levedura industrial TR (Thermo-Resistente), com a adição da enzima glucoamilase (LpHera® Novozymes). As fermentações foram mantidas em B.O.D. a 33°C , sendo avaliado o desenvolvimento fisiológico da levedura. Ao final do processo fermentativo ($\text{Brix} \leq 1\%$), as amostras foram centrifugadas, obtendo-se amostras de vinho. Para as pastas e mostos obtidos, foram avaliados os parâmetros de Brix, Açúcares Redutores Totais (ART), pH, Acidez Total, Compostos Fenólicos Totais e Amido. Para os vinhos, foram avaliados o teor de Brix, Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT), pH, Acidez Total, Amido, Glicerol e Teor Alcoólico. Através dos resultados obtidos, observou-se que para os híbridos Dekalb e Syngenta, o teor de Brix das amostras não obtiveram diferença significativa. Dentre os tratamentos, cabe destacar o índice de ART do híbrido Syngenta, os quais foram verificados valores na ordem de 14,6%, o dobro de ácidos orgânicos e maior teor de amido na pasta. Para o processo fermentativo, não foram verificadas diferenças significativas, considerando-se os três híbridos de milho. Quanto aos resultados do teor alcoólico e o glicerol, não houve diferença significativa entre os híbridos. Dessa forma, conclui-se que o processo fermentativo e a produção de etanol não são influenciadas pelos grãos de híbridos de milho processados. Porém, destacando-se o processo de hidrólise, foram verificadas diferenças significativas quanto a disponibilidade de açúcares fermentescíveis e amido, indicando significativo efeito do híbrido de milho utilizado.

Palavras-chave: Bioenergia. Fermentação. Hidrólise enzimática. *Saccharomyces cerevisiae*. *Zea mays*.

ABSTRACT: With a growing demand for energy, Brazil seeks to diversify its sources of raw materials. In this context, corn becomes an important source of energy production, since it is mainly used in the production of fuel ethanol. With this, it is worth considering a possible influence of the type of hybrid used, due to the difference in grain productivity during the cultivation period, which may directly impact industrial/fermentative efficiency. Therefore, the present study evaluated the reflexes of the processing of three corn hybrids in the production of ethanol. The experimental design was completely randomized, with four replications for each treatment. The hybrids used were: Dekalb 636, Pioneer 3754 and Syngenta 8454. The grains were crushed and immersed in acidified water ($\text{pH} \approx 5.5$) in the proportion of 250 g.L^{-1} , addition of α -amylase enzyme (LpHera® Novozymes), subjected to heating for 1 h (100°C). The pastes were cooled to room temperature ($25 \pm 3^\circ\text{C}$), filtered through a 20-mashe sieve, adjusting the Brix to 16% and the pH to 4.5, resulting in the must. The musts were inoculated with the industrial yeast TR (Thermo-Resistant), with the addition of the glucoamylase enzyme (LpHera® Novozymes). Fermentations were

¹ Mestrado em Ciências Ambientais pela Universidade do Estado de Minas Gerais, UEMG, Brasil.

² Universidade do Estado de Minas Gerais, UEMG, Brasil

³ Mestrado em Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais pela Universidade Estadual de Minas Gerais - Unidade Frutal, UEMG, Frutal (MG), Brasil.

⁴ Professor Assistente na Universidade Estadual de Minas Gerais (UEMG), Frutal (MG), Brasil.

maintained in B.O.D. at 33°C, and the physiological development of the yeast was evaluated. At the end of the fermentation process (Brix≤1%), the samples were centrifuged, obtaining wine samples. For the pastes and musts obtained, the parameters of Brix, Total Reducing Sugars (TRS), pH, Total Acidity, Total Phenolic Compounds and Starch were evaluated. For the wines, the Brix content, Total Residual Reducing Sugars (TRRS), pH, Total Acidity, Starch, Glycerol and Alcoholic Content were evaluated. Through the obtained results, it was observed that for the hybrids Dekalb and Syngenta, the Brix content of the samples did not obtain significant difference. Among the treatments, it is worth highlighting the TRS index of the Syngenta hybrid, which values of around 14.6% were verified, twice as much organic acids and higher starch content in the paste. For the fermentation process, no significant differences were verified, considering the three corn hybrids. As for the results of alcohol content and glycerol, there was no significant difference between the hybrids. Thus, it is concluded that the fermentative process and ethanol production are not influenced by grains of processed maize hybrids. However, highlighting the hydrolysis process, significant differences were verified, regarding the availability of fermentable sugars and starch, indicating a significant effect of the corn hybrid used.

Keywords: Bioenergy. Enzymatic hydrolysis. Fermentation. *Saccharomyces cerevisiae*. *Zea mays*.

Autor correspondente: Gustavo Henrique Gravatim Costa
E-mail: gustavo.costa@uemg.br

Recebido em: 16/03/2022
Aceito em: 12/04/2023

INTRODUÇÃO

Atualmente, o mercado de processamento do milho no Brasil apresenta um cenário promissor, com aumento da oferta de grãos e disponibilização de novos híbridos, o que resulta em produtos industrializados de alta tecnologia, qualidade e valor agregado (Pereira Filho; Borghi, 2022).

Neste contexto, destacam-se as agroindústrias que processam os grãos do milho para obtenção de etanol, óleo, xarope e DDG (*dried distillers grains*) (Iram *et al.*, 2020). Além disso, deve-se mencionar ainda, plantas industriais anexas às usinas canavieiras, as quais são denominadas “Usinas Flex”, sendo essas operadas na entressafra da cana-de-açúcar, obtendo-se etanol e DDG (*dried distillers grains*) (Alcantara *et al.*, 2020).

Estima-se que para a safra 2022/2023, a produção do etanol derivado do cereal será de 4,52 bilhões de litros, representando uma participação no mercado do biocombustível de 14,9% (CONAB, 2022).

Entretanto, a matéria-prima utilizada para produção de etanol provêm de cultivares/variedades/híbridos já utilizadas em território nacional. Atualmente, a escolha do híbrido inclui somente aspectos de campo, como o ciclo produtivo e produtividade em sacas/hectares (sc/ha) (Cruz *et al.*, 2021), não considerando o impacto da matéria-prima sobre os processos de industrialização (Pereira Filho; Borghi, 2022).

Sendo assim, com o desenvolvimento de novos materiais genéticos, torna-se necessário o estudo dos reflexos desses sobre a produção de etanol, observando o processo de hidrólise enzimática para conversão do amido em açúcares fermentescíveis e desempenho da levedura

submetida aos compostos presentes no grão, possibilitando a mensuração de rendimentos fermentativos e quantidade de etanol produzida por tonelada de milho processada (Lozano *et al.* 2020). Entre esses compostos, destacam-se os ácidos orgânicos, fenóis, aminoácidos, nitrogênio, entre outros; que podem estar presentes em concentrações diferentes, devido a variabilidade dos híbridos disponíveis (Mutton *et al.*, 2020).

Cabe destacar que a primeira etapa da industrialização do milho é o processo de trituração, no qual os grãos são reduzidos até granulometria inferior à 2mm. A seguir, esses são misturados com água acidulada (pH de 5,5) e aquecidos até ebulição; adicionando-se enzimas amilases com tempo de ação de, no mínimo, 30 minutos, convertendo o amido em derivados de glicose. O material derivado desse processo é denominado de pasta. Na sequência, o pH e a temperatura são ajustadas para 4,5 e 30°C, respectivamente, seguido de adição de enzima glucoamilase – material esse denominado de mosto, o qual será disponibilizado para a levedura. A quarta etapa do processamento é a fermentação, na qual todos açúcares serão convertidos em etanol por esse micro-organismo. A seguir, o mosto fermentado, também denominado de vinho, é submetido a processo de destilação para recuperação do etanol (Alcantara *et al.*, 2020).

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar os reflexos do processamento de grãos de três híbridos de milho para a produção de etanol.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Ciências Ambientais da Universidade do Estado de Minas Gerais, localizada no município de Frutal-MG, Brasil. Os grãos de milho foram obtidos em unidade produtora de Planura-MG (Longitude 20°02'19.8"S e Latitude 48°39'15.9"W), os quais foram colhidos mecanicamente no dia 08 de agosto de 2019, quando ~~estavam~~ estavam entre 120 e 150 dias de cultivo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por 3 híbridos de milho (Dekalb 636, Pioneer 3754 e Syngenta 8454), colhidos mecanicamente quando a umidade estava abaixo de 20%. A escolha dos híbridos foi em função de serem os mais plantados e cultivados nas áreas comerciais da região de Frutal-MG. Após a colheita, os grãos foram dispostos em estufa a 45° C por 10 dias, para igualar a umidade de todos em 15%.

A seguir, as amostras foram trituradas em triturador forrageiro, seguido de peneiramento até granulometria inferior a 2,00 mm. Os grãos triturados foram imersos em água

acidulada (pH 5,5) na proporção de 250 g.L⁻¹. No béquer foi dosado 0,05 mL da quantidade de enzima necessária para adiantar a “gelatinização” do amido (processo de liquefação), inibindo a solidificação da amostra, este material foi aquecido a 100° C por 1 hora, formando uma pasta. Na sequência, a pasta foi resfriada a 80-90°C e dosado 0,1mL de enzima permanecendo em agitação constante de 300 rpm. Em ambas as dosagens, foi dosado a enzima α -amilase(LpHera® Novozymes) na proporção de 300 KNU.g⁻¹ de amido, a fim de hidrolisar esse composto em moléculas de glicose (LNF, 2021; Nogueira *et al.*, 2017).

As pastas foram resfriadas a temperatura ambiente e filtradas em peneira de 20 meshes (Figura 1). O Brix foi quantificado e ajustado para 16% com água destilada, já o pH foi ajustado para 4,5 utilizando ácido sulfúrico 10N, originando o mosto.



Figura 1. Filtração da pasta após hidrólise

Os mostos foram inoculados com a levedura industrial TR (Thermo-Resistente da LNF) utilizada propriamente para fermentação de mostos de milho, na concentração de 10% do volume a ser fermentado (400 mL de mosto para 40 g de levedura) com a adição de 0,2 mL da enzima glucoamilase (AML 300L Novozymes) para sacarificar a amostra (LNF, 2021). As fermentações foram mantidas em B.O.D. (Biochemical oxygen demand) a 33°C.

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

Concluído o processo fermentativo (Brix \leq 1, ou estabilização na leitura de Brix em intervalo de 1 hora), foi realizada a centrifugação do material fermentado, a fim de separar

as leveduras do vinho.

Na pasta e no mosto, foram avaliados os seguintes parâmetros: %Brix, Açúcares Redutores Totais (ART), pH, Acidez Total (CTC, 2005), Compostos Fenólicos Totais (Folin; Ciocalteu, 1927) e Amido (Chavan *et al.* 1991). Para o vinho, avaliou-se o °Brix, Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT), pH, Acidez Total, Amido, Glicerol e Teor Alcoólico (CTC, 2005).

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância pelo teste F, e as médias comparadas segundo teste de Tukey (5%), utilizando-se o programa AGROESTAT® (Barbosa; Maldonado, 2015).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1 estão apresentados os valores médios obtidos para Brix, Açúcares Redutores Totais (ART), pH, Acidez Total, Compostos Fenólicos e Amido da pasta de milho obtidos de três híbridos de milho.

Tabela 1. Valores médios obtidos para °Brix, Açúcares Redutores Totais (ART), pH, Acidez Total, Compostos Fenólicos Totais e Amido da pasta de milho obtido de três híbridos

Híbridos	Brix (%)	ART(%)	pH	AcidezTotal (g.L ⁻¹)	Compostos Fenólicos (mg.L ⁻¹)	Amido(%)
Dekalb	19,6A	11,4B	5,8A	0,62B	336A	0,33B
Pioneer	16,6B	9,5C	5,6B	0,62B	249B	0,27B
Syngenta	19,4A	14,6A	5,6B	1,26A	324A	0,45A
DMS	0,01	0,1	0,03	0,08	0,07	0,01
CV	0,46	2,07	0,75	13,92	1,03	1,00
Teste F	10,24**	70,51**	21,27**	462,88**	11,53**	62,86**

Letras diferem na coluna segundo teste de Tukey (5%). %. **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio mínimo significativo. CV – Coeficiente de Variação.

Observou-se que o processo de cozimento e hidrólise resultou em Brix similares para os híbridos Dekalb e Syngenta, da ordem de 19%. Entretanto, deve-se destacar que embora o híbrido Dekalb tenha tido elevado teor de sólidos solúveis, apenas 58% desses sólidos eram compostos por glicose, frutose ou sacarose; comportamento similar ao observado para o híbrido Pioneer. Considerando o Syngenta, proporção foi de 75%.

Esse fator pode estar relacionado a quantidade de amido no grão, ou ainda, a enzima que pode apresentar comportamento diferente, em decorrência dos híbridos de milho utilizados. Esses valores diferiram dos obtidos por Lozano *et al.* (2020), que observaram que

três híbridos de milho (Dow) obtiveram 13% de Brix, com teores de açúcares acima de 95% do total de sólidos. Entretanto, deve-se destacar que o Brix e o ART do híbrido Dekalb foram maiores que os determinados pelos autores.

Cabe ainda observar que além do teor de ART, o híbrido Syngenta também extraiu o dobro de compostos ácidos dos grãos. Esse parâmetro é importante se determinar, pois elevados valores podem afetar a fisiologia da levedura durante o processo fermentativo, podendo resultar em altos índices de morte celular (Iram *et al.*, 2020). Houvera ainda diferenças para os valores de pH, sendo superiores para o híbrido DKL. Esses teores foram considerados normais, uma vez que a água utilizada para extração apresentava pH de 5,5.

Nesse mesmo contexto, o cozimento e hidrólise dos grãos Syngenta também resultaram em maior teor de amido na pasta em relação aos demais. Isto ocorre devido a enzima α -amilase não metabolizar moléculas de maltodextranses, havendo a necessidade de tratamentos prévios para que a reservas de amido sejam convertidas em açúcares fermentescíveis (Krafft *et al.*, 2020).

Além disso, vale destacar a relação direta entre a temperatura, tempo de armazenamento e o híbrido de milho processado, havendo uma relação direta no aumento das reservas dos teores de amido dos grãos (Nogueira *et al.*, 2022).

Para os compostos fenólicos, o híbrido da Pioneer apresentou valor inferior a 300 mg.L^{-1} , enquanto os híbridos Dekalb e Syngenta apresentaram teores entre 320 e 340 mg.L^{-1} . Entretanto, deve-se destacar que os teores são superiores aos observados para pastas hidrolisadas de milho por Alcantara *et al.* (2020), que determinaram teores da ordem de 188 mg.L^{-1} . Cabe ressaltar que valores acima de 300 mg.L^{-1} promovem efeito negativo para o desenvolvimento da levedura ao longo do processo de fermentação (Mutton *et al.*, 2020).

Na Tabela 2 estão apresentados os valores obtidos para Acidez Total, Compostos Fenólicos e Amido do mosto de milho obtidos de três híbridos de milho. Deve-se destacar que o Brix e o pH foram ajustados para 16% e 4,5 respectivamente em todos os tratamentos. Observou-se que o comportamento desses compostos foi similar aos já observados na pasta, com maiores teores de acidez e amido para o híbrido Syngenta em relação aos demais. Para os compostos fenólicos, foi observado um comportamento similar aos resultados com as pastas obtidas dos híbridos utilizados, com valores abaixo de 300 mg.L^{-1} , valor importante para o bom desempenho do processo de fermentação (Mutton *et al.*, 2020).

Tabela 2. Valores obtidos para Acidez Total, Compostos Fenólicos Totais e Amido do mosto de milho obtido de três híbridos

Híbridos	Acidez Total (g.L ⁻¹)	Compostos Fenólicos (mg.L ⁻¹)	Amido (%)
Dekalb	0,86	253	0,21
Pioneer	1,10	248	0,26
Syngenta	1,23	247	0,40

Fonte: Elaborada pelos autores.

Na Tabela 3 estão apresentados os valores médios obtidos para viabilidade celular, Índice de Brotamentos e Viabilidade de Brotos da levedura Thermo-Resistente (TR), no início e final da fermentação dos mostos de milho obtidos.

Tabela 3. Valores médios obtidos para Viabilidade Celular, Índice de Brotamentos Viabilidade de Brotos da levedura TR, no início e final da fermentação do mosto de milho obtido de três híbridos

Híbridos	Viabilidade Celular(%)		Brotamentos (%)		Viabilidade de Brotos(%)	
	Início	Final	Início	Final	Início	Final
Dekalb	95,2	92,5	9,4	9,4	100	95
Pioneer	96,5	95,2	12,1	11,9	97,5	93,8
Syngenta	94,7	94,1	7,9	11,8	97,5	100
DMS	0,06	0,63	0,21	0,01	72	11
CV	0,69	1,73	7,6	1,15	11,58	19,71
Teste F	0,38ns	0,90ns	1,75ns	0,51ns	0,50ns	0,91ns

Letras na coluna diferem de acordo com teste de Tukey (5%). %. **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio mínimo significativo. CV – Coeficiente de variação. ns – não significativo.

Verificou-se viabilidade celular no início e final da fermentação superior a 92%, para os três híbridos de milho estudados. Esses valores foram superiores aos determinados por Mutton *et al.* (2017), que trabalhando com mosto de cana-de-açúcar, obtiveram índices próximos a 85%. Tais resultados são de extrema importância, devido seu impacto em rendimentos industriais, havendo a necessidade que a quantidade de células vivas seja superior a 85% (Ceccato-Antonini, 2017).

Para o índice de brotamento, no início e final da fermentação, os valores foram de 7,9 a 12,1% para os três híbridos, enquanto que a viabilidade de brotos se manteve acima de 93,8%, para os dois tempos avaliados.

Estes resultados se enquadram aos valores apresentados por Alcantara *et al.* (2020), os quais determinaram valores próximos a 10% para os índices de brotamentos e de 91 a 98% para valores de viabilidade de brotos, durante o processo de fermentação de grãos de milho.

De modo geral, analisando estes parâmetros não houve diferença significativa no início

e ao final da fermentação em mosto de milho para os três híbridos. Esse comportamento também foi verificado por Lozano *et al.* (2020), que estudando a fermentação de diferentes híbridos Dow, obtiveram dados elevados para todos os parâmetros. Entretanto, os autores trabalharam com a levedura BG-1, recomendada para caldo de cana-de-açúcar.

Na Tabela 4 estão apresentados os valores médios obtidos para Brix, Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT), pH, Acidez Total e Teor de Amido do vinho obtido através da fermentação de mosto de milho obtido de três híbridos.

Tabela 4. Valores médios obtidos para Brix, Açúcares Redutores Residuais Totais (ARRT), pH, Acidez Total e Amido do vinho obtido da fermentação de mosto obtido de três híbridos de milho

Híbridos	Brix(%)	ARRT (%)	pH	Acidez Total (g.L ⁻¹)	Amido (%)
Dekalb	0	0,22B	3,0C	4,04B	0,004B
Pioneer	0	0,32A	3,6A	3,86C	0,009A
Syngenta	0	0,12C	3,3B	4,98A	0,005B
DMS	-	28,66	0,02	0,01	256,27
CV	-	24,25	1,10	0,96	5,85
Teste F	-	66,94**	148,27**	143,42**	8,42**

Letras na coluna diferem de acordo com teste de Tukey (5%). **. **significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – Desvio mínimo significativo. CV – Coeficiente de variação.

Considerando-se o teor de açúcares presentes no vinho (Brix e ARRT), observou-se que esses foram menores que 1%, para todos os tratamentos estudados. Esse resultado é um indicativo que todos os sólidos solúveis presentes no mosto foram assimilados pela levedura TR durante a fermentação, os quais foram metabolizados em outros compostos orgânicos – como ácidos e etanol.

Porém, deve-se destacar que o Brix e o ARRT encontrados foram similares aos obtidos por Alcantara *et al.* (2020), que trabalhando com fermentação de mosto de milho, uma vez que foram determinados valores de Brix inferior a 1% e ARRT próximos a 0,2%.

Considerando-se o pH e a Acidez Total, observaram-se diferenças para todos os parâmetros avaliados. Os híbridos Dekalb e Syngenta foram os que mais utilizaram açúcares para a formação de ácidos orgânicos. Cabe destacar que os valores determinados também foram similares aos obtidos em processos de fermentação em demais pastas hidrolisadas de milho (Nogueira *et al.*, 2022).

Para os teores de amido, verificou-se valores inferiores a 0,01%, o que significa que a enzima glucoamilase aplicada no experimento hidrolisou todas as moléculas de amido residuais presente no mosto em compostos fermentescíveis. Cabe ressaltar que para o híbrido

Dekalb e Syngenta, ambas não apresentaram diferença significativa.

Para os indicadores de teor alcoólico e o glicerol obtidos, verificou-se que não houve diferença significativa entre esses parâmetros (Figura 1). Esse comportamento é importante, pois demonstra que os híbridos avaliados não influenciaram sobre o desempenho fermentativo da levedura TR.

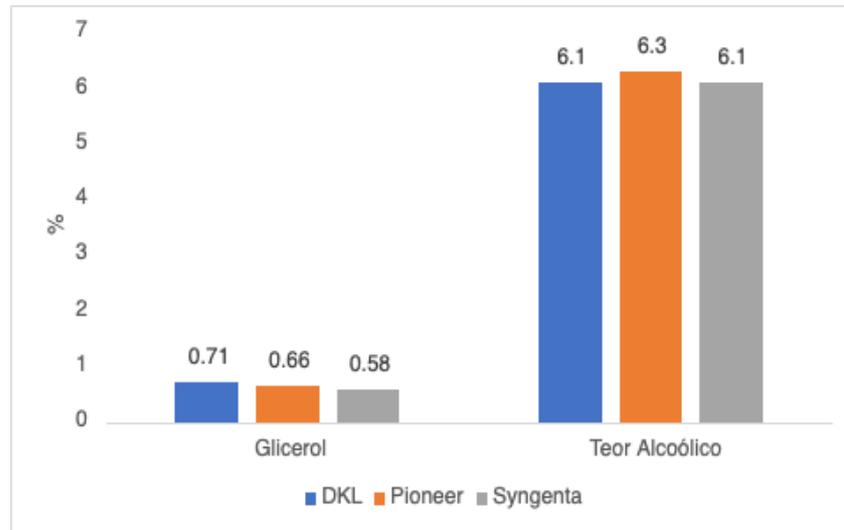


Figura 2. Valores médios obtidos para teor alcoólico e glicerol (%) dos vinhos obtidos de diferentes híbridos de milho. Teste F não significativo

Esse comportamento foi detectado por Lozano *et al.* (2020), de modo que esse trabalho corrobora com a tese de que o desempenho agrônômico do híbrido pode ser considerado decorrente da sua produtividade no campo, uma vez que o processamento industrial não foi afetado.

Outro ponto a se destacar são os valores determinados para esses dois índices, que foram similares aos obtidos em fermentações utilizando caldo de cana. Mutton *et al.* (2019) demonstraram que fermentações industriais de caldo de cana podem resultar em vinhos com teores alcoólicos de 6 a 7%, e concentração de glicerol de 0,35 à 0,4%.

Os autores indicam ainda que a produção de glicerol pela levedura consome açúcares do mosto que poderiam ser direcionados para a produção de etanol. Entretanto, esse processo ocorre com o intuito de regeneração do NAD (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo) durante a assimilação de açúcares, possibilitando a produção de ATP (Adenosina Trifosfato) durante a fermentação. Nesse processo, deve-se destacar ainda que situações específicas do substrato podem induzir aumento da produção de glicerol, tais como velocidade de alimentação da dorna (Mutton *et al.*, 2019) e microrganismos contaminantes (Brexó; Sant'ana, 2017; Iram *et al.*, 2020).

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que devido a padronização dos mostos, o processo fermentativo e produção de etanol não foram influenciados pelos grãos de híbridos de milho processados.

Porém, foram verificadas diferenças significativas para os parâmetros avaliados durante o processo de hidrólise, sendo destacado o híbrido Syngenta 8454, o qual resultou em maiores teores de açúcares redutores (14,6%) e amido (0,45%). Isto indicou significativo efeito do híbrido de milho utilizado e necessidade de ajustes de processos.

REFERÊNCIAS

ALCANTARA, G. U. *et al.* Brazilian “flex mills”: ethanol from sugarcane molasses and corn mash. **BioEnergy research**, v. 13, n. 1, p. 229-236, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12155-019-10052-3>.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JUNIOR, W. **Experimentação Agronômica & AgroEstat: Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agronômicos**. FUNEP: Jaboticabal, 2015.

BREXÓ, R. P.; SANT’ANA, A. S. Impact and significance of microbial contamination during fermentation for bioethanol production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 73, p. 423-434, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.151>.

CECCATO-ANTONINI, S. R. **Microbiologia da fermentação alcoólica: a importância do monitoramento microbiológico em destilarias**. São Carlos: EdUFSCar, 2017. *E-book*. Disponível em: <http://livresaber.sead.ufscar.br:8080/jspui/handle/123456789/2767>.

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

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: Cana-de-açúcar – Segundo levantamento | Agosto/2022., v. 9, n. 2., p. 1-59., Brasília: Conab, 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; GONTIJO NETO, M. M. Milho para silagem. **Embrapa – Milho**, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/producao/sistemas-diferenciais-de-cultivo/milho-para-silagem>

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

PEREIRA FILHO, I. A.; BORGHI, E. **Disponibilidade de cultivares de milho para o mercado de sementes do Brasil: safra 2021/2022**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 16 p., ISSN: 1518-4277, 2022.

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

IRAM, A.; CEKMECELIOGLU, D.; DEMIRCI, A. Distillers' dried grains with solubles (DDGS) and its potential as fermentation feedstock. **Applied Microbiology and Biotechnology**, n. 104, p. 6115-6128, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10682-0>

KRAFFT, M. J. *et al.* Maize silage pretreatment via steam refining and subsequent enzymatic hydrolysis for the production of fermentable carbohydrates. **Molecules**, v. 25, n. 24, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25246022>.

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

LNF. **Açúcar e etanol**, 2021. Disponível em: <https://lnf.com.br/> Acesso em: 04 jul. 2021.

LOZANO, E. V. *et al.* Produção de Etanol a partir de diferentes híbridos de milho, 2017. **Revista brasileira de engenharia de biosistemas**. São Paulo: Tupã. v. 11, n. 3, 2020.

MUTTON, M. J. R. *et al.* Bioethanol production with different dosages of the commercial Acrylamide polymer compared to a Bioextract in clarifying sugarcane juice. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 4, pag. 3093-3102, 2017.

MUTTON, M. J. R. *et al.* Interaction between the production of ethanol and glycerol in fed-batch bioreactors. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, p. 389-394, 2019.

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

NOGUEIRA, L. C. *et al.* **Extração de açúcares do grão de milho de 1,18mm em diferentes tempos de cozimento**. p. 1162-1166. In: Anais do XII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA - Blucher Chemical Engineering Proceedings, v. 1, n.4. São Paulo: Blucher, 2017.

NOGUEIRA, L. C. *et al.* Storage Time and Temperature of Corn Grains Affect the Ethanol Production. **Sugar Tech**, 2022. <https://doi.org/10.1007/s12355-022-01199-z>