

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Pró – Reitoria de Pesquisa e de Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu*
Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos

LORENA RANUCCI LEMOS

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TEORES DE DEXTRANA E AMIDO EM AÇÚCAR
CRISTAL NA FORMAÇÃO DE FLOCOS EM SOLUÇÕES ÁCIDAS CARBONATADAS
E SOLUÇÕES ALCOÓLICAS

PONTA GROSSA
2012

LORENA RANUCCI LEMOS

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TEORES DE DEXTRANA E AMIDO EM AÇÚCAR
CRISTAL NA FORMAÇÃO DE FLOCOS EM SOLUÇÕES ÁCIDAS CARBONATADAS
E SOLUÇÕES ALCOÓLICAS

Dissertação apresentada como um
dos requisitos à obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia de
Alimentos da Universidade Estadual
de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Ivo Mottin
Demiate

PONTA GROSSA
2012

L557i Lemos, Lorena Ranucci
Influência de diferentes teores de dextrana e amido em açúcar cristal na formação de flocos em soluções ácidas carbonatadas e soluções alcoólicas / Daiane de Souza Gomes. Ponta Grossa, 2012.
88 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos),
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Demiate, Ivo Mottin.

1. Cana-de-açúcar. 2. Amido. 3. Flocos ácidos. 4. Dextrana. 5. Açúcar cristal. I. Mottin, Demiate Ivo. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. T.

CDD: 664.117

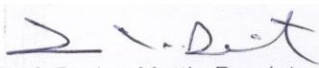
TERMO DE APROVAÇÃO

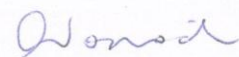
Lorena Ranucci Lemos

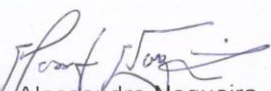
Influência de diferentes teores de Dextrana e Amido em açúcar cristal na formação de flocos em soluções ácidas carbonatadas e soluções alcoólicas.

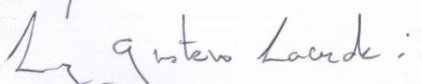
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador


Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate - UEPG


Prof. Dr. Gilvan Wosiack - UEPG


Prof. Dr. Alessandro Nogueira - UEPG


Prof. Dr. Luiz Gustavo Lacerda – UP

Ponta Grossa, 03 de agosto de 2012.

DEDICATÓRIA

À minha família
Aos meus amigos

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente em minha vida.

Aos meus pais Cleusa Ranucci Lemos e Hildebrando Lemos, pelo exemplo de determinação, dignidade, força, coragem e apoio.

Ao meu namorado Nestor Renato de Oliveira Filho pelo apoio e incentivo.

Ao Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate pela oportunidade de trabalhar com este tema, orientação e incentivo. Agradeço o apoio e a compreensão nas adversidades encontradas para execução desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Egon pela compreensão e apoio para continuidade desse trabalho.

A empresa fornecedora das amostras de açúcar, pelo apoio e disponibilidade do Laboratório para execução das atividades.

As amigas Dayane Karina Lorenzetti e Aline Nunes Matias pelo apoio, incentivo, auxílio e amizade, vocês foram fundamentais para a conclusão desse trabalho.

A amiga Michelle Zanin Rovani, pelo apoio, ajuda e carinho nos momentos difíceis.

A amiga Regina Lima, pelo apoio e inspiração para conclusão desse trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEPG pela oportunidade concedida.

A todos aquele, que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

Várias pesquisas estão sendo realizadas com o objetivo de determinar a influência da composição da cana-de-açúcar na qualidade final de seus produtos, em especial no açúcar cristal. Existe interesse em estudos sobre dextrana e amido por serem agentes causadores de sérios problemas durante o processamento da cana, estando relacionados ao aparecimento de flocos ou precipitados em bebidas ácidas carbonatadas e em bebidas alcoólicas destiladas. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência desses polissacarídeos na formação de flocos em soluções ácidas carbonatadas e em soluções alcoólicas. Amostras de açúcar cristal ($n = 21$) produzidas na região centro-sul do Estado de São Paulo foram analisadas para quantificação de dextrana e amido. Foram realizados testes para avaliação da formação de floco alcoólico em soluções hidroalcoólicas a 55 e a 89 % v/v etanol e teste para avaliação da formação de floco ácido seguindo método padrão e método com modificação através da utilização de filtro 0,8 μm para retirada do amido. Foram encontrados teores de dextrana entre $15,39 \pm 0,38$ e $830,25 \pm 2,58$ mg/kg e teores de amido entre $49,11 \pm 1,14$ e $299,92 \pm 1,05$ mg/kg nas amostras de açúcar cristal analisadas. A 55% v/v de etanol foi realizada a leitura de absorvância das amostras segundo teste de floco alcoólico, sendo encontrados valores de turbidez entre $0,018 \pm 0,001$ e $1,063 \pm 0,010$ NTU. A 89 % v/v de etanol, foi observada a formação de flocos nas primeiras 15 horas de estocagem da solução teste. Ocorreu redução do amido presente na solução com o método de floco alcoólico utilizado e as reduções variaram entre 13,78 e 34,15%. Foram verificadas reduções das leituras de turbidez com a utilização do método modificado de floco ácido. Os resultados obtidos para as soluções testadas, de acordo com o método padrão, variaram de $3,72 \pm 0,17$ a $33,46 \pm 6,31$ NTU e com a utilização do método modificado, ficaram entre $1,94 \pm 0,08$ e $10,97 \pm 1,04$ NTU. Todos os ensaios realizados demonstraram que o amido e a dextrana presentes nas amostras de açúcar cristal apresentam relação positiva com os resultados de floco ácido e floco alcoólico. A formação desses dois tipos de flocos se mostrou diretamente relacionada (apresenta relação positiva).

Palavras chaves: Cana-de-açúcar, amido, dextrana, floco ácido, floco alcoólico.

ABSTRACT

Several investigations have been performed to determine the influence of the sugarcane composition in the quality of its products, especially crystal sugar. There is interest in studies about dextran and starch to be causative agents of major problems during the processing of sugarcane and also to be related to the appearance of flakes or precipitated in alcoholic drinks and acidic carbonated beverage. The objective of the present work was to evaluate the influence of these polysaccharides in the formation of flakes in acidic carbonated and alcoholic solutions. Samples of crystal sugar ($n = 21$) produced in the central-southern Sao Paulo state were analyzed for quantification of dextran and starch and values between 15.39 ± 0.38 and 830.25 ± 2.58 mg/kg and between 49.11 and $299.92 \pm 1.14 \pm 1.05$ mg/kg were found for dextran and starch, respectively. The test evaluated the formation of flake in alcoholic solution at 55 and 89 % v/v ethanol. The 55 % v/v ethanol was performed to read the absorbance of the samples and values between 0.018 ± 0.001 and 1.063 ± 0.010 NTU were found. For the 89 % v/v ethanol solution the formation of flakes in the first 15 hours of storage the test solution was observed. There was reduction of starch content in solution with the methodology used by alcoholic flake and the reduction varied between 13.78 and 34.15 %. The test evaluated the formation of acid flake following the standard methodology and modification of the method by using a $0.8 \mu\text{m}$ filter for removal of starch. The turbidity readings were lower when using the modified method. The results obtained for the solutions tested according to standard methodology ranged from 3.72 ± 0.17 to 33.46 ± 6.31 NTU and by using the modified method they were between 1.94 ± 0.08 and 10.97 ± 1.04 NTU. All tests showed that dextran and starch present in the samples of crystal sugar show a positive correlation with the results of acid flake and alcohol flake. The formation of these two types of flakes were also interdependent (has a relation).

Keywords: Sugarcane, starch, dextran, acid flake, alcoholic flake.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da amilose e amilopectina.....	22
Figura 2 - Solubilização e gelatinização do amido de cana-de-açúcar.....	26
Figura 3 - Grânulos de amido de cana-de-açúcar (A), batata (B), mandioca (C) e milho (D) (aumento de 1000x).....	27
Figura 4 - Grânulos de amido de cana-de-açúcar (aumento de 10.000x).....	28
Figura 5 – Estrutura química do segmento da molécula de dextrana.....	32
Figura 6 - Padrão normal dos cristais de açúcar (A) x cristais de açúcar alongados devido a presença de dextranas (B).....	37
Figura 7 - Precipitado (flocos alcoólicos) em cachaça.	38
Figura 8 - Curva de calibração para quantificação de amido em amostras de açúcar cristal. ..	44
Figura 9 - Curva de calibração para açúcar com alta concentração de dextrana.....	46
Figura 10 - Curva de calibração para açúcar com baixa concentração de dextrana.	47
Figura 11 - Resultados do teste de flocos ácido segundo método CTC-LA-MT1-025.	50
Figura 12 - Índice pluviométrico da região produtora da cana-de-açúcar utilizada para produção de açúcar cristal referente as amostras identificadas de 10 a 21.....	54
Figura 13 - Quantidade de amido presente na solução de açúcar antes e depois da filtração estabelecida pelo método de flocos alcoólicos.	62
Figura 14 – Resultado do teste de flocos alcoólicos com solução a 89 % v/v etanol para as amostras de açúcar cristal produzidas em junho de 2011.....	66
Figura 15 - Resultado do teste de flocos alcoólicos com solução a 89 % v/v etanol para as amostras de açúcar cristal produzidas em outubro de 2011.	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química da cana-de-açúcar.	16
Tabela 2 - Composição química do caldo de cana-de-açúcar.	16
Tabela 3 - Teores de polissacarídeos totais e amido em diferentes cultivares de cana-de-açúcar produzidas entre 1990 a 1992.	20
Tabela 4 – Teores de dextrana e polissacarídeos totais em amostras de cana-de-açúcar.	20
Tabela 5 - Polissacarídeos no processamento da cana-de-açúcar e beterraba (valores representativos).	21
Tabela 6 - Especificação para dextrana e amido nos principais tipos comerciais de açúcar produzidos no Brasil.	211
Tabela 7 – Concentração de amido em diferentes partes de duas cultivares de cana-de-açúcar comercializadas na Lousiana (EUA).	24
Tabela 8 - Especificação para dextrana nos principais tipos comerciais de açúcar produzidos no Brasil.	35
Tabela 9 – Preparo das soluções padrões para determinação da curva de calibração de análise de amido em açúcar cristal.	433
Tabela 10 – Preparo das soluções padrões para determinação da curva de calibração de análise de dextrana em açúcar cristal.	46
Tabela 11 - Quantidades de amido e dextranas nas amostras de açúcar cristal produzidas em junho de 2011.	52
Tabela 12 - Quantidades de amido e dextranas nas amostras de açúcar cristal produzidas em outubro de 2011.	52
Tabela 13 – Análise estatística descritiva dos teores de dextrana e amido das 21 amostras de açúcar cristal.	53
Tabela 14 - Resultados das análises de floco alcoólico para amostras de açúcar cristal produzidas nos meses de junho e outubro de 2011.	57
Tabela 15 – Análise estatística descritiva das leituras de absorbância das 21 amostras de açúcar cristal.	58
Tabela 16 – Redução do amido com a filtração utilizada no método de análise de floco alcoólico.	63
Tabela 17 – Resultado do teste forçado para verificação da formação de floco alcoólico.	688
Tabela 18- Resultados dos ensaios para determinação do floco ácido e turbidez.	711
Tabela 19 – Análise estatística descritiva dos resultados de turbidez das 21 amostras de açúcar cristal.	711
Tabela 20 – Avaliação da formação de floco ácido e turbidez com a utilização de filtro 0,8 µm no método de análise.	744
Tabela 21 – Avaliação da influência da filtração da solução de açúcar na turbidez do teste de floco ácido.	766

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABF	<i>Acid Beverage Floc</i>
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
COPERSUCAR	Cooperativa de produtores de cana, açúcar e álcool do estado de São Paulo
CTC	Centro de Tecnologia Canavieira
Da	Dalton
IMCUSA	<i>International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis</i>
ISP	<i>Indigenous Sugarcane Polysaccharide</i>
VHP	<i>Very High Polarization</i>
VVHP	<i>Very Very High Polarization</i>
NTU	Unidade nefelométrica de turbidez
TCA	Ácido Tricloroacético
UNICA	União da Agroindústria Canavieira de São Paulo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos.....	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 Aspectos gerais da produção de cana-de-açúcar no Brasil	14
3.2 A cultura da cana-de-açúcar.....	15
3.3 Processamento de açúcar cristal.....	17
3.4 Polissacarídeos na cana-de-açúcar	17
3.4.1 Amido na cana-de-açúcar.....	21
3.4.2 Dextranas em cana-de-açúcar.....	31
3.5 Formação de floco ácido e floco alcoólico	37
4. MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1 Material	42
4.2 Método	43
4.2.1 Quantificação de amido.....	43
4.2.2 Quantificação de dextrana	45
4.2.3 Determinação de floco alcoólico	48
4.2.4 Avaliação da redução de amido no teste de floco alcoólico	48
4.2.6 Determinação de floco ácido.....	50
4.2.7 Teste modificado de floco ácido	51
4.2.8 Análise estatística.....	51
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1 Quantificação de dextrana e amido.....	52
5.2 Determinação de floco alcoólico	57
5.3 Avaliação da redução de amido no teste de floco alcoólico	60
5.4 Teste forçado para formação de floco alcoólico	66
5.5 Determinação de floco ácido	70
5.6 Teste modificado de floco ácido	74
5.7 Relação entre os testes de floco ácido e floco alcoólico	77
6. CONCLUSÃO	78
7. BIBLIOGRAFIA.....	80

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, seguido pela Índia, Tailândia e Austrália. A cultura da cana-de-açúcar apresenta destaque no agronegócio brasileiro e o país ocupa posição importante nas exportações de açúcar e álcool, detendo em média 42 % do comércio internacional e deve ampliar essa participação com a reforma do regime do açúcar na União Européia.

À medida que o percentual de exportação aumenta, as exigências por melhor qualidade do açúcar também aumentam. Além da contribuição nutricional à dieta diária, o açúcar é utilizado como matéria-prima na indústria de alimentos e bebidas. Destacam-se as indústrias de laticínios e de bebidas doces carbonatadas, as quais requerem açúcar com alto grau de qualidade para garantir a qualidade de seus produtos.

A qualidade do açúcar está diretamente ligada a composição química da cana-de-açúcar e as operações unitárias que constituem o seu processamento.

A partir da década de 1980 várias pesquisas foram realizadas com o objetivo de determinar a influência da composição da cana-de-açúcar na qualidade final do açúcar, com destaque especial para a presença de polissacarídeos, compostos estes que causam problemas durante o processamento desta matéria-prima.

O teor de polissacarídeos encontrado na cana-de-açúcar difere de acordo com diversos fatores, entre eles climáticos, formas de colheita, manipulação e variabilidade dos cultivares. Dextrana e amido, polissacarídeos de maior relevância na cana, são responsáveis pelo processamento ineficiente e perdas durante a produção de açúcar, além de estarem associados a diversos problemas nas indústrias alimentícias.

Produzida por micro-organismos como *Leuconostoc mesenteroides* que contaminam a cana-de-açúcar nas estações chuvosas, a dextrana em altas concentrações, causa entupimento em filtros, retardo da cristalização e aumento na viscosidade dos méis.

O amido, encontrado em alta concentração no topo do colmo e nas folhas da cana-de-açúcar, causa aumento de viscosidade e consequentes problemas nas etapas de filtração e aquecimento de caldos ou xaropes.

A produção de açúcar totalmente isento de polissacarídeos tem sido um desafio em todo o mundo. O aparecimento de flocos ou precipitados em bebidas carbonatadas e bebidas alcoólicas pode estar associado à presença dos polissacarídeos dextrana e amido no açúcar utilizado como ingrediente na formulação, sendo considerando um dos maiores problemas de

qualidade nas indústrias desse tipo de bebida. Esse floco ou turvação causa a falsa impressão que o produto está deteriorado ou contaminado, o tornando indesejável.

A adição de açúcar na cachaça para suavizar o sabor seco, ardente e diminuir a agressividade característica dos produtos recém-distilados está associada ao principal problema de qualidade desse produto, a formação de depósitos.

Em refrigerantes, estudos relatam a formação de precipitados, conhecidos como flocos ácidos os quais podem ser relacionados com a presença de polissacarídeos no açúcar utilizado para produção dessas bebidas.

Pesquisas sobre a qualidade do açúcar são importantes para garantia do crescimento do setor sucroalcooleiro. Estudo sobre amido e dextrana tem destaque especial por serem parâmetros de classificação de vários tipos de açúcar, além de estarem envolvidos em muitos problemas industriais, entre eles na fabricação de refrigerantes e bebidas alcoólicas. Na literatura existem poucos estudos e entendimento sobre os mecanismos de formação de floco ácido e floco alcoólico, portanto este trabalho tem como objetivo avaliar a influência da presença desses polissacarídeos no açúcar na formação desses flocos, apresentando dados de importância tecnológica e econômica.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a influência do teor de amido e dextrana em açúcar cristal na formação de flocos em solução alcoólica e solução ácida carbonatada.

2.2 Objetivos específicos

- Quantificar amido e dextrana em amostras de açúcar cristal produzidas nos meses de junho e outubro de 2011 por uma Usina localizada no centro-oeste do estado de São Paulo.
- Determinar quantitativamente, através de espectrofotometria, a presença de floco alcoólico no teste com amostras de açúcar cristal com diferentes teores de dextrana e amido.
- Determinar através de inspeção visual, a presença de floco ácido no teste com amostras de açúcar cristal com diferentes teores de dextrana e amido.
- Determinar a turbidez das soluções avaliadas visualmente nos ensaios de formação de floco ácido.
- Avaliar visualmente os resultados obtidos no teste forçado de floco alcoólico através da utilização de solução concentrada de etanol.
- Avaliar se os resultados do teste forçado e do teste realizado de acordo com o método padrão para avaliação de floco alcoólico apresentam relações positivas.
- Avaliar os resultados dos testes de floco ácido obtidos pela utilização de filtração da solução para eliminação do amido.
- Avaliar a redução do amido com a filtração descrita no método padrão de floco alcoólico.
- Avaliar a relação dos resultados de floco alcoólico com a turbidez das soluções do ensaio de floco ácido.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo são apresentadas considerações gerais sobre a cana-de-açúcar e seu processamento na produção de açúcar cristal. Destacam-se neste trabalho as informações sobre amido e dextrana, polissacarídeos de maior relevância da cana-de-açúcar e que estão envolvidos em diversos problemas tecnológicos no processamento e utilização do açúcar cristal e refinado. Dentre esses problemas, o estudo apresenta informações sobre a formação de flocos em soluções alcoólicas e ácidas adoçadas, buscando um melhor entendimento sobre o mecanismo de formação desses compostos, ainda pouco compreendido e gerador de impactos econômicos negativos.

3.1 Aspectos gerais da produção de cana-de-açúcar no Brasil

A produção de cana-de-açúcar mundial se concentra nas regiões tropicais, em especial nas nações em desenvolvimento da América Latina, África e sul e sudoeste da Ásia, em um total aproximado de 100 países produtores (AGÊNCIA FAPESP, 2009).

No Brasil, o plantio da cana-de-açúcar iniciou-se em São Paulo, no ano de 1522 e atualmente, segundo dados da UNICA (2012), o Brasil é o maior produtor mundial dessa importante cultura agrícola, seguido por Índia, Tailândia e Austrália. Segundo dados do IBGE, a estimativa para produção brasileira de cana-de-açúcar em 2012 é de 742.923.303 toneladas, um aumento de 3,9 % em relação a 2011.

A agroindústria da cana-de-açúcar destina-se a produção alimentar, não alimentar e energética (VASCONCELOS, 2002). O Brasil produziu na Safra 2011/2012, 624.501.165 toneladas de cana-de-açúcar e 38.069.510 toneladas de açúcar. Desse total, 58 e 62 % , respectivamente, correspondem a produção do estado de São Paulo (MAPA, 2012).

Do total da moagem de cana-de-açúcar projetada para a safra 2012/2013, estima-se que 48,75 % terá como destino a produção de açúcar, que está estimada em 33.100.000 ton. O volume de açúcar disponível para exportação na safra 2012/2013 deverá ser de 24.000.000 ton (UNICA, 2012).

O faturamento anual bruto do setor sucro-energético brasileiro é de aproximadamente US\$ 23 bilhões, sendo 67 % do açúcar produzido destinado à exportação (UNICA, 2012).

A indústria sucroalcooleira representa cerca de 2 % das exportações nacionais, além de reunir 6 % dos empregos agroindustriais brasileiros e contribuir de maneira efetiva para o

crescimento do mercado interno de bens de consumo. Os países Rússia, Nigéria, Arábia Saudita e Egito foram os maiores importadores de açúcar do Brasil na safra 2008/2009 (BOLOGNA-CAMPBELL, 2007; UNICA, 2012).

A relevância da cana-de-açúcar no agronegócio brasileiro é indiscutível, a pesquisa científica ainda tem muito a contribuir para a maximização do processo produtivo, desde a lavoura até a indústria, apesar de o Brasil destacar-se no cenário internacional por toda a tecnologia já empregada nas diferentes etapas de produção (COSTA, 2005).

3.2 A cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum* sp) apresenta habilidade de estocar sacarose nos colmos, sendo uma planta tropical pertencente à família das gramíneas ou poáceas juntamente com os gêneros *Zea* e *Sorghum*. A cana-de-açúcar moderna, denominada por alguns pesquisadores, é considerada um híbrido complexo entre duas ou mais espécies do gênero *Saccharum* (*S. officinarum*, *S. spontaneum*, *S. barberi*, *S. sinense*, *S. edule* e *S. robustum*) (CHEN e CHOU, 1993), sendo adaptada a condições de alta intensidade luminosa, altas temperaturas e relativa escassez de água (SEGATO et al., 2006).

A cultura desenvolve-se bem onde em clima caracterizado por uma estação chuvosa de intensa radiação solar seguida de período seco com menor intensidade luminosa. A temperatura ideal para a germinação é de 32 °C e para o crescimento a temperatura ideal situa-se entre 20-28 °C. Na fase de maturação a temperatura ótima varia de 12-20 °C, e influencia nos teores de sacarose da cana (CASAGRANDE, 1991).

De uma forma geral, a planta apresenta sistema radicular, colmos onde a sacarose é predominantemente estocada, folhas que se encontram arranjadas ao redor do colmo, nódulos inter colmos e parte superior, onde se localiza a gema apical (COPERSUCAR, 1987).

A parte morfológica da cana-de-açúcar de interesse comercial é o colmo, que concentra a sacarose industrializável. A composição química dos colmos é extremamente variável em função de diversos fatores como: cultivar, idade fisiológica, condições climáticas durante o desenvolvimento e maturação, propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo, tipo de cultivo, entre outros (PARANHOS, 1987; MARQUES et al., 2001).

A composição média da cana de açúcar é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição química da cana-de-açúcar.

Componente	Variação na cana
Umidade	69 – 72 %
Brix	150 – 200 g/L
Sacarose (pol)	13 – 18 %
Açúcares redutores	0,2 - 1,0 %
Fibras	11 – 13 %
N	200 - 600 mg/kg
P - P ₂ O ₂	60 - 300 mg/kg
Ca - CaO	1200 - 2500 mg/kg
Mg - MgO	44 - 200 mg/kg
S - SO ₃	120 - 300 mg/kg
Gomas e Pectinas	150 - 250 mg/kg
Ceras e Gorduras	150 - 350 mg/kg
Amido	50 - 600 mg/kg
Ácidos Orgânicos	200 - 550 mg/kg

(Fonte: UMEBARA, 2010).

Do ponto de vista tecnológico, a cana pode ser dividida em bagaço e caldo extraído. O bagaço é predominantemente constituído por fibras e caldo remanescente, e o caldo extraído, que conforme Clarke (1988), tem uma composição básica descrita na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição química do caldo de cana-de-açúcar.

Constituintes do Caldo	% Sólidos Solúveis
Açúcares	75 a 93
Sacarose	70 a 91
Glicose	2 a 4
Frutose	2 a 4
Sais	3 a 5
Ácidos inorgânicos	1,5 a 4,5
Ácidos orgânicos	1,0 a 3,0
Ácidos carboxílicos	1,1 a 3,0
Aminoácidos	0,5 a 2,5
Proteínas	0,5 a 0,6
Amido	0,001 a 0,05
Gomas	0,3 a 0,6
Ceras e graxas	0,05 a 0,15
Corantes e outros	3,0 a 5,0

Fonte: (CLARKE, 1988).

3.3 Processamento de açúcar cristal

Segundo Marafant (1993) e Masson (1999), o processamento da cana-de-açúcar para fabricação de açúcar cristal segue basicamente as seguintes etapas:

- Colheita: a cana-de-açúcar pode ser colhida sem queimar ou queimada, manualmente ou mecanicamente;
- Lavagem da cana (opcional) e preparo para moagem;
- Moagem: extração do caldo;
- Tratamento térmico: aquecimento para preparação do caldo para a clarificação;
- Clarificação: o processo consiste em promover a coagulação e floculação das partículas indesejáveis no caldo. Envolve as etapas de sulfitação através da adição de dióxido de enxofre ao caldo, calagem sendo o tratamento com leite de cal que atua removendo impurezas do caldo através da precipitação, neutralizando os ácidos orgânicos e os fosfatos do caldo, e adição de compostos poliméricos de cadeia longa, visando a floculação das sujidades;
- Evaporação: etapa de concentração do caldo com formação do xarope;
- Flotação: etapa com adição de compostos poliméricos de cadeia longa para flotação das sujidades;
- Cozimento: etapa de concentração com formação da massa cozida (mistura de sacarose e mel);
- Centrifugação: o açúcar é separado do mel em centrífugas;
- Secagem: retirada da umidade;
- Acondicionamento (envase).

3.4 Polissacarídeos na cana-de-açúcar

Os polissacarídeos são classificados como compostos de alto peso molecular, constituídos de unidades de monossacarídeos, que no caso de cana-de-açúcar e beterraba se encontram na faixa de vários milhões de Daltons (Da). Os polissacarídeos, com baixo peso molecular não são muito bem conhecidos, mas estão na faixa de 5000 a 10000 Da. A fração com peso molecular menor que 3000 Da é denominada de oligossacarídeos (BLAKE e LITLEMORE, 1984).

Na obtenção de açúcar cristal, a qualidade da cana-de-açúcar tem um papel muito importante no custo da produção. A partir da década de 1980, várias pesquisas foram realizadas com o objetivo de determinar quais são os polissacarídeos presentes no caldo de cana que causam problemas durante o processamento para obtenção do açúcar na usina (CUDDIHY et al., 2001).

Os teores de polissacarídeos encontrados durante o processamento da cana-de-açúcar, incluindo os endógenos, diferem de acordo com a variedade, condições climáticas, processos de deterioração durante o armazenamento e a manipulação (CUDDIHY et al., 2001).

Silva et al. (2010) relataram maiores teores de polissacarídeos presentes no caldo extraído do nó quando comparado ao entrenó do colmo de cana-de-açúcar. O maior teor de polissacarídeos resultou em baixa qualidade do caldo e problemas na alongação do cristal do açúcar refinado.

A cana-de-açúcar contém polissacarídeos como a hemicelulose e celulose, presente na composição da parede celular, no caule e nas folhas. Amido e outras glucanas são armazenados como fonte de energia e de síntese na planta. Outros polissacarídeos freqüentemente encontrados na cana são produtos de contaminações microbiológicas, como por exemplo, dextranas (CUDDIHY et al., 2001).

Na avaliação dos polissacarídeos totais na cana-de-açúcar, cita-se o amido, polissacarídeos estruturais como hemiceluloses, pentosanas, *ISP (Indigenous Sugarcane Polysaccharides)* e pectinas, polissacarídeos originados da produção bacteriana como dextrana e levana e polissacarídeos formados após a colheita da cana, na ausência da contaminação bacteriana, provavelmente pela ação enzimática como por exemplo o sarkaran (CLARKE et al., 1986).

O polissacarídeo *sarkaran* pode ser encontrado em cana seca afetada por geadas. Alguns estudos em Midlands, na África do Sul, conseguiram isolar diversos fungos nesse tipo de cana. Um desses fungos, cultivados a partir de várias amostras de cana, foi o patógeno *Phaeocytostroma sacchari* (MOREL et al., 2006). Segundo Cuddihy (2001), o processo de formação do sarkaran não é totalmente conhecido podendo ser formado por enzimas naturais da cana ou por enzimas microbianas ou interações de ambos. A presença desse polissacarídeo contribui para o aumento da viscosidade no processamento do açúcar, diminui a taxa de cristalização e reduz a transferência de calor (MOREL et al., 2006).

O *ISP – Indigenous Sugarcane Polysaccharide*, polissacarídeo que pode ser classificado como um tipo de hemicelulose é nativo da cana-de-açúcar. Esse composto pode

ser encontrado no caldo da cana e produtos finais, onde o açúcar é utilizado como matéria prima. A estrutura da *ISP* foi identificada como uma arabinogalactana, composta por unidades de ácido glucurônico, que apresenta carga negativa em valores baixos de pH, como por exemplo em bebidas acidificadas. O *ISP* apresenta rotação negativa de $(-46^{\circ}$ a $50^{\circ})$, peso molecular entre 100.000 a 300.000 Da. Estudos sugerem que o *ISP* ou arabinogalactana, serve para ligar os resíduos de compostos fenólicos e flavonóides a glucanas na parede celular (CLARKE et al., 1986).

Levana é um exopolissacarídeo constituído por unidades de frutose, unidas através de ligações β (2- 6), gerado pela reação de transfrutossilação durante a fermentação por micro-organismos em meio rico em sacarose. A levana tem massa molar de aproximadamente 10^7 Da, correspondente a aproximadamente 60.000 unidades de frutose unidas por ligações β (2- 6) (MURO et al., 2000). Hernandez et al. (1995) observaram que a atividade da levanasacarase, enzima formadora da levana a partir de sacarose, está envolvida em processos variados como a sobrevivência de bactérias no solo (*Bacillus subtilis*), fitopatogêneses (*Erwinia* sp e *Pseudomonas* ssp) ou simbiose de plantas interagindo com bactérias (*Bacillus polymyxa*).

As pectinas, polímeros lineares essencialmente compostos de pontes de α -1,4 D - unidades de ácido galacturônico, caracterizado por metilação ($-\text{CH}_3$) de seus grupos carboxílicos ($-\text{COOH}$), devido à interação pectina-açúcar, possuem a característica de aumentar a viscosidade das soluções, além de elevar o coeficiente de solubilidade da sacarose, dificultando a sua recuperação. Em condições de calagem, as pectinas são, em sua maior parte, removidas em forma de pectato de cálcio (GIORNO et al., 1998).

Os polissacarídeos citados, excetuando-se a celulose, são solúveis em água ou são solubilizados em algum dos processos necessários para a obtenção do açúcar. Entretanto, são removidos em escala reduzida durante as etapas de clarificação e filtração do caldo, o que acaba resultando na sua presença no produto final (GIORNO et al., 1998).

Várias pesquisas indicam que a presença de polissacarídeos contribui para uma produção ineficiente e perdas nas usinas de açúcar. O amido e a dextrana presentes no caldo de cana interferem nos processos de clarificação, filtração e cristalização. Durante o processo, aumentam a viscosidade, inibem a cristalização e aumentam as perdas de sacarose no melaço. Podem também contribuir para uma distorção da polarização (CUDDIHY et al., 2001).

A quantidade de amido pode representar até um terço da quantidade de polissacarídeos totais presente na cana-de-açúcar, conforme apresentado na Tabela 3. A quantidade de dextrana em relação a quantidade de polissacarídeos totais pode ser verificada na Tabela 4,

dados obtidos em um estudo realizado com a coleta aleatória de amostras de cana-de-açúcar (CUDDIHY et al., 2001).

Tabela 3 - Teores de polissacarídeos totais e amido em diferentes cultivares de cana-de-açúcar produzidas entre 1990 a 1992.

Cultivares	Polissacarídeos Totais (mg/L)			Amido (mg/L)		
	1990	1991	1992	1990	1991	1992
CP 72-370	3234	3308	4957	1460	1867	1548
CP 79-318	2577	3082	3126	986	1092	986
LCP 82-89	2161	3107	2841	566	701	538
CP 65-357	2128	2849	2908	506	745	557
CP 74-383	1931	3162	2671	611	590	636
CP 70-321	1544	2496	2862	275	239	220

Fonte: (GODSHALL et al., 1994).

Tabela 4 – Teores de dextrana e polissacarídeos totais em amostras de cana-de-açúcar.

Amostras	Dextrana (mg/L)	Polissacarídeos Totais (mg/L)
Louisiana*	20 - 500	660 - 2600
Texas	90	1270
Filipinas	60	520
Brasil	990	1570

* Avaliação de duas amostras de cana-de-açúcar.

NOTA: Amostras coletadas aleatoriamente

Fonte: (CUDDIHY et al., 2001).

Godshall et al. (2002) compararam os caldos extraídos de cana-de-açúcar e de beterraba conforme mostrado na Tabela 5. Observa-se que o caldo de cana-de-açúcar tem o dobro do teor de polissacarídeos que o caldo de beterraba. Os polissacarídeos da cana apresentam mais afinidade com a sacarose, tendendo a permanecer em maior quantidade no cristal final de açúcar. Após o tratamento químico e clarificação, etapas essas do processamento de açúcar, os polissacarídeos são reduzidos em quase 80 % no caldo de beterraba, enquanto que para o caldo de cana remove-se apenas 41,5 %. Após processamento, a quantidade de polissacarídeos no açúcar branco refinado de cana-de-açúcar é 2,2 vezes maior que no açúcar branco refinado de beterraba.

Tabela 5 - Polissacarídeos no processamento da cana-de-açúcar e beterraba (valores representativos).

Amostra / Processo	Beterraba	Cana-de-açúcar
Caldo misto / Caldo bruto	4.067	8.237
Caldo afinado / Caldo clarificado	918	4.812
Caldo concentrado / Xarope	932	4.148
Açúcar bruto (cana)	--	712
Açúcar branco refinado	77	169
Melaço	4.518	18.411

Fonte: (GODSHALL et al., 2002).

Em termos de especificação técnica, quase todas as usinas brasileiras adotam os padrões definidos pela Cooperativa comercializadora de açúcar e etanol do estado de São Paulo – COPERSUCAR, onde o amido e a dextrana são parâmetros de controle para várias classificações de açúcar, conforme mostrado na Tabela 6. Mesmo assim, são escassos os relatos científicos sobre as concentrações desses compostos no açúcar brasileiro (COPERSUCAR, 1987).

Tabela 6 - Especificação para dextrana e amido nos principais tipos comerciais de açúcar produzidos no Brasil.

Características		Tipos de açúcar				VVHP
		Tipo 1	Tipo 2A	Tipo 2G	Tipo 4	
Dextrana	(mg/kg)					
Máx.		-	100	100	-	100
Amido	(mg/kg)					
Máx.		-	180	180	-	100

Fonte: (OLIVEIRA et al., 2007).

NOTA: (-) Não é parâmetro classificatório.

3.4.1 Amido na cana-de-açúcar

O amido é composto por uma mistura de dois polímeros: um polissacarídeo linear denominado amilose, no qual, as unidades de glicose estão unidas por ligações α (1-4), e um polissacarídeo altamente ramificado denominado amilopectina. Neste último, a ligação do esqueleto glicosídico é α (1-4), porém, nos pontos de ramificação, as ligações são α (1-6), conforme pode ser verificado na Figura 1 (FENNEMA, 1996).

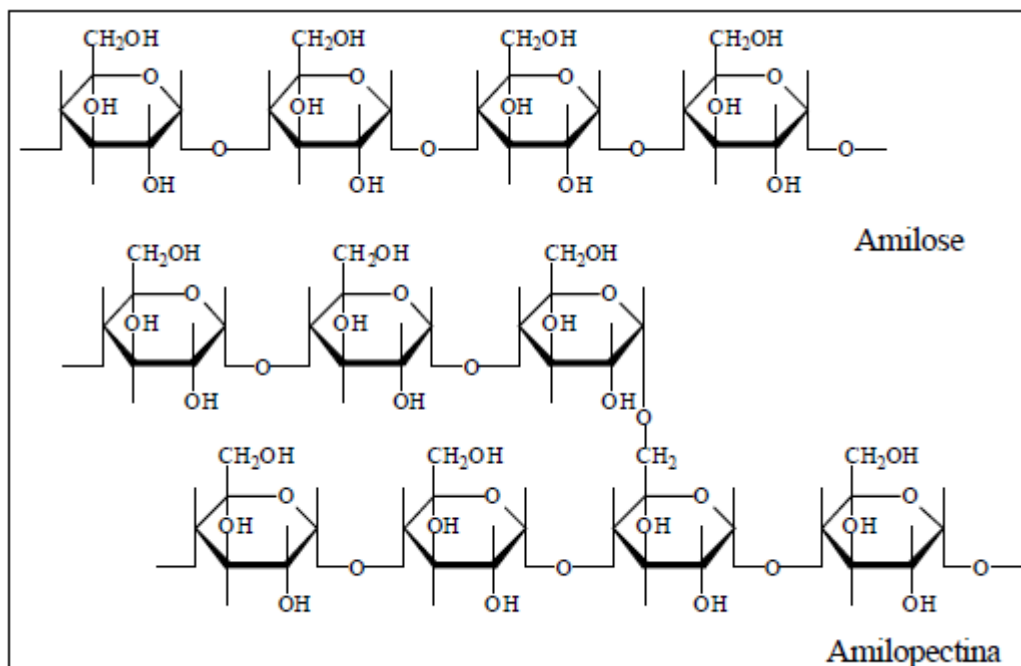


Figura 1 – Estrutura química da amilose e amilopectina.
Fonte: (MATUDA, 2004).

O amido da cana-de-açúcar existe como grânulos semicristalinos com diâmetros de 1-10 μm e contêm aproximadamente 19 % de amilose e 81 % de amilopectina (VIGNES, 1974). Whayman e Willersdorf (1976) estimaram o conteúdo de amilose em amido de cana-de-açúcar das cultivares N:Co 310 e Q 58 na Austrália e encontraram o valor de 15 % comparando com o amido de batata que possui 23 % de amilose. Os autores sugeriram que a amilopectina de cana-de-açúcar era mais ramificada do que a amilopectina de amido de milho ou de batata.

A amilose é um polímero linear, mas recentemente evidências sugerem a presença de algumas ramificações nesse polímero. As ramificações são separadas por grandes distâncias, permitindo a esta molécula agir como se fosse essencialmente linear, não alterando significativamente algumas de suas propriedades como massa molar e capacidade de se complexar com o iodo, álcoois ou lipídios (BULÉON et al., 1998; HOOVER, 2001). A estrutura desse polissacarídeo é frequentemente helicoidal e o interior da hélice contém átomos de hidrogênio sendo, portanto, hidrofóbico permitindo que esse polissacarídeo forme complexos com ácidos graxos livres, com componentes glicéridos dos ácidos graxos, com alguns alcoóis e com iodo. A complexação com iodo é uma importante ferramenta de diagnóstico para caracterização do amido (THOMAS e ATWELL, 1999).

As características físico-químicas e propriedades do amido podem ser em partes, explicadas pelas diferentes quantidades de amilose (TAKIZAWA et al., 2004). Seu teor é apresentado em trabalhos científicos, sendo expresso como teor de amilose aparente, isto devido à capacidade de algumas cadeias ramificadas externas de amilopectina interagirem com o iodo (JANE et al., 1999; KASEMSUAWAM, 1995).

A molécula de amilopectina é constituída por uma cadeia principal, chamada cadeia C, que possui um grupamento final não redutor e numerosas ramificações, chamadas de cadeias B, nas quais o terceiro tipo de cadeia, as cadeias A, são fixadas. Está presente em todos os amidos conhecidos e possui massa molar na faixa de 10^7 a 10^9 Da, dependendo de sua origem. A diferença na proporção relativa entre a amilose e amilopectina depende diretamente da cultura (FRANCO, 2001). A amilopectina contribui para o inchamento do grânulo, enquanto a amilose e os lipídios o inibem (TESTER e MORRISON, 1990).

Os grânulos de amido apresentam em sua composição, outros constituintes, considerados como constituintes menores, sendo os mais comuns lipídios e minerais (HOOVER, 2001).

O amido é praticamente insolúvel em água fria, etanol e solventes orgânicos, sendo sua massa molar, de modo geral, variável entre 300.000 a 2.000.000 Da (ANVISA, 2012; CUDDIHY et al., 2001).

O amido, produto primário da fotossíntese, encontra-se temporariamente estocado nas folhas da cana-de-açúcar como reserva de energia e pode ser convertido em açúcar (ZHOU et al., 2008). Está presente no colmo da cana-de-açúcar, sendo mais abundante nas folhas e no ápice do caule. Desta forma a colheita mecânica da cana-de-açúcar resulta em maior quantidade de amido no caldo (WHAYMAN; WILLERSDORF, 1976). A entrega de cana-de-açúcar com alto teor de amido nos EUA e fábricas de outros países aumentou acentuadamente na última década devido ao aumento da cana colhida verde mecanizada (GODSHALL et al., 2000).

Os colmos de cana-de-açúcar têm quantidades variáveis de amido, dependendo a área da haste, conforme pode ser visualizado na avaliação de duas cultivares de cana na Lousiana (EUA), apresentado na Tabela 7. O teor de amido é menor na parte inferior do colmo e maior na parte superior. Embora os níveis de amido em folhas verdes seja alto, a quantidade de amido quando calculada em relação ao peso dos colmos, representa relevante quantidade desse polissacarídeo para processamento nas fábricas (EGGLESTON et al., 2007).

Tabela 7 – Concentração de amido em diferentes partes de duas cultivares de cana-de-açúcar comercializadas na Louisiana (EUA).

Tecidos da cana	Concentração média de amido (ppm / ° Brix)			
	LCP 85-384		HoCP 96-540	
	24/10/ 2005	18/11/2005	24/10/ 2005	18/11/2005
Folhas verdes	1244	1246	1139	1372
Ponteira do colmo	2263	1780	2528	1523
Parte média do colmo	502	495	1831	282
Parte baixa do colmo	458	336	973	485

Fonte: (EGGLESTON et al., 2007).

KAMPEN et al. (1998) relatou que o teor de amido na cana-de-açúcar varia durante o dia porque os produtos da fotossíntese são temporariamente estocados nas folhas. À noite, o amido é convertido em açúcares que movem das folhas para o resto da planta. Nas folhas o menor teor de amido é verificado diversas horas após o nascer do sol e o maior é encontrado ao por do sol. O amido é utilizado durante períodos de crescimento rápido, como por exemplo, brotação de raízes e brotos, germinação das sementes e emergências (IMRIE e TILBURY, 1972; BEWLEY e BLACK, 1994).

No estudo realizado por Figueira (2009), não foi observada correlação entre os teores de amido em caldos extraídos de cinco variedades de cana-de-açúcar e fatores climáticos temperatura e índice pluviométrico. De acordo com Tharanathan (2002) o teor de amido é maior na cana-de- açúcar imatura do que na cana madura.

Ebrahim et al. (1998) estudaram o efeito da temperatura de crescimento no acúmulo de sacarose e amido em cana-de-açúcar. As plantas foram cultivadas durante 10 meses em estufa a 27 °C, considerada a temperatura ótima, a baixa temperatura (15 °C) e a alta temperatura (45 °C). Foi verificado que os teores de sacarose e amido nas folhas de cana-de-açúcar cultivada à 15 °C foram muito superiores aos teores das plantas cultivadas a 45 °C. A concentração de sacarose no colmo da planta crescida a 15 e 27 °C foi a mesma, porém foi menor em plantas cultivadas a 45 °C.

O amido é encontrado em todos os produtos da cana-de-açúcar, incluindo açúcar bruto e refinado, porém a concentração varia conforme o país, estação, cultivares, ocorrência de doenças na cana, maturidade, condições de processamento e o método de análise. As condições de cultivo tais como tipo de solo, quantidade de nutrientes, práticas agronômicas,

disponibilidade de água e temperatura têm sido relatados como fatores que influenciam o teor de amido na cana-de-açúcar (IMRIE e TILBURY, 1972)

Segundo Cuddihy et al. (2001), o teor de amido é uma característica da cultivar, sendo esta a conclusão de um estudo realizado com quatro variedades de cana-de-açúcar da Austrália.

Segundo estudo de Park et al. (1985), o amido de cana-de-açúcar apresentou temperatura de gelatinização na faixa de 65 a 80 °C. Ciacco e Cruz (1982) relataram as temperaturas de gelatinização dos amidos de milho, arroz e batata na faixa de temperatura de 56 a 72 °C, 80 °C e 56 a 66 °C, respectivamente.

No processo de fabricação de açúcar, o amido é extraído da cana-de-açúcar na moagem. No caldo frio o amido não é solúvel, mas se a moagem é realizada com embebição a quente, o amido é extraído do tecido da cana, solubilizado e gelatinizado. A água penetra primeiramente nas regiões amorfas, pois as pontes de hidrogênio por serem ligações mais fracas são rompidas mais facilmente. A gelatinização e a solubilização dos grânulos de amido é completada durante a clarificação e evaporação (GODSHALL et al., 1994; HOOVER, 2001). Gelatinização é definida como o colapso da ordem molecular dentro do grânulo de amido, provedor de mudanças irreversíveis nas propriedades físico-químicas como tamanho granular, fusão de cristais, perda da birrefringência e solubilização do amido (THOMAS e ATWELL, 1999). É um processo que depende da quantidade de água do meio e, portanto, sofre influências de compostos que competem pela água com o grânulo como açúcares e sais minerais (GALVANI; CAMARGO; CIACCO, 1994).

Nesse processo, o amido é convertido de uma forma semicristalina para uma forma amorfa (TESTER, 1997). Quando o amido é aquecido, a estrutura cristalina é rompida devido a quebra das ligações de hidrogênio e as moléculas de água começam a se ligar por ligações de hidrogênio com os grupos hidroxilas da amilose e amilopectina. Isso causa um aumento do tamanho do grânulo devido ao inchamento e solubilidade (RICKARD et al., 1991; HOOVER, 2001).

Durante a clarificação e evaporação, os grânulos de amido são ainda mais aquecidos, causando um inchamento progressivo, com ruptura e liberação de amilose e amilopectina, transformando o caldo em uma solução viscosa e amorfa, conforme apresentado na Figura 2 (TESTER et al., 2004; EGGLESTON et al., 2007). De acordo Hashim et al. (1992), durante a faixa de temperatura de gelatinização o grânulo de amido tem um limitado inchamento onde somente uma pequena quantidade de carboidratos é solubilizado, mas a 90 °C existe um

aumento do poder de inchamento e uma grande quantidade de carboidratos é lixiviada a partir do grânulo de amido.

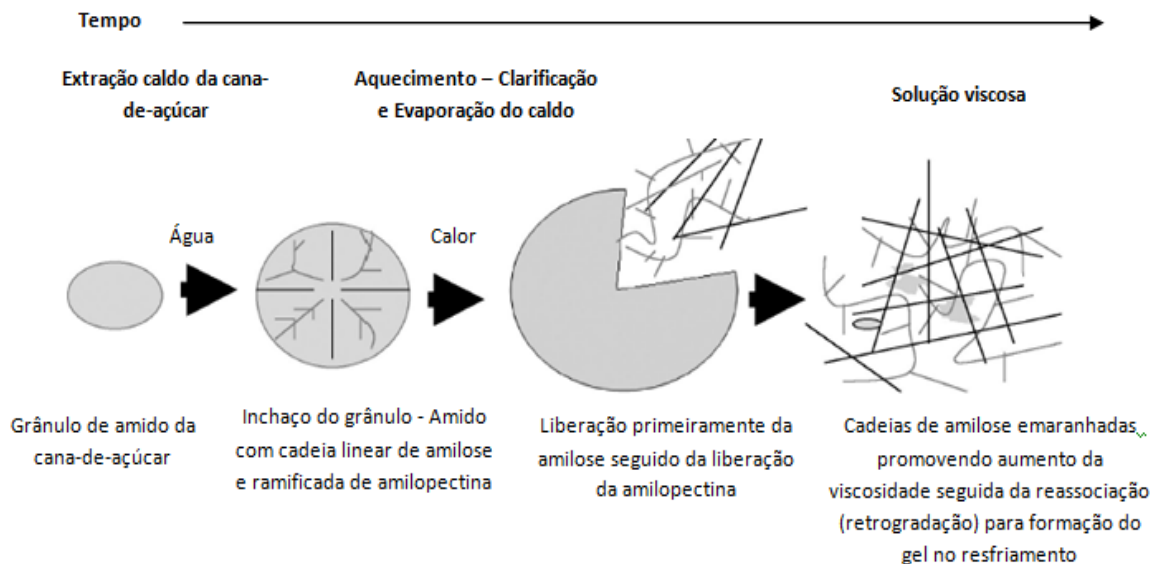


Figura 2 - Solubilização e gelatinização do amido de cana-de-açúcar.
(Fonte: EGGLESTON et al., 2007).

O aquecimento de dispersões de amidos ou féculas a elevadas temperaturas por longos períodos resulta em rompimento dos grânulos com liberação de material granular. Neste ponto, moléculas de amilose, começam a ser lixiviadas dos grânulos. Durante a fase de resfriamento, polímeros de amilose e amilopectina solubilizados começam a se reassociar e outro aumento na viscosidade é registrado (THOMAS e ATWELL, 1999). A reassociações inclusive com os grânulos inchados formam redes tridimensionais, constituídas por zonas mais organizadas (BILIADERIS, 1992).

A amilose que foi exsudada dos grânulos inchados forma uma rede por meio da associação com cadeias que rodeiam os grânulos gelatinizados (DENARDIN e SILVA, 2009). Ela é capaz de formar hélices e associar em água por pontes de hidrogênio, formando emaranhados e aumentando a viscosidade da solução (gel). A amilopectina não possui essa propriedade (TESTER et.al, 2004).

O processo de associação envolve dois processos separados, a lixiviação da amilose que durante a gelatinização foi solubilizada e a recristalinização da amilopectina no interior do grânulo gelatinizado (JAYAKODY e HOOVER, 2002). Esse processo é conhecido como retrogradação e influencia a distribuição do amido no processamento e produto final (KAMPEN et al., 1998).

A retrogradação é um fenômeno complexo e varia de acordo com diversos fatores, como: temperatura, tempo, pH, fonte botânica, presença de outros componentes (lipídios, eletrólitos e açúcares) e condições de processamento (ELIASSON, 1996; THARANATHAN, 2002). Dependendo do tipo de amido (fonte botânica, amido natural ou modificado), do pH da suspensão aquosa e da programação de aquecimento, vários perfis de gelatinização e retrogradação podem ser gerados (PERONI et al., 2006).

Nos últimos anos a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) vem sendo muito utilizada, para fornecer informações sobre as transformações térmicas do amido durante seu aquecimento e resfriamento em presença de água, incluindo as temperaturas de gelatinização, retrogradação e cristalização (YU e CHRISTIE, 2001).

Pode ser observada na Figura 3 (a, b, c e d) respectivamente, a aparência dos grânulos de amido de cana-de-açúcar, batata, mandioca e milho, observados em microscópio eletrônico de varredura (MEV) com aumento de 1.000x. Os grânulos de amido de cana-de-açúcar são consideravelmente menores que os grânulos de amido de batata, mandioca e milho (FIGUEIRA, 2009).

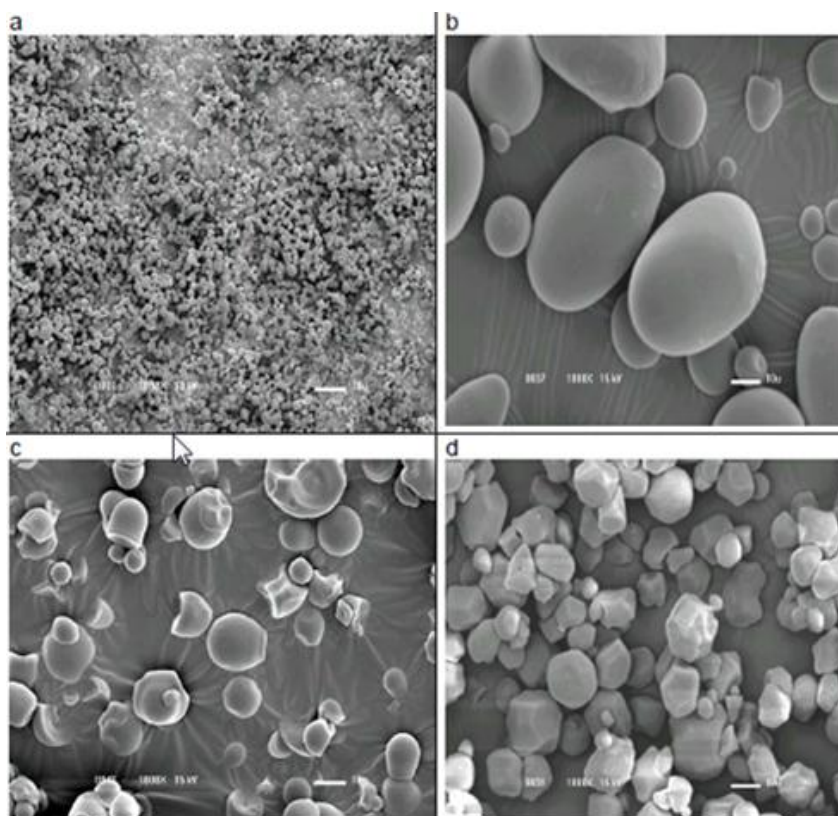


Figura 3 - Grânulos de amido de cana-de-açúcar (A), batata (B), mandioca (C) e milho (D) (aumento de 1000x).

Fonte: (FIGUEIRA, 2009).

Pode ser observada na Figura 4 a aparência dos grânulos de amido de cana-de-açúcar, em microscópio eletrônico de varredura com aumento de 10.000x. Os grânulos apresentaram formas globulares, ovaladas, meia esfera e tamanho aproximado de 1 – 3 μm . Vignes (1974) e Kampen et al. (1998) relataram que os grânulos de amido de cana-de-açúcar apresentaram tamanho aproximado de 1 – 10 μm enquanto Stevenson e Whayman (1976) e Park et al. (1985) verificaram que os grânulos de amido de cana-de-açúcar apresentam diâmetro aproximado de 1-5 μm . Segundo avaliação da filtrabilidade de uma suspensão de amido de cana-de-açúcar gelatinizado, realizado por Figueira (2009), observou-se a presença de frações menores que 0,2 μm através do teste com solução de iodo – KI 0,1N.

Os grânulos de amido de batata, milho e mandioca apresentam tamanhos aproximados de 20 – 50 μm , 10 – 15 μm e 8 – 20 μm , respectivamente.

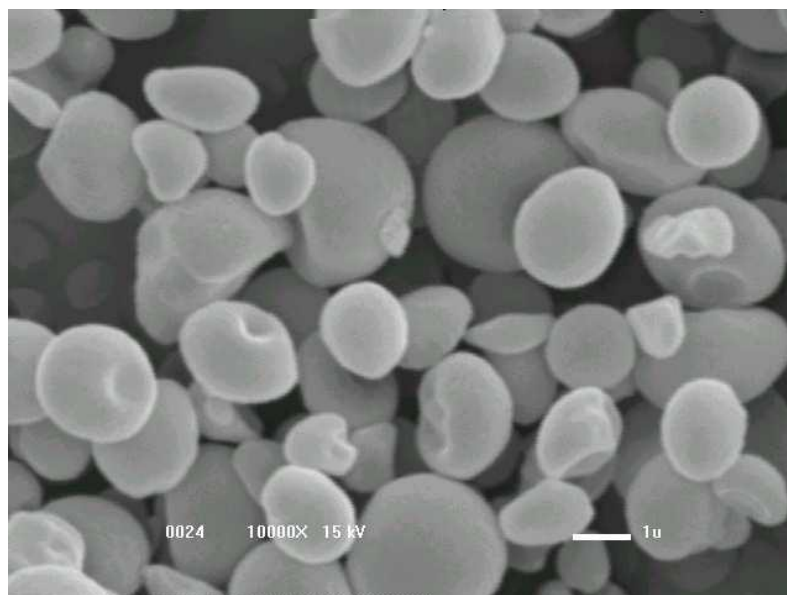


Figura 4 - Grânulos de amido de cana-de-açúcar (aumento de 10.000x).
Fonte: (FIGUEIRA, 2009).

Segundo estudo de Cuddihy et al. (2001), foi verificado que cerca de 30 a 40 % do amido presente no caldo de cana-de-açúcar ainda permaneceu no açúcar cristal branco e que concentrações de 200-250 ppm de amido em açúcar bruto podem causar problemas durante o processamento em refinarias.

A presença excessiva de amido durante o processamento do caldo de cana-de-açúcar causa problemas de viscosidade, aquecimento e filtrabilidade (MEADE e CHEN, 1977). Além disso, a presença de amido pode contribuir para uma cristalização de baixa qualidade,

presença de turbidez visível durante a dissolução do açúcar em água, sendo um grave problema para a indústria de refrigerantes (OLIVEIRA, 2011).

O teor de amido no açúcar bruto diminui enquanto o caldo é filtrado porque o processo de filtração remove 75 % do amido presente no açúcar bruto. Isto explica porque altos teores do polissacarídeo retardam o processo de filtração (ANYANGWA et al., 1993).

O amido é insolúvel em água fria e parcialmente solúvel em água quente, dessa forma grande parte é removido com o aquecimento durante o processamento nas usinas. Em temperaturas acima de 70 °C, o amido da cana-de-açúcar torna-se solúvel incorporando-se ao caldo na forma coloidal. No processo de clarificação, em que a temperatura do processo é superior a 95 °C, apenas uma pequena parte do amido é removida. A quantidade que permanece no xarope pode ser suficiente para retardar a cristalização nos cozedores e as taxas de filtração nas refinarias (MANTELATTO, 2005).

El-Syiad (2000) estudou a qualidade do açúcar bruto produzido no Egito em relação à sacarose, açúcares redutores, cinza, amido, dextrana, filtrabilidade e cor. O amido do açúcar bruto foi obtido por precipitação com álcool etílico 95 % e o conteúdo desse polissacarídeo variou entre 190 a 230 ppm. O conteúdo de dextrana variou entre 141 a 374 ppm.

As fábricas localizadas na Louisiana nos EUA, estão sendo incentivadas a entregar açúcar bruto contendo < 250ppm / °Brix amido, sendo que refinarias de carbonatação preferem teores de < 200 ppm / °Brix. Em comparação, no sul da África, o fornecedor de açúcar bruto com teor de amido >130 ppm / °Brix é penalizado. Nos EUA, não há penalidade para concentração de amido acima dos limites em açúcar bruto (ZHOU et al., 2008).

O Centro de Tecnologia Canavieira – (CTC) realizou um estudo no qual o teor de amido no caldo de sete variedades de cana-de-açúcar foi monitorado no período de maio a outubro de 2005. Os teores médios de amido encontrados nas cultivares RB72-454, SP80-1816, SP80-1842, SP81-3250, SP89-1115, SP901638, SP90-3414 foram, respectivamente, de 811 mg / kg.% Brix; 1118 mg / kg. % Brix; 1202 mg / kg. % Brix; 1175 mg / kg. % Brix; 1323 mg / kg. % Brix; 598 mg / kg. % Brix; 923 mg / kg. % Brix (FIGUEIRA, 2009).

A presença de amido vem recebendo especial atenção nas usinas brasileiras, devido a exigência de que no açúcar para exportação (VHP e VVHP), o nível de amido seja muito baixo para não causar transtornos no processo de filtração e refinação (MANTELATTO, 2005). Para produção desses tipos de açúcares, é frequente o uso da enzima α -amilase nos evaporadores, o que evita também transtornos durante a cristalização e filtração (CHEN e CHOU, 1993).

O uso da enzima α -amilase para hidrólise do amido pode ser uma alternativa para melhorar a qualidade do açúcar com alta concentração de amido. A amilase hidrolisa as ligações α 1-4, em moléculas menores e mais solúveis (FIGUEIRA, 2009). A adição é realizada geralmente no penúltimo ou último efeito da evaporação, porque o amido está completamente solubilizado e gelatinizado, forma esta que é mais favorável para a enzima hidrolisar o amido (TESTER et al., 2004). O pH, temperatura e tempo de retenção nessa etapa do processo são favoráveis para a ação da α -amilase (EGGLESTON et al., 2007).

Park e Sato (1982) verificaram que a α -amilase bacteriana pode ser adicionada antes do aquecimento e então aquecida a 80 – 90 °C por 30 minutos. A hidrólise gera dextrina e oligossacarídeos de grau de polimerização (DP) 1 a 7. Essa utilização enzimática demonstrou-se adequada para a remoção de amido de caldo de cana-de-açúcar e produção de sacarose cristalina. No estudo realizado, a α -amilase fúngica hidrolisou o amido produzindo principalmente maltose e pequena quantidade de glicose e maltotriose. Os autores relataram que como a preparação enzimática de α -amilase fúngica contém invertase, esta preparação seria adequada para a fermentação do caldo de cana-de-açúcar integral.

As amilases bacterianas, particularmente produzidas a partir de *Bacillus* sp, são muitas vezes escolhidas para a produção comercial e amplamente utilizadas pelas diversas propriedades bioquímicas e por serem reconhecidas como seguras (EGGLESTON et al., 2007).

Segundo Kampen et al. (1998), concentrações de 1000 ppm de α -amilase em relação a amido (base seca) são suficientes para a remoção desse polissacarídeo. Isto corresponde a 2,5 ppm de α -amilase no caldo misto.

A α -amilase é cara e nem sempre eficaz. A solução preventiva, econômica e eficiente para redução do amido na cana-de-açúcar é o desenvolvimento de variedades com baixo teor desse polissacarídeo. Entretanto, a adoção generalizada de cana-de-açúcar colhida verde e mecanizada exacerbou o problema porque o conteúdo de amido é maior nas folhas verdes e nas ponteiros da planta (ZHOU et al., 2008).

3.4.2 Dextranas em cana-de-açúcar

O termo dextrana descreve uma classe de polissacarídeos bacterianos extracelulares (KARTHIKEYAN, 1999). São constituídos de moléculas de glicose unidas por ligações α -(1,6) na cadeia principal e α -(1,4), α -(1,3) e α -(1,2) nas ramificações. Apresentam uma distribuição de massa molar na faixa de 10^4 a 10^6 Da (JEANES, 1966). O número de ramificações e a massa molar de uma dextrana são suas propriedades chaves e definem o comportamento destes compostos em soluções (RODRIGUES, 2003; AQUINO, 2006). Dextranas que contém maior proporção de ligações α -(1,6) são mais solúveis em água e apresenta elevada estabilidade sob condições ácidas e alcalinas (JEANES, 1966). O número de ramificações tende a diminuir simultaneamente com a redução da sua massa molar (AQUINO e FRANCO, 2008).

A massa molar da dextrana depende das condições de síntese como temperatura, pH, concentração de sacarose e presença de outros açúcares. A dextrana produzida pelo método convencional pode atingir de 9×10^6 a 50×10^8 Da (ROBYT et al., 1974). Kim et al. (2004) demonstraram que uma mesma cepa do gênero *Leuconostoc* pode produzir simultaneamente dextranas com diferentes massas molares, cujas proporções serão função da concentração de sacarose, do pH e da temperatura do meio.

A diversidade dentro desta classe de biopolímero é devido a grande variedade de micro-organismos que produzem dextranas, sendo sua propriedade e estrutura determinada pela espécie que a produz (AQUINO, 2006). A estrutura da dextrana pode ser verificada na Figura 5.

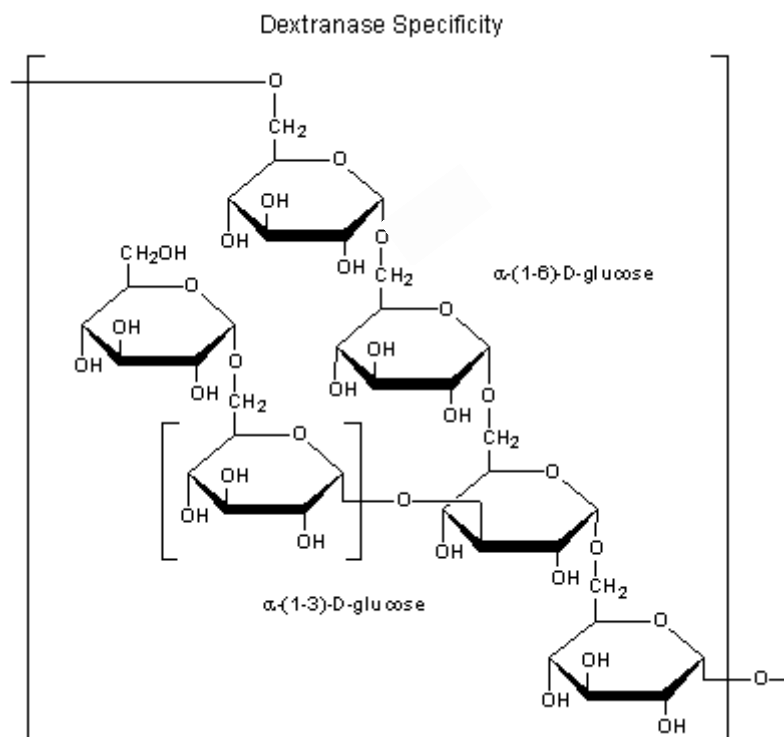


Figura 5 – Estrutura química do segmento da molécula de dextrana.
 Fonte: Adaptado (AQUINO, 2009).

A dextrana em soluções aquosas (3 a 10 %) tem rotação óptica em torno de + 200 °, apresentando uma solução clara e estável à esterilização por calor, ao congelamento e descongelamento. Soluções de algumas dextranas apresentam uma coloração levemente amarela esverdeada em luz comum (JEANES, 1966).

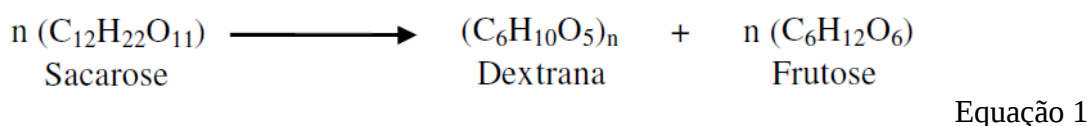
O comportamento da viscosidade das soluções de dextranas é característico devido a grande flexibilidade da estrutura desta classe de polissacarídeo. Uma solução de dextrana com concentração de até 5 % (p/v) apresenta comportamento reológico Newtoniano. A variação da temperatura de síntese de dextranas causa diferenças na sua estrutura e no seu comportamento reológico (SABATIE et al., 1986).

Outra importante propriedade das dextranas é a capacidade de complexar íons metálicos que aparentemente está relacionada com os grupos 3- hidroxil das ramificações $\alpha(1-3)$. Em soluções alcalinas, as dextranas formam complexos com composição definida, com muitos íons, tais como antimônio, cálcio, cobalto, cobre, ferro e urânio (JEANES, 1966).

Dextranas são produzidas pela fermentação bacteriana em meio rico em sacarose. O primeiro produto da fermentação na presença de sacarose como substrato não é a dextrana, mas a enzima extracelular dextrana-sacarase. As principais bactérias produtoras de dextrana-sacarase pertencem aos gêneros *Leuconostoc* e *Streptococcus*. A sacarose é essencial tanto

para síntese da dextrana-sacarase quanto para produção das dextranas. Embora *Leuconostoc* sp e *Streptococcus* sp possam crescer em vários carboidratos como glicose, frutose, maltose, entre outros, a sacarose é o único substrato capaz de induzir a produção da enzima dextrana-sacarase (KARTHIKEYAN, 1999).

A dextrana-sacarase (EC 2.4.1.5) é uma glicosiltransferase extracelular responsável pela conversão da sacarose em dextrana, segundo a equação 1:



As condições ótimas para produção da dextrana-sacarase estão relacionadas ao pH e temperatura de produção, atividade e estabilidade da enzima. O pH ótimo para produção da enzima está na faixa de 6,7 – 7,0 e para a atividade enzimática entre 5,0 – 5,2, sendo a enzima mais estável neste mesmo pH e relativamente instável em pH 6,7. Embora o pH 6,7 tenha sido mostrado como o pH ótimo para produção da enzima, este valor só é aplicado a temperatura de 23 °C. Em temperaturas mais elevadas a inativação a pH 6,7 torna-se extremamente rápida com baixos rendimentos (ALSOP, 1983).

A dextrana em cana de açúcar é produzida por micro-organismos como *Leuconostoc mesenteroides* que contaminam a cana-de-açúcar principalmente nas estações chuvosas (MEADE e CHEN, 1977).

De forma geral, as dextranas produzidas pelas cepas de *Leuconostoc mesenteroides* são solúveis em água, metil sufóxido, etileno glicol e insolúveis em metanol, etanol, isopropanol e acetona. Em soluções ácidas com pH < 2 ocorre a hidrólise das dextranas (NEUCHL e MERSMANN, 1996). A solubilidade das dextranas em soluções hidroalcoólicas e dependendo da bactéria produtora, mesmo em água, diminui à medida que aumenta o número de ramificações (AQUINO e FRANCO, 2008). A massa molar é uma característica altamente relacionada a solubilidade hidroalcoólica e mesmo as dextranas de baixa massa molar tornam-se insolúveis com o aumento da concentração de etanol (NEUCHL e MERSMANN, 1996; NEUCHL e MERSMANN, 1995). Esta característica é o princípio das duas metodologias mais empregadas para quantificação de dextranas: o método de Haze, onde somente as dextranas de média e alta massa ($M_w > 30 \times 10^4$ Da) são precipitadas numa solução contendo 50 % de etanol (CLARKE, 1985) e o método descrito por Roberts para a quantificação de dextranas de baixa, média e alta massa molar (dextranas totais) após a precipitação das mesmas pela elevação da concentração etanólica do meio em que se

encontram para 80 %. Essas duas metodologias são adotadas, respectivamente, pela *International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis* – IMCUSA e pela *Association of Official Analytical Chemists* – AOAC (RAVNO e PURCHASE, 2006).

Tilbury (1970) demonstrou que a biodeterioração, ocasionada pelo *Leuconostoc mesenteroides* na cana-de-açúcar cortada, acarreta efeitos econômicos prejudiciais, levando a uma perda diária de 4,75 % de sacarose. Cuddhy et al. (2001) descrevem que a perda de sacarose na cana-de-açúcar tanto na colheita, quanto transporte e indústria são um dos principais problemas ocorridos devido a presença de dextranas. Em caldos, xaropes e açúcar, esse polissacarídeo pode causar uma leitura falsa da Pol, uma vez que a dextrana polariza aproximadamente três vezes mais do que a sacarose.

A concentração de dextranas no açúcar está invariavelmente relacionada a fatores ambientais e/ou falhas operacionais no manejo da cana ainda no campo ou durante o seu processamento nas usinas. Em relação aos fatores ambientais destacam-se como pontos críticos as variações abruptas de temperatura nas plantações, a infestação da cana por pragas que provocam rachaduras nos colmos da cana e o excesso de umidade causado por chuvas durante a colheita (RAVNO; PURCHASE, 2006). Dentre os fatores operacionais que contribuem para o aumento do teor de dextranas destacam-se a colheita tardia da cana, a prática de queimadas, o uso de ferramentas contaminadas, o empilhamento da cana durante o corte manual, o corte mecanizado feito muito rente ao solo, fraturas na cana devido ao ajuste incorreto das colheitadeiras, o tempo decorrido entre corte e o processamento e as contaminações cruzadas na usina (CLARKE, 1997).

O tempo médio de queima acima de 72 horas juntamente com a temperatura elevada e altos índices de umidade, propiciaram uma maior contaminação e consequentemente, aumento da produção de dextrana, implicando diminuição da eficiência industrial da produção do açúcar (OLIVEIRA et al., 2002). A queima inativa a enzima fenol-oxidase que apresenta função protetora ou antimicrobiana na planta. Em um estudo na Louisiana (EUA), foi observado a partir de 12 a 48 horas após a queima da cana-de-açúcar, pode haver um aumento de aproximadamente dez vezes no teor de dextranas, atingindo valores de até 3200 ppm (JIMÉNEZ, 2005). Segundo Cuddihy et al. (2001), estudos mostraram que a formação de dextrana foi muito maior em cana queimada do que em cana crua, possivelmente pelo acesso facilitado da *L. mesenteroides* devido a degradações na superfície da casca da cana ou pela inativação da enzima fenol-oxidase.

Alvarez e Cardenty (1988) demonstraram que o nível de dextrana presente no açúcar foi reduzido em pelo menos 75 % com a adoção de algumas práticas pelas indústrias tais

como: redução no tempo de queima, manutenção das lâminas das cortadeiras afiadas, estocagem da cana cortada manualmente separada da cortada mecanicamente, redução do tempo e quantidade da cana armazenada, manutenção da limpeza da área de armazenagem de cana e das moendas. Kepec (1996) sugeriu a higienização da área de armazenagem e dos equipamentos usados no processamento da cana, através da utilização simultânea de formalina 50 % e 25 ppm de compostos de amônio quaternário.

A colheita de cana picada (mecanizada) aumenta a exposição do colmo, deixando-o mais propenso ao ataque de micro-organismos, acelerando dessa forma o processo de deterioração (KROES e HARRIS, 1994). De acordo com Caldas, Silva e Carvalho (1998), o teor de dextrana tem relação exponencial em função do tempo gasto entre a queima, corte e processamento industrial.

Estudos mostraram que uma cepa de *L.mesenteroides* isolada em uma usina de açúcar na Argentina consumiu sacarose a uma taxa de 8,46 g / L / h durante as 6 primeiras horas a 30 ° C. O consumo da sacarose foi reduzido com aumento da temperatura (JIMÉNEZ, 2005). Apesar do *Leuconostoc mesenteroides* ser o principal responsável pela presença de dextranas em açúcar de cana-de-açúcar, a presença de outras espécies bacterianas como as dos gêneros *Lactobacillus* e *Streptococcus* pode ser responsável pelo surgimento de dextranas com diferentes massas molares, as quais podem contaminar a cana ainda no campo ou nas usinas, por exemplo por meio da água de lavagem da cana (NAESSENS et al., 2005; KIM et al., 2003).

A maioria das usinas adota as especificações de açúcar definidas pela COPERSUCAR, que são apresentadas na Tabela 6. Todavia esses valores apresentam ligeiras variações em açúcares produzidos em usinas que não pertencem a este grupo.

Tabela 8 - Especificação para dextrana nos principais tipos comerciais de açúcar produzidos no Brasil.

Características	Tipos de açúcar					
		Tipo 1	Tipo 2A	Tipo 2G	Tipo 4	VVHP
Dextrana (mg/kg)	Máx.	-	100	100	-	100

Fonte: (OLIVEIRA et al., 2007).

NOTA: (-) Não é parâmetro classificatório.

Dados sobre a quantificação de dextranas totais em açúcares brasileiros, variaram de 109,5 até 1840 mg/kg, com uma mediana de 820 mg/kg. O valor mediano é suficiente para

desencadear a formação de depósitos em água ardente que apresentam uma concentração de sacarose na ordem de 6 g/L (RODRIGUES et al., 2007).

Segundo Lopes (1993), no Brasil recomenda-se que o teor de dextrana no açúcar cristal seja no máximo de 250 ppm. Segundo Mantelatto (2005), a alta afinidade da dextrana a sacarose, faz com que durante o processamento, a permanência desse polissacarídeo no produto final seja maior que o amido. Além disso, devido a elevada solubilidade da maioria das dextranas em água (acima de 30 mg/mL), é muito difícil remover esses polissacarídeos do caldo utilizando a filtração (YANLI et al., 2002). O aumento da concentração de dextranas reduz progressivamente a higroscopicidade das soluções de sacarose. As dextranas não exibem preferencial ligação com a água e em relação a sacarose, a água liga-se a ambos os componentes com a mesma probabilidade (BASHARI et al., 2012).

A presença de dextrana na cana-de-açúcar forma uma massa gelatinosa que pode bloquear as peneiras durante o processamento do açúcar, torna os méis mais viscosos e retarda a cristalização da sacarose (DELGADO; AZEREDO, 1977). Além disso, a dextrana dificulta a evaporação do caldo, aumenta a perda de açúcar para o melaço e dificulta a separação do mel na etapa de centrifugação dos cristais de açúcar (KIM et al., 2004; SINGLETON et al., 2001).

As dextranas com massas molares elevadas são insolúveis, enquanto que as de baixa massa molar são solúveis e causam maiores dificuldades no processo de produção de açúcar (JIMÉNEZ, 2005). Em estudo realizado por Bashari et al. (2012), pode-se verificar que soluções de sacarose com dextranas de maiores massas molares e concentração apresentam taxa de cisalhamento maiores e menores viscosidades, sugerindo um comportamento de pseudoplástico para essas soluções. Lopez et al. (2005) verificaram que soluções de sacarose adicionadas de dextranas com massas molares maiores (5×10^5 e 2×10^6 g/mol), mostraram comportamento pseudoplástico.

Segundo Clarke (1997), a dextrana presente na cana-de-açúcar no nível de 300 ppm, causa distorção na polarização do açúcar bruto, propiciando problemas no processo de refinação. O nível de 400 ppm de dextrana pode alterar o formato do cristal de açúcar e aumentar a viscosidade do caldo durante processamento. Problemas na alongação do cristal de açúcar bruto também podem ocorrer na presença de 600 ppm de dextrana. A Figura 6 ilustra o alongamento de cristais de açúcar devido alta concentração de dextrana.

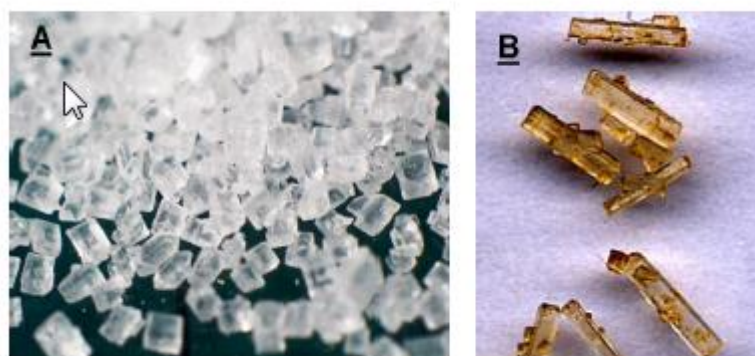


Figura 6 - Padrão normal dos cristais de açúcar (A) x cristais de açúcar alongados devido a presença de dextranas (B).

Fonte: (Adaptado de <http://www.opticalactivity.com/dextran/>).

A presença de dextranas durante o processo de evaporação nas usinas provoca aumento de depósitos e incrustações na superfície do equipamento, aumentando a perda de energia nessa etapa (CLARKE, 1997).

A experiência tem demonstrado que a melhor forma de eliminação da dextrana é a aplicação durante a fabricação de açúcar, de enzimas tipo dextranase, que atuam no rompimento da elevada cadeia carbônica em compostos de menor peso molecular. (CUDDIHY et al., 2001).

O elevado preço das dextranases disponíveis no mercado, entretanto, tem um impacto direto no preço final do açúcar (OLIVEIRA, 2007). Métodos físicos como diálise, ultrafiltração e osmose reversa são muito úteis, mas não estão tecnologicamente desenvolvidos para aplicação no processamento da cana-de-açúcar. Alguns desses métodos já foram testados em usinas dos Estados Unidos, mas não foi observado retorno do investimento de implantação (JIMÉNEZ, 2005).

3.5 Formação de floco ácido e floco alcoólico

A produção de açúcar totalmente isento de polissacarídeos tem sido um desafio em todo o mundo. O aparecimento de flocos principalmente em refrigerantes transparentes causa a falsa impressão de produto deteriorado ou contaminado, sendo indesejável. Estes flocos, originados pela presença de resíduos de polissacarídeos da cana, em nada afetam o produto acabado além do aspecto visual, são totalmente redissolvidos mediante ligeira agitação do frasco e também podem voltar a se formar após 2-3 meses de vida de prateleira (OLIVEIRA, 2007).

A adição de açúcar em destilados é uma prática comum, principalmente entre os produtores que obtêm a sua bebida por destilação em coluna e pelos engarrafadores que elaboram a sua bebida a partir da mistura de outras, normalmente compradas de pequenos produtores (FURTADO, 1995). Na produção de cachaça, por exemplo, o principal problema decorrente da adição de açúcar é a formação de depósitos (CARDELLO, 2000).

Segundo Machado e Moretti (1997), algumas das evidências que relacionam a formação de flocos alcoólicos ou depósitos em aguardente adoçada com a presença de polissacarídeos no açúcar são:

- Formação de uma solução coloidal somente em aguardente adoçada, que pode ser separada tanto por osmose reversa quanto por ultrafiltração;
- Aguardente adoçada submetida a testes de calor e ponto isoelétrico não tem formação de precipitados, provando que esses flocos não são de constituição protéica;.
- Quando utilizado açúcar com pequenas quantidades de polissacarídeos, não se observa a formação de flocos alcoólicos em aguardente adoçada.

Segundo Aquino (2009), é possível estimar que uma aguardente adoçada, com acidez próxima dos valores medianos aos encontrados no mercado para cachaças de coluna, mantida sob estocagem na faixa de 25-30 °C e contendo dextranas com massa molar da ordem de 10^6 Da, demandará um tempo mínimo de 90 dias para a formação de precipitados.

Tais precipitados, mostrados na Figura 7, denominados também de flocos alcoólicos, desvalorizam comercialmente a cachaça pela associação que os consumidores fazem dos mesmos a falhas de higiene durante o seu processo produtivo ou a baixa qualidade da sua matéria-prima.



Figura 7 - Precipitado (flocos alcoólicos) em cachaça.
(Fonte: AQUINO, 2009).

Na avaliação da eficiência da filtração para controle de dextranas, o estudo realizado por Aquino e Franco (2008) concluiu através da adição de 500 ppm de padrões de dextranas com diferentes massas molares, $5,9 \times 10^6$, $4,86 \times 10^4$ e $1,16 \times 10^4$ Da em soluções etanólicas (40 % v/v), que após 24 horas a 4 °C, a filtração eliminou 83,3 % das dextranas de M_w $5,90 \times 10^6$ e somente de 5,0 a 12,1 % das demais dextranas ($M_w = 4,86 \times 10^4$, e $1,16 \times 10^4$ Da). Os resultados indicaram que procedimentos como o resfriamento e a posterior filtração da cachaça, nas condições do ensaio realizado, não são suficientes para retirar as dextranas, principalmente a fração de menor massa molar. A concentração remanescente (16,7 %) ainda poderá desencadear a formação de flocos. As dextranas presentes nas frações de menor massa molar, também poderão desencadear a formação de flocos conforme já relatado em soluções parenterais de dextrana com massa molar de $4,00 \times 10^4$ ou $7,00 \times 10^4$ Da.

Muitos estudos indicam que a formação de flocos alcoólicos está associada com a presença de dextranas no açúcar, pelo fato da insolubilidade da dextrana em soluções etanólicas. Outros fatores, com menor preponderância, são o tempo de envase, temperatura e concentração hidrogeniônica da bebida alcoólica (AQUINO, 2009).

É bem estabelecido que a solubilidade das dextranas em soluções hidroalcoólicas é altamente dependente da sua massa molar e que mesmo as dextranas de baixa massa molar tornam-se insolúveis com o aumento da concentração de etanol nestas soluções (AQUINO, 2009). Dextranas com massa molar mais elevada tenderão a precipitar mais rapidamente mesmo em destilados de menor teor alcoólico (AQUINO e FRANCO 2008). Segundo Stenekes, Talsma e Hennik (2001), ao avaliarem a formação de precipitados de dextranas (massa molar $6,0 \times 10^3$ Da) em soluções aquosas para o uso farmacêutico, demonstraram que mais de 95 % das partículas formadas apresentavam diâmetros superiores a 5 μ m.

Segundo Aquino (2009), testes realizados com a redução da acidez da aguardente de 29,5 mg ácido acético/100 mL para 13,9 mg ácido acético/100 mL de aguardente, demonstraram claramente a influência da acidez total quanto ao favorecimento da precipitação das dextranas de alta massa molar numa mesma temperatura. Em testes comparativos, com a redução da temperatura de estocagem em 10 °C observou-se que a acidez tem maior influência na precipitação de dextranas de alta massa molar média do que a temperatura de estocagem. Segundo o mesmo autor, não foi observada a influência dos elementos Ca, Mg, Cu e Fe e da incidência de luz na formação de precipitados nos sistemas modelos avaliados de aguardente.

Segundo estudo realizado por FILHO (2000), a presença de dextranas é um fator extremamente importante para a formação de flocos em bebidas alcoólicas. Observou-se que a

formação de precipitado deixa de ser significativa a partir de 275 dias de estocagem de aguardente com 0,5 mg/L de dextrana e que o mesmo produto com concentração inferior a 0,25 mg/L de dextrana, não forma precipitados.

A formação de flocos não está restrita somente à presença de dextranas. A presença de outros carboidratos, polifenóis e aminoácidos são citados na literatura como componentes de precipitados ou névoas em bebidas destiladas e fermentadas (BOSO, 2001; FREITAS, 2003).

O aminoácido prolina foi relacionado como potencial formador de precipitados ou turbidez em bebidas contendo polifenóis (SIEBERT et al., 2005). Em floco isolado de uma amostra de cachaça comercial adoçada, a percentagem em massa de prolina foi de 18,76 % (BOSO, 2001).

O desenvolvimento de turvações e a formação de depósitos indesejados devido a adição de açúcar ocorrem também em refrigerantes (OLIVEIRA, 2007) e em outras bebidas alcoólicas como *bitters* ou amargos, obtidos a partir da infusão de raízes, ervas aromáticas e folhas em destilados alcoólicos que no Brasil tem como exemplo mais conhecido a bebida Campari® (REFSGAARD, 1996).

Refrigerantes e licores são formuladas com base em xaropes de sacarose. Refrigerantes, principalmente do sabor limão, vêm apresentando problemas de deposição de flocos passados alguns dias do envase. Algumas engarrafadoras para evitar esse tipo de problema mantêm um controle sobre a qualidade do açúcar baseado em testes de presença de polissacarídeos (MACHADO e MORETTI, 1997).

O mecanismo de formação do floco de bebida carbonatada ácida ainda não é totalmente conhecido. Segundo Clarke et al. (1999), conhecido como floco ácido ABF (*Acid Beverage Floc*), tem início com a formação de um “floco intermediário”, através da interação de proteínas com polissacarídeos *ISP*. Na sequência, há interação com amido, dextranas, silicato, substâncias coloidais solúveis e outros polissacarídeos. O ácido glucurônico proveniente do *ISP* e os resíduos de amina primários são de carga oposta ao pH de bebidas e através da atração de carga, se combinam para formar um coacervato como a base para formação de uma rede de flocos.

Segundo Liuzzo et al. (1982), no açúcar de beterraba, o causador da formação de flocos em bebidas ácidas é a presença de saponina. Para o açúcar de cana-de-açúcar, esforços para a identificação de compostos relacionados a formação dos flocos levaram a análise de várias impurezas do açúcar: amido, cera, proteína, dióxido de silício e cinzas. Foi verificado que os aminoácidos presentes no floco de bebidas carbonatas ácidas estão diretamente ligados com o potencial no açúcar em flocular. Eles concluíram que a amilose juntamente com outros

componentes, em especial proteínas, eram potenciais responsáveis pela formação do flocos. Para prevenção da formação dos flocos deve ser realizada análise de proteínas antes da utilização do açúcar.

Na indústria alimentícia, a presença de polissacarídeos como contaminantes do açúcar impede o endurecimento de balas dificultando a sua embalagem, aumenta o efeito “puxa – puxa” em barras de cereais e dificultando a filtração de caldas de açúcar (OLIVEIRA, 2007).

Diante das considerações apresentadas neste tópico de revisão de literatura, verifica-se a importância deste estudo para avaliar a influência da dextrana e amido, polissacarídeos mais relevantes da cana-de-açúcar, na formação de flocos em soluções ácidas e alcoólicas. A determinação dessa relação pode ser utilizada como ferramenta para o direcionamento de diferentes classificações de açúcar para a produção de bebidas ácidas ou alcoólicas, propiciando dessa forma o atendimento aos requisitos de qualidade e reduzindo as rejeições dessas bebidas. Além disso, alternativas como o uso de enzimas no processamento de açúcar podem ser estudadas e validadas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Açúcar cristal

Foram coletadas 21 amostras de açúcar cristal de cana-de-açúcar produzidas por uma usina do estado de São Paulo.

As amostras identificadas de 1 a 9 foram coletadas no dia dezesseis de junho de dois mil e onze. A cana utilizada para a produção dessas amostras foi colhida com no máximo 48 horas de antecedência da moagem, 40 % da cana-de-açúcar utilizada foi queimada, sendo que nessa condição, 13 % foi queimada por mais de 120 horas. Do total de cana utilizada, 30% foi colhida mecanicamente.

As amostras identificadas de 10 a 21 entre os dias dezoito e dezenove de outubro de dois mil e onze. A cana utilizada para produção dessas amostras foi colhida com no máximo 48 horas de antecedência a moagem, 54 % da cana-de-açúcar utilizada foi queimada, sendo que nessa condição, 84 % foi queimada por mais de 120 horas. Do total de cana utilizada, 54 % foi colhida mecanicamente.

Foram coletadas 500g de amostra a cada 03 horas no momento do envase.

As amostras foram armazenadas em embalagens de polipropileno, mantidas fechadas em ambiente seco e fresco, sob o abrigo da luz.

4.1.2 Reagentes

Os reagentes: Cloreto de Cálcio 99-105 %, Ácido Acético 99,7 %, Ácido Tricloroacético (TCA), Benzoato de sódio, Álcool etílico absoluto 99,5 % e Ácido ortofosfórico 85 % foram obtidos do fornecedor Synth.

Os reagentes: Iodato de Potássio 99,0 % e Iodeto de Potássio 99,0 % foram obtidos do fornecedor Merck, assim como os padrões p.a de dextrana, sacarose e amido de batata.

A enzima α – amilase (*Aspergillus oryzae*, solução aquosa com ≥ 800 FAU/g) foi adquirida do fabricante Sigma Aldrich.

A água mineral com gás (água carbonatada) utilizada foi da marca comercial Crystal, do fabricante Coca-Cola.

Foi utilizada água deionizada tipo II para preparo das soluções.

4.1.3 Instrumentação

Para quantificação de amido, dextrana e análise de turbidez, utilizou-se um espectrofotômetro UV/Visível, com leitura digital de absorbância, banda de passagem máxima de 10 nm e capacidade para uso de célula de 10 mm de percurso óptico, marca Hach, modelo DR/4000V.

Para a medição da turbidez após finalização do ensaio de floco ácido, foi utilizado um turbidímetro marca Hach modelo 2100P, faixa de trabalho 0 – 1000 NTU, resolução de 0,01 e com célula de amostra de 60,0 mm de altura e 25 mm diâmetro.

Os demais materiais seguem de acordo com as descrições dos métodos utilizados.

4.2 Método

4.2.1 Quantificação de amido

Foi utilizado o método analítico GS1-16 (2009) definido pela IMCUSA (*International Commission for the Uniform Methods of Sugar Analysis*) e todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Para a determinação da curva de calibração, foram pesadas amostras de $3,60 \pm 0,02$ g de sacarose sendo posteriormente dissolvida em um balão volumétrico de 50 mL em uma série de nove balões. Foi adicionada água deionizada e soluções padrões de amido em cada balão conforme apresentado na Tabela 9.

Tabela 9 – Preparo das soluções padrões para determinação da curva de calibração de análise de amido em açúcar cristal.

Balão n°	Solução 1 (mL)	Solução 2 (mL)	Solução 3 (mL)	Água deionizada (mL)	Concentração de amido na solução final (mg/kg)
1	-	-	-	7	0
2	2	-	-	5	25
3	-	1	-	6	50
4	-	2	-	5	100
5	-	3	-	4	150
6	-	4	-	3	200
7	-	5	-	2	250
8	-	7	-	-	350
9	-	-	2	5	500

NOTA: Solução 1- solução padrão de amido a 45 mg/L; Solução 2 - solução padrão de amido a 180 mg/L; Solução 3 - solução padrão de amido a 900 mg/L.

Em seguida, foi adicionado a cada balão, $15 \pm 0,05$ mL de solução de cloreto de cálcio/ácido acético (Solução 40 % de cloreto de cálcio ajustada para pH 3,0 com solução de ácido acético 0,033 mol/L), sendo a mistura homogeneizada. Os balões foram tampados e colocados em banho maria com água em ebulição por 15 ± 1 minutos.

O tempo entre a adição de água para dissolução de açúcar e a entrada dos balões no banho maria foi controlado para que não excedesse 30 minutos.

Passados 15 ± 1 minutos em banho maria, os balões foram resfriados em água corrente até temperatura ambiente. Em cada balão, foi adicionado $15 \pm 0,05$ mL de solução de ácido acético 0,033 mol/L e $10 \pm 0,5$ mL da solução de iodeto de potássio, e posteriormente foi completado o volume com água deionizada e homogeneizado. As leituras de absorbância para cada solução foram realizadas a 700 nm, no intervalo de 10 a 20 minutos após a adição da solução de iodeto. Foi utilizada água deionizada como prova em branco. A Figura 8 apresenta a curva de calibração obtida.

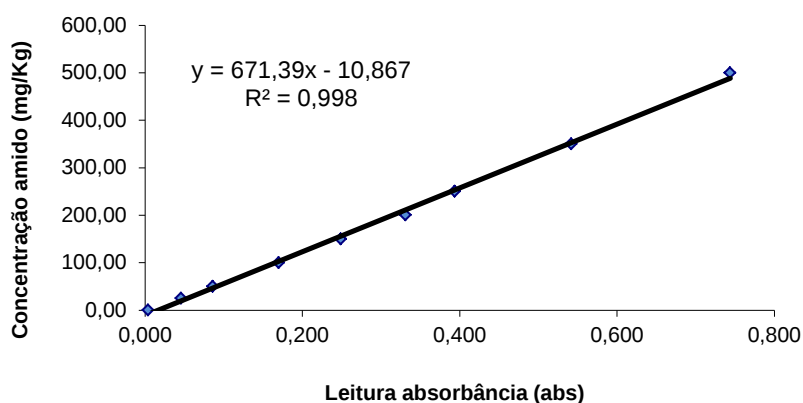


Figura 8 - Curva de calibração para quantificação de amido em amostras de açúcar cristal.

O padrão de amido utilizado foi amido de batata. Segundo estudo realizado por Figueira (2009), verificou-se que não há diferença entre os valores de teor de amido nos caldos de cana-de-açúcar determinados para cada cultivar de cana-de-açúcar com as curvas padrões de amido de batata e de cana-de-açúcar.

Para quantificação de amido, foram pesadas amostras de $3,6 \text{ g} \pm 0,2 \text{ g}$ de açúcar cristal em dois balões volumétricos de 50 mL, identificados como balão 1 (prova em branco) e balão 2 (amostra). Em seguida, realizou-se a transferência de 7 mL de água deionizada para cada balão, seguindo com a adição de $15,00 \text{ mL} \pm 0,05 \text{ mL}$ da solução de cloreto de cálcio/ácido acético (solução 40 % de cloreto de cálcio ajustada para pH 3,0 com solução de ácido acético 0,033 mol/L). Em seguida a mistura foi homogeneizada.

Os balões foram fechados e colocados em banho maria com água em ebulição por 15 ± 1 minuto. Os balões foram removidos do banho, resfriados em água corrente até a temperatura ambiente. Em seguida foi adicionado em cada balão $15 \pm 0,05$ mL de solução de ácido acético 0,033 mol/L. No balão 1 (prova em branco) foi adicionado água deionizada até completar o volume. No balão 2 (amostra) foi adicionado $10 \pm 0,5$ mL da solução de iodeto/iodato de potássio (composta por $10,0 \pm 0,5$ mL de solução 10% de iodeto de potássio em $90,0 \pm 0,5$ mL de água deionizada e $100,0 \pm 0,5$ mL de solução de iodato de potássio 0,0017 mol/L) e o volume completado com água deionizada. Após homogeneização a absorbância das soluções foi medida a 700 nm no intervalo de 10 a 20 minutos após a adição de iodeto/iodato, usando a solução contida do balão 1 como prova em branco.

4.2.2 Quantificação de dextrana

Foi utilizado o método analítico GS1/2/9-15 (2009) definido pela IMCUSA (*International Commission for the Uniform Methods of Sugar Analysis*) e todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Para determinação da curva de calibração, em 09 erlemeyers foram adicionados 8,0 mL da solução de sacarose /TCA. A solução de dextrana e a água deionizada foram adicionadas nas quantidades apresentadas na Tabela 10. Em seguida foi adicionado a cada solução álcool absoluto até completar volume de 25 mL, seguido de agitação. O tempo entre adição do álcool e adição da solução de dextrana e solução de sacarose/TCA não deve ser superior a 20 minutos. Para a solução de branco, foi adicionada água destilada em substituição do álcool absoluto. Foi calculada a concentração de dextrana para cada solução da Tabela 10, seguindo critérios definidos no Método GS1/2/9-15 (2009).

Tabela 10 – Preparo das soluções padrões para determinação da curva de calibração de análise de dextrana em açúcar cristal.

Amostra N°	Solução sacarose / TCA (mL)	Solução 1 (mL)	Solução 2 (mL)	Água deionizada (mL)	Concentração de dextrana na solução final (mg/Kg)
1	8	0	-	4,5	0
2	8	1	-	3,5	20
3	8	2	-	2,5	40
4	8	3	-	1,5	60
5	8	4	-	0,5	80
6	8	-	0,6	3,9	120
7	8	-	0,8	3,7	160
8	8	-	1	3,5	200
9	8	-	-	17	Branco

NOTA: Solução 1 - solução de dextrana a 0,08 mg/mL; Solução 2 - solução de dextrana a 0,8 mg/mL.

Foi realizada a leitura da absorbância das soluções a 720 nm, em célula de 50 mm, iniciando pela correção da cubeta zerando o espectrofotômetro com a prova em branco.

Com os valores de absorbância obtidos das leituras, foi montada a curva de calibração utilizando a concentração de dextrana de cada solução. A Figura 9 apresenta a curva de calibração para utilização em açúcar com alta concentração de dextrana e a Figura 10 a curva de calibração para açúcar com baixa concentração de dextrana.

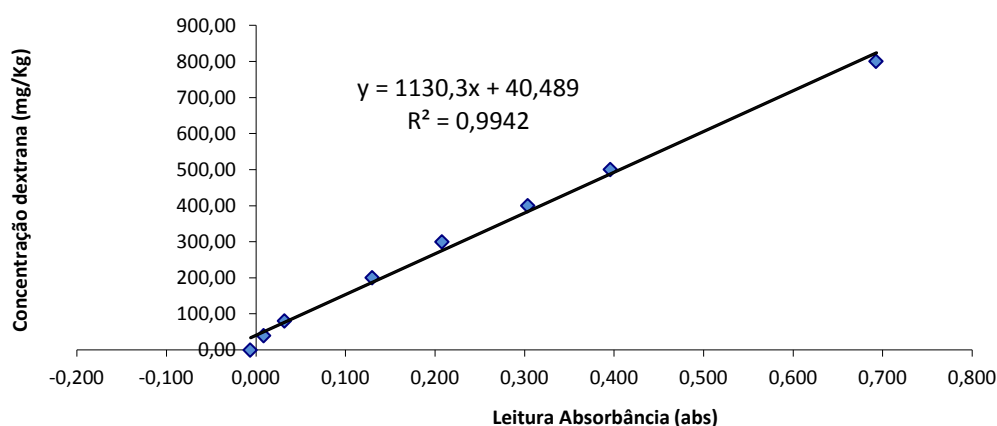


Figura 9 - Curva de calibração para açúcar com alta concentração de dextrana.

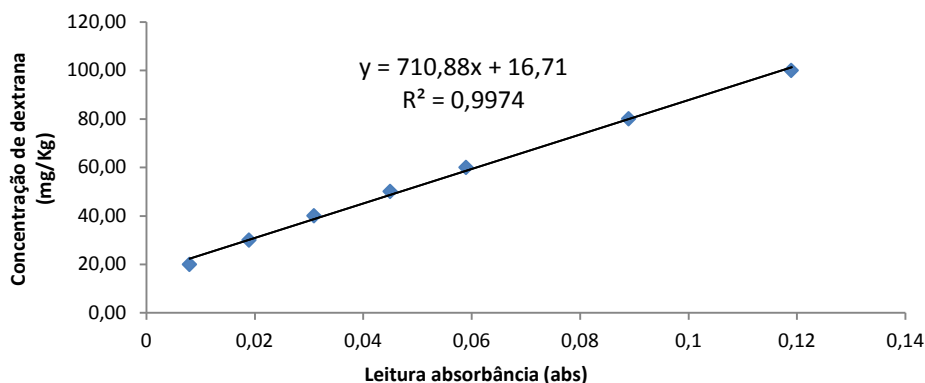


Figura 10 - Curva de calibração para açúcar com baixa concentração de dextrana.

Para a quantificação de dextrana em açúcar cristal, foram pesadas amostras de $32,0 \pm 0,1$ g em erlemeyer de 200 mL, sendo, em seguida, adicionados 50 mL de água deionizada para dissolver a amostra.

Foi adicionado 0,1mL de enzima α -amilase na solução. A solução foi mantida em banho a 55 ± 5 °C por 15 ± 2 minutos e resfriada até temperatura ambiente em água corrente. Foi adicionada em seguida $10 \pm 0,1$ mL da solução TCA, completado o balão volumétrico com água deionizada e homogeneizado.

A solução foi filtrada em conjunto de filtração conectado ao sistema de vácuo, composto de pré-filtro médio 3362 e diâmetro 47 mm e filtro membrana ME 25 0,45 μ m com diâmetro 47 mm.

Com uma pipeta volumétrica, 25,0 mL do filtrado foi dividido em dois béqueres previamente limpos e secos. No béquer 1 foi adicionado vagarosamente 25,0 mL de álcool etílico, sob agitação manual e movimentos circulares. O tempo total da adição de álcool foi entre 30 a 60 segundos. As soluções foram agitadas e deixadas em repouso por 20 ± 1 minuto.

No béquer 2, foram adicionados 25 mL de água deionizada para preparo do branco.

Foi realizada a leitura da absorvância da solução a 720 nm, em célula de 50 mm, iniciando pela correção da cubeta zerando o espectrofotômetro com a prova em branco.

4.2.3 Determinação de floco alcoólico

Foi utilizada como referência a método do CTC (*Centro de Tecnologia Canavieira*), CTC-LA-MT1-017, Versão 04, de 01/08/2011. Foram pesadas amostras em triplicata de $50,0 \pm 0,5$ g de açúcar. As amostras foram dissolvidas em $50,0 \pm 0,5$ g de água deionizada. A solução foi aquecida até ebulição e filtrada rapidamente em conjunto de filtração com membrana de $0,8 \mu\text{m}$. Em seguida, a solução foi resfriada até temperatura ambiente.

Em um erlenmeyer de 250 mL foram adicionados 49 mL da solução filtrada, 55 mL de água deionizada e 120 mL de álcool etílico absoluto. A mistura foi homogeneizada e acondicionada tampada por 15 minutos.

A leitura de absorvância da mistura foi realizada em célula de 10 mm com espectrofotômetro a um comprimento de onda de 420 nm, utilizando como branco a solução alcoólica 55 % v/v.

Os resultados foram expressos em unidades de absorvância a 420 nm.

O teste é baseado na insolubilidade dos polissacarídeos em álcool e consequente geração de turbidez na solução que é medida por espectrofotometria.

O resultado do teste de floco alcoólico é expresso em unidades de absorvância, que segundo Leal (2012) é a capacidade de um componente absorver energia radiante.

4.2.4 Avaliação da redução de amido no teste de floco alcoólico

O preparo da solução para teste de floco alcoólico foi conduzido de acordo com o método do CTC (*Centro de Tecnologia Canavieira*), CTC-LA-MT1-017, Versão 04, de 01/08/2011, descrito no item anterior. Entretanto foi realizada a medição da quantidade de amido presente na solução antes e depois da filtração descrita pelo método. O intuito dessa medição foi avaliar a quantidade de amido retida na filtração.

Para determinação do amido presente na solução de açúcar dissolvido em água, foi utilizado como referência o método descrito pelo CTC (*Centro de Tecnologia Canavieira*), CTC-LA-MT1-018 versão 03 de 01/08/11. A curva de calibração foi determinada conforme descrito em 3.2.1 e os valores obtidos foram utilizados para a quantificação de amido no açúcar cristal e para quantificação de amido na solução de açúcar dissolvida em água para a realização do teste de floco alcoólico.

Foram pesadas amostras de $3,6 \pm 0,2$ g de açúcar cristal em dois balões volumétricos de 50 mL identificados como balão 1 (prova em branco) e balão 2 (amostra). Em seguida, realizou a transferência de $15,00 \pm 0,05$ mL da solução de cloreto de cálcio/ácido acético (solução 40 % de cloreto de cálcio ajustada para pH 3,0 com solução de ácido acético 0,033 mol/L). Em seguida a mistura foi homogeneizada.

Os balões foram fechados e colocados em banho maria com água em ebulição por 15 ± 1 minutos. Os balões foram removidos do banho, resfriados em água corrente até a temperatura ambiente. Em seguida foi adicionado em cada balão $15 \pm 0,05$ mL de solução de ácido acético 0,033 mol/L. No balão 1 (prova em branco) foi adicionado água deionizada até completar o volume. No balão 2 (amostra) foram adicionados $10 \pm 0,5$ mL da solução de iodeto/iodato de potássio (composta por $10,0 \pm 0,5$ mL de solução 10 % de iodeto de potássio em $90,0 \pm 0,5$ mL de água deionizada e $100,0 \pm 0,5$ mL de solução de iodato de potássio 0,0017 mol/L) e o volume completado com água deionizada. Após homogeneização a absorbância das soluções foi medida a 700 nm no intervalo de 10 a 20 minutos após a adição de iodeto/iodato, usando a solução contida do balão 1 como prova em branco.

4.2.5 Teste forçado para formação de floco alcoólico

Foi utilizada como referência o método descrito por Koblitiz et al. (1999). É um método desenvolvido na Companhia Muller de Bebidas (Pirassununga SP) onde se busca aceleração da formação de flocos. Foram pesados dois gramas de cada amostra de açúcar cristal sendo em seguida dissolvidos em 13 mL de água e adicionados de 85 g de álcool anidro. A solução foi agitada e deixada acondicionada em frascos plásticos transparentes, fechados e mantidos em ambiente seco e fresco, ao abrigo de luz. As amostras foram analisadas em triplicata a cada 15 horas até a finalização de 84 horas de estocagem.

Os resultados visuais foram pontuados de acordo com os seguintes critérios:

- 0 - Ausência de flocos e turvação
- 1 - Solução turva
- 2 - Presença de poucos flocos
- 3 - Presença de muitos flocos

4.2.6 Determinação de floco ácido

Foi utilizado como referência o método descrito pelo CTC (*Centro de Tecnologia Canavieira*), CTC-LA-MT1-025 versão 04, de 14/03/11.

Foram pesadas amostras em triplicata de $55,0 \pm 0,1$ g da amostra de açúcar. As amostras foram dissolvidas com 60 mL de água deionizada em erlenmeyer de 250 mL. A solução foi aquecida a temperatura de 75 ± 5 °C e filtrada em papel de filtro Whatman nº 54. Foi adicionado ao filtrado 5 mL da solução de benzoato de sódio a 0,1 % (m/v), 4 mL de ácido fosfórico 0,67 mol/L.

A solução foi transferida para proveta graduada de 500 mL e o volume completado com água carbonatada, sendo em seguida acondicionada em garrafas pet transparente de 500 mL devidamente tampadas e estocadas a temperatura ambiente.

A prova em branco foi realizada adicionando-se 5 mL de solução de benzoato de sódio a 0,1 % e 4 mL da solução de ácido fosfórico 0,67 mol/L em proveta graduada de 500 mL e o volume completado com água carbonatada.

No terceiro, sétimo e décimo dia de estocagem foi realizada inspeção visual do produto com auxílio de luz incidente diretamente na garrafa. Foi avaliada a formação de flocos. Os resultados foram classificados de acordo com os critérios apresentados na Figura 11, sendo que todos os ensaios foram realizados em triplicata.

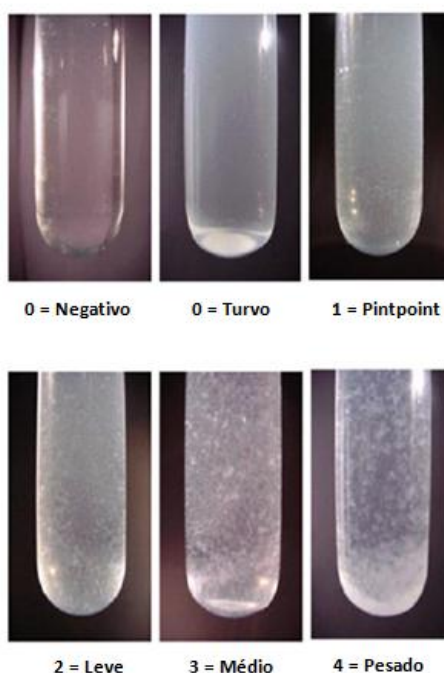


Figura 11 - Resultados do teste de floco ácido segundo método CTC-LA-MT1-025.

Após a avaliação visual do décimo dia, as amostras foram homogeneizadas, transferidas para uma cubeta até atingir a marca indicada (aproximadamente 15 mL) e submetidas à leitura em turbidímetro, calculando-se a razão entre a luz refletida e a transmitida, corrigindo interferências de cor e outras substâncias que absorvam luz. O objetivo desse ensaio é estabelecer uma relação entre a avaliação visual e o valor em unidades nefelométricas de turbidez de cada solução.

4.2.7 Teste modificado de floco ácido

O ensaio realizado foi o mesmo descrito no item 3.2.6, entretanto para a filtração inicial da solução de açúcar em água deionizada, utilizou-se papel de filtro 0,8 μm 47 mm Ø em substituição ao filtro Whatman nº 54. O intuito desse teste foi a remoção do amido presente na solução, uma vez que os grânulos de amido na cana-de-açúcar apresentam tamanhos entre 1 – 10 μm . Dessa forma a avaliação da influência da dextrana na formação de floco ácido pode ser considerada livre da presença de amido.

4.2.8 Análise estatística

Foram coletadas 21 amostras aleatórias de açúcar cristal, avaliando-se a influência de duas variáveis, teor de dextrana e teor de amido na formação de floco alcoólico, turbidez do teste de floco ácido e formação de floco alcoólico em teste forçado.

O cálculo de correlação entre as variáveis independentes e as variáveis dependentes foi conduzido por intermédio do programa Statistica 7.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA), a um nível de 5 % de significância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 95 % de confiança.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Quantificação de dextrana e amido

As Tabelas 11 e 12 apresentam os valores obtidos nas análises de quantificação de amido e dextrana das 21 amostras de açúcar cristal.

Tabela 11 - Quantidades de amido e dextranas nas amostras de açúcar cristal produzidas em junho de 2011.

Amostra	Dextrana (mg/kg)	Amido (mg/kg)
1	49,39 ± 0,72 ^b	56,34 ± 1,71 ^d
2	24,21 ± 0,88 ^{de}	104,13 ± 1,86 ^b
3	15,39 ± 0,38 ^e	166,14 ± 2,54 ^a
4	24,94 ± 1,01 ^d	49,11 ± 1,14 ^e
5	36,79 ± 1,53 ^c	65,00 ± 0,95 ^{cd}
6	25,79 ± 3,10 ^d	61,42 ± 0,84 ^{cd}
7	73,55 ± 1,27 ^a	67,69 ± 6,18 ^c
8	53,68 ± 0,61 ^b	61,64 ± 1,10 ^{cd}
9	23,49 ± 0,79 ^{de}	56,49 ± 0,84 ^d

NOTA: Médias em mg/kg ± Desvio Padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 95% de confiança.

Tabela 12 - Quantidades de amido e dextranas nas amostras de açúcar cristal produzidas em outubro de 2011.

Amostra	Dextrana (mg/kg)	Amido (mg/kg)
10	650,93 ± 1,21 ^d	219,60 ± 2,49 ^f
11	433,59 ± 1,73 ^f	168,35 ± 1,96 ^h
12	426,88 ± 1,96 ^{fg}	150,09 ± 1,61 ⁱ
13	228,00 ± 0,87 ^h	168,98 ± 1,67 ^h
14	699,64 ± 1,40 ^c	299,92 ± 1,05 ^a
15	132,89 ± 2,36 ⁱ	207,03 ± 1,76 ^g
16	403,77 ± 3,72 ^{fg}	272,75 ± 1,41 ^b
17	501,28 ± 4,48 ^e	237,83 ± 2,13 ^d
18	788,69 ± 2,43 ^b	248,40 ± 0,83 ^c
19	829,75 ± 4,17 ^a	269,61 ± 1,23 ^b
20	830,25 ± 2,58 ^a	235,70 ± 1,20 ^{de}
21	827,71 ± 2,26 ^a	234,51 ± 0,66 ^{de}

NOTA: Médias em mg/kg ± Desvio Padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 95% de confiança.

A Tabela 13 apresenta a análise estatística descritiva das quantidades de amido e dextrana das 21 amostras de açúcar cristal, realizada através da utilização do programa computacional Statistica 7.0.

Tabela 13 – Análise estatística descritiva dos teores de dextrana e amido das 21 amostras de açúcar cristal.

Polissacarídeo	Média (mg/kg)	Mínimo (mg/kg)	Máximo (mg/kg)	Desvio Padrão
Dextrana	337,22	15,39	830,25	322,45
Amido	161,94	49,11	299,92	86,38

As amostras de açúcar cristal apresentaram diferentes valores na concentração de dextrana e amido. Isso se deve a coleta aleatória de amostras produzidas com diferentes variedades de cana-de-açúcar, tipo de solo, tempo de queima e condições climáticas antes da colheita. Em relação ao processo industrial, não houve alterações em equipamentos, parâmetros de controle e não foram registradas anomalias durante a fabricação do açúcar em teste, podendo dessa forma se garantir que o processamento foi realizado nas mesmas condições para todas as amostras analisadas.

Para a rastreabilidade da cana-de-açúcar utilizada foi analisada a matéria prima utilizada para a produção das amostras coletadas, considerando-se o intervalo entre a moagem da cana e envase do produto acabado.

As amostras identificadas de 1 a 9 foram produzidas no dia 16/06/2011. No período de 10/06 à 16/06/2011 não houve registros de chuva na região onde foi colhida a cana-de-açúcar utilizada para a produção das amostras citadas. Conforme dados do IPMet, no mês de junho o índice pluviométrico dessa região foi de apenas 64,9 mm. A cana utilizada para a produção de açúcar foi colhida com no máximo 48 horas de antecedência da moagem, 40 % da cana-de-açúcar utilizada foi queimada, sendo que nessa condição, 13 % foi queimada por mais de 120 horas. Do total de cana utilizada, 30% foi colhida mecanicamente. O menor valor encontrado para dextrana foi de $15,39 \pm 0,38$ mg/kg e o maior valor de $73,55 \pm 1,27$ mg/kg. Para o amido, o menor valor encontrado foi de $49,11 \pm 1,14$ mg/kg e o maior valor de $166,14 \pm 2,54$ mg/kg.

As amostras identificadas com os números entre 10 a 21 representam aquelas produzidas entre os dias 18 e 19/10/2011. A Figura 12 apresenta o índice pluviométrico da região onde a cana-de-açúcar foi colhida para a produção dessas amostras. Conforme dados

do IPMet (Instituto de Pesquisas Meteorológicas da UNESP), no mês de outubro o índice pluviométrico dessa região foi de 279,3 mm.

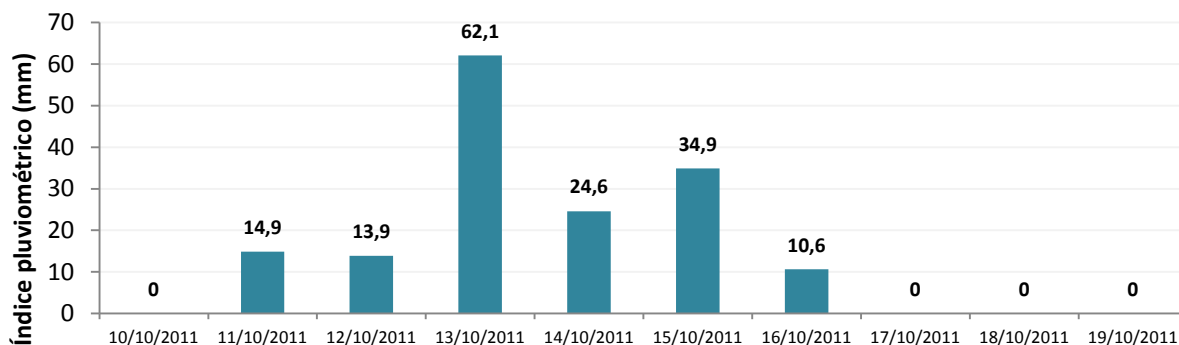


Figura 12 - Índice pluviométrico da região produtora da cana-de-açúcar utilizada para produção de açúcar cristal referente as amostras identificadas de 10 a 21.

Fonte: (Adaptado de <http://www.ipmet.unesp.br/>).

A colheita foi realizada em no máximo 48 horas de antecedência a moagem, 54 % da cana-de-açúcar utilizada foi queimada, sendo que nessa condição, 84 % foi queimada por mais de 120 horas. Do total de cana utilizada, 54 % foi colhida mecanicamente. O menor valor de dextrana encontrado nas amostras produzidas nesse período foi de $132,89 \pm 2,36$ mg/kg e o maior valor de $830,25 \pm 2,58$ mg/kg. Para o amido, o menor valor encontrado foi de $150,09 \pm 1,61$ mg/kg e o maior de $299,92 \pm 1,05$ mg/kg.

Os maiores teores de dextrana foram encontrados nas amostras identificadas de 10 a 21, sendo estas produzidas com cana-de-açúcar colhida no período com maior índice pluviométrico. Segundo Karthikeyan (1999), dextranas são produzidas pela fermentação bacteriana em meio rico em sacarose. É produzida por micro-organismos como *Leuconostoc mesenteroides* que contaminam a cana-de-açúcar principalmente nas estações chuvosas (MEADE e CHEN, 1977). Segundo Clarke (1997), outros fatores além da condição climática interferem no teor de dextrana na cana-de-açúcar, como exemplo a prática de queimadas.

A quantidade de cana queimada utilizada para a produção das amostras identificadas de 10 a 21 foi maior quando comparada com a quantidade utilizada para as amostras de 1 a 9. Segundo Oliveira et al. (2002), temperatura elevada e altos índices de umidade juntamente com o tempo médio de queima acima de 72 horas, propiciam uma maior contaminação da cana-de-açúcar e consequentemente, aumento da produção de dextrana. A queima inativa a enzima fenol-oxidase que apresenta função protetora ou antimicrobiana na planta. A mesma constatação foi verificada nos estudos de Cuddihy (2001), onde mostraram que a formação de

dextrana foi muito maior em cana queimada do que em cana crua, possivelmente pelo acesso facilitado da *L. mesenteroides* devido a degradações na superfície do colmo da cana ou pela inativação da enzima fenol-oxidase.

Em relação a colheita mecanizada, as amostras identificadas de 10 a 21 apresentaram maior quantidade de cana-de-açúcar colhida mecanicamente (54 %). A colheita de cana picada (mecanizada) aumenta a exposição do colmo, deixando-o mais propenso ao ataque de micro-organismos, acelerando dessa forma o processo de deterioração (KROES e HARRIS, 1994). Sendo assim, é possível que associado aos demais fatores citados, esse seja um ponto importante relacionado ao alto índice de dextranas encontrado. Outros fatores citados por Clarke (1997), como colheita tardia da cana, o uso de ferramentas contaminadas, o empilhamento da cana durante o corte manual, o corte mecanizado feito muito rente ao solo, fraturas na cana devido ao ajuste incorreto das colheitadeiras e as contaminações cruzadas na usina não foram avaliados.

Em relação ao teor de amido, pode se verificar que a maior variação dos valores encontrados ocorreu nas amostras produzidas em junho de 2011, entretanto os maiores teores observados foram nas amostras produzidas em outubro de 2011.

A cana-de-açúcar utilizada para a produção das amostras analisadas foi constituída de diversos cultivares, produzida em diferentes condições de cultivo e clima. Segundo Imrie e Tilbury (1972), a concentração de amido na cana-de-açúcar varia conforme o país, estação, variedade, ocorrência de doenças, maturidade, condições de processamento e o método de análise.

As amostras produzidas em outubro foram produzidas com maior quantidade de cana-de-açúcar colhida mecanicamente e apresentaram maiores teores de amido. Essa constatação já era esperada, segundo Whayman e Willersdorf (1976), a colheita mecânica da cana-de-açúcar resulta em maior quantidade de amido no caldo, pois esse polissacarídeo é mais abundante nas folhas e no ápice do caule. O teor de amido é menor na parte inferior do colmo e maior na parte superior (EGGLESTON et al., 2007). A utilização de diferentes cultivares de cana é um fator importante e que está diretamente ligado a quantidade de amido no produto final. Segundo estudo realizado com quatro cultivares de cana-de-açúcar na Austrália, Cuddihy et al. (2001) concluíram que o teor de amido é uma característica da cultivar.

Em relação a diferença climática entre os períodos em que as amostras foram coletadas, não foram encontradas evidências para comprovar a influência na relação do teor de amido no açúcar. No estudo realizado por Figueira (2009), não foi observada correlação entre os teores de amido em caldos extraídos de cinco cultivares de cana-de-açúcar com os

fatores de temperatura e índice pluviométrico. Ebrahim et al. (1998) estudaram o efeito da temperatura de crescimento no acúmulo de sacarose e amido em cana-de-açúcar. As plantas foram cultivadas durante 10 meses em estufa a 27, 15 e 45 °C. Eles verificaram que o teor de amido nas folhas da cana-de-açúcar cultivada na menor temperatura foi maior do que a cultivada na maior temperatura. Uma vez que a cana-de-açúcar utilizada teve cultivo em variadas temperaturas por não se tratar de ambiente controlado de produção, os dados da literatura não podem ser relacionados com os resultados obtidos.

A maturidade da planta colhida não foi avaliada, podendo ser um fator importante e relacionado com os teores de amido encontrados. De acordo com Tharanathan (2002) o teor de amido é maior na cana-de-açúcar imatura do que na cana madura. Batta e Singh (1986) verificaram no estudo realizado sobre a síntese e estocagem de sacarose e amido na cana-de-açúcar, que a quantidade de amido diminui com o amadurecimento da planta.

As condições de processamento foram as mesmas para todas as amostras analisadas, conforme citado anteriormente. Não foi verificada a ocorrência de doenças na cana-de-açúcar utilizada.

Através da avaliação conduzida pelo programa computacional Statistica 7.0, o coeficiente de correlação para as variáveis teor de dextrana e teor de amido das 21 amostras de açúcar analisadas foi de $R^2 = 0,84$, ou seja, o teor de dextrana e de amido estão correlacionados positivamente. Segundo Karthikeyan (1999), fatores ambientais e/ou falhas operacionais no manejo da cana ainda no campo ou durante o seu processamento nas usinas são fatores que influenciam o teor de dextrana e amido na cana-de-açúcar. Observa-se que há fatores em comum que influenciam os teores desses dois polissacarídeos na cana-de-açúcar. Entretanto como as análises foram realizadas no produto acabado, o amido inicial proveniente da cana pode ter sofrido redução de 60 a 70 % durante o processamento, conforme dados do estudo de Cuddihy et al. (2001). Segundo Mantelatto (2005), a alta afinidade da dextrana a sacarose, faz com que durante o processamento, a permanência desse polissacarídeo no produto final seja maior que a do amido. Como não houve análise do teor de dextrana e amido no caldo de cana utilizado para o processamento do açúcar, não é possível quantificar qual foi a redução desses polissacarídeos durante o processamento. Sendo assim, mesmo que o coeficiente de correlação obtido demonstre uma importante dependência na presença desses polissacarídeos, essa relação não pode ser confirmada.

5.2 Determinação de floco alcoólico

A Tabela 14 apresenta os resultados das análises realizadas para avaliação de formação de floco alcoólico das amostras de açúcar cristal.

Tabela 14 - Resultados das análises de floco alcoólico para amostras de açúcar cristal produzidas nos meses de junho e outubro de 2011.

Período de avaliação	Amostras	Dextrana (mg/kg)	Amido (mg/kg)	Absorbância (abs)
Junho	1	49,39 ± 0,72 ^{ilm}	56,34 ± 1,71 ^m	0,058 ± 0,002 ⁿ
	2	24,21 ± 0,88 ^{mn}	104,13 ± 1,86 ⁱ	0,063 ± 0,004 ⁿ
	3	15,39 ± 0,38 ⁿ	166,14 ± 2,54 ^g	0,101 ± 0,005 ^m
	4	24,94 ± 1,01 ^{mn}	49,11 ± 1,14 ⁿ	0,018 ± 0,001 ^r
	5	36,79 ± 1,53 ^{ilmn}	65,00 ± 0,95 ^{jl}	0,021 ± 0,002 ^{qr}
	6	25,79 ± 3,10 ^{mn}	61,42 ± 0,84 ^{lm}	0,025 ± 0,006 ^{pq}
	7	73,55 ± 1,27 ^j	67,69 ± 6,18 ^j	0,036 ± 0,003 ^o
	8	53,68 ± 0,61 ^{lj}	61,64 ± 1,10 ^{ilm}	0,034 ± 0,003 ^o
	9	23,49 ± 0,79 ^{mn}	56,49 ± 0,84 ^m	0,028 ± 0,003 ^p
Outubro	10	650,93 ± 1,21 ^d	219,6 ± 2,49 ^e	0,489 ± 0,004 ^h
	11	433,59 ± 1,73 ^f	168,35 ± 1,96 ^g	0,341 ± 0,001 ⁱ
	12	426,88 ± 1,96 ^{fg}	150,09 ± 1,61 ^h	0,304 ± 0,003 ^j
	13	228,00 ± 0,87 ^h	168,98 ± 1,67 ^g	0,189 ± 0,001 ^l
	14	699,64 ± 1,40 ^c	299,92 ± 1,05 ^a	0,877 ± 0,009 ^e
	15	132,89 ± 2,36 ⁱ	207,03 ± 1,76 ^f	0,343 ± 0,005 ⁱ
	16	403,77 ± 3,72 ^g	272,75 ± 1,41 ^b	0,724 ± 0,008 ^g
	17	501,28 ± 4,48 ^e	237,83 ± 2,13 ^d	0,754 ± 0,018 ^f
	18	788,69 ± 2,43 ^b	248,40 ± 0,83 ^c	0,998 ± 0,002 ^b
	19	829,75 ± 4,17 ^a	269,61 ± 1,23 ^b	1,063 ± 0,010 ^a
	20	830,25 ± 2,58 ^a	235,70 ± 1,20 ^d	0,953 ± 0,009 ^c
	21	827,71 ± 2,26 ^a	234,51 ± 0,66 ^d	0,930 ± 0,003 ^d

NOTA: Médias em abs ± Desvio Padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 95% de confiança.

A Tabela 15 apresenta a análise estatística descritiva das leituras de absorbância das 21 amostras de açúcar cristal, realizada através da utilização do programa computacional Statistica 7.0.

Tabela 15 – Análise estatística descritiva das leituras de absorvência das 21 amostras de açúcar cristal.

Média (mg/kg)	Mínimo (mg/kg)	Máximo (mg/kg)	Desvio Padrão
0,390	0,018	1,063	0,391

Conforme esperado, quanto maior o teor de amido ou dextrana no açúcar, maior foi o valor encontrado na leitura de absorvência das amostras submetidas ao teste de floco alcoólico. O método utilizado é baseado na insolubilidade dos polissacarídeos em álcool e consequente geração de turbidez em solução, sendo esta turbidez medida por espectrofotometria.

As amostras 2 e 4 apresentaram teores de dextranas sem diferença significativa, entretanto a primeira apresentou teor de amido duas vezes maior que a segunda. O valor de absorvência para a amostra 2 foi aproximadamente 3,5 vezes maior que a absorvência da amostra 4, demonstrando que o amido tem relação positiva com a formação de floco alcoólico, mas nesse caso, não é uma relação diretamente proporcional, podendo haver outros agentes envolvidos da geração de turbidez da solução. Essa constatação também é verificada para a conferência dos resultados das amostras 20 e 21 onde não há diferenças significativas entre os teores dos dois polissacarídeos, mas os resultados de absorvência apresentaram diferença significativa. As amostras 5 e 6 não apresentaram diferença significativa nos teores de amido, teor de dextrana e absorvência, mostrando que os polissacarídeos em questão apresentam relação positiva com o resultado do teste de floco alcoólico.

As amostras 11 e 13 não apresentaram diferença significativa nos teores de amido, entretanto diferenças significativas no teor de dextrana foram observadas. Para as amostras 11 e 13, produzidas no mesmo período, a quantidade de dextrana e absorvência foi aproximadamente 1,9 vezes maior em relação a esses dois parâmetros na amostra 11, mostrando uma relação diretamente proporcional.

De acordo com a avaliação conduzida pelo Statistica 7.0, o coeficiente de correlação para as variáveis dextrana e floco alcoólico foi de $R^2 = 0,95$, o que demonstra que a dextrana e a absorvência da solução estão positivamente correlacionadas.

A relação entre dextrana no açúcar e a formação de floco alcoólico era esperada. Na produção de cachaça, por exemplo, o principal problema decorrente da adição de açúcar é a formação de depósitos (CARDELLO, 2000).

Segundo informações do estudo realizado por Aquino (2009), a formação de flocos alcoólicos está associada com a presença de dextranas no açúcar, pelo fato da insolubilidade

da dextrana em soluções etanólicas. A presença desse polissacarídeo é um fator extremamente importante para a formação de flocos em bebidas alcoólicas e concentração inferior a 0,25 mg/L de dextrana em aguardente não forma precipitados (FILHO, 2000).

A formação de flocos não está restrita somente à presença de dextranas, o que pode ser verificado através do coeficiente de correlação encontrado. A presença de outros carboidratos, polifenóis e aminoácidos são citados na literatura como componentes de precipitados ou névoas em bebidas destiladas e fermentadas (BOSO, 2001; FREITAS, 2003). Siebert et al. (2005) relacionaram o aminoácido prolina como o potencial formador de precipitados ou turbidez em bebidas contendo polifenóis.

O teste para avaliação de floco alcoólico é realizado em solução com 55 % v/v de etanol. É conhecido que a solubilidade das dextranas em soluções hidroalcoólicas é altamente dependente da sua massa molar. Dextranas de baixa massa molar tornam-se insolúveis com o aumento da concentração de etanol (NEUCHL e MERSMANN, 1996; NEUCHL e MERSMANN, 1995). As duas metodologias mais empregadas para quantificação de dextranas é baseada nessa característica. O método de Haze adotado pela *International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis* – IMCUSA, é fundamentado na precipitação de dextranas de média e alta massa ($M_w > 30 \times 10^4$ Da) numa solução contendo 50 % de etanol (CLARKE, 1985). O método descrito por Roberts, adotado pela *Association of Official Analytical Chemists* – AOAC, é fundamentado na precipitação de dextranas de baixa, média e alta massa molar (dextranas totais) pela elevação da concentração etanólica do meio para 80 % (RAVNO e PURCHASE, 2006). Dessa maneira, no teste realizado a concentração de 55 % v/v de etanol podem não ter sido precipitadas todas as dextranas do meio, em especial as dextranas com baixa massa molar. A aplicação do açúcar testado em bebidas com teor alcoólico maior que 55 % v/v etanol, poderia apresentar piores resultados no teste de floco alcoólico, sendo uma bebida potencialmente propensa a formação de flocos durante a estocagem. Uma vez que não foram avaliadas as massas molares das dextranas presentes nas 21 amostras de açúcar cristal, não é possível afirmar qual seria o impacto da utilização desse açúcar em soluções com maior graduação alcoólica.

Segundo Aquino e Franco (2008) as dextranas com massas molares mais elevadas tenderão a precipitar mais rapidamente mesmo em destilados de menor teor alcoólico, sendo assim, o método adotado seguramente demonstra o potencial do açúcar em formar flocos alcoólicos de maneira rápida em destilados. Existem relatos na literatura que descrevem a precipitação de dextranas de baixa massa molar em soluções aquosas, mas somente quando em concentrações superiores a 10 % m/v. Isto ocorre pela associação das cadeias de dextrana

por ligações de hidrogênio, induzidas pela elevada relação dextrana/água em soluções concentradas (STENEKES, 2001; HIRATA, 1999; AIZAWA, 1976).

As dextranas com massa molar elevada são insolúveis, enquanto que as de baixa massa molar são solúveis e causam maiores dificuldades no processo de produção de açúcar (JIMÉNEZ, 2005). Na indústria alimentícia, a presença de polissacarídeos como contaminante do açúcar impede o endurecimento de balas, aumenta o efeito “puxa – puxa” em barras de cereais e dificulta a filtração de caldas de açúcar (OLIVEIRA, 2007). Sendo assim, o método de floco alcoólico adotado neste estudo, quando utilizada como indicativo para avaliação do açúcar em outros segmentos industriais, devido a não detecção de dextranas de baixa massa molar, pode apresentar riscos de ocorrências de problemas durante o processamento e qualidade do produto final.

De acordo com a avaliação conduzida pelo Statistica 7.0, o coeficiente de correlação para as variáveis amido e floco alcoólico foi de $R^2 = 0,91$, demonstrando alta correlação positiva entre amido e absorbância da solução.

Não foram encontrados na literatura estudos sobre a relação do amido com a formação de flocos em soluções alcoólicas. O coeficiente de correlação encontrado demonstra uma importante relação entre a presença desse polissacarídeo e a formação de turbidez em solução alcoólica a 55 % v/v etanol. O comportamento do amido em solução alcoólica é conhecido. Segundo dados da ANVISA (2012), o amido é praticamente insolúvel em etanol. O teste utilizado para verificação do potencial do açúcar em formar floco alcoólico nesse estudo é baseado na utilização de uma solução com determinada concentração etanólica, baseada na insolubilidade dos polissacarídeos em álcool e consequente geração de turbidez na solução. El-Syiad (2000) estudou a qualidade do açúcar bruto produzido no Egito com a precipitação do amido em álcool etílico a 95 %. Por se tratar de um solvente orgânico com elevada solubilidade em água, o etanol quando adicionado à solução de amido se solubiliza rompendo as interações amido-água, fazendo com que o amido se precipite (LEHNINGER et al., 2005).

5.3 Avaliação da redução de amido no teste de floco alcoólico

O objetivo inicial do estudo era a utilização de uma etapa de filtração após a dissolução do açúcar no ensaio de avaliação de floco alcoólico, buscando a eliminação do amido da solução, para que fosse possível avaliar o resultado do teste considerando somente o polissacarídeo dextrana.

Uma vez que o método do CTC adota a etapa de filtração no início do ensaio através da utilização do filtro de 0,8 μm e que o tamanho dos grânulos de amido na cana-de-açúcar variam entre 1 – 10 μm , esperava-se que houvesse a completa eliminação do amido.

Não foi possível o desenvolvimento do ensaio sem a etapa de filtração devido as sujidades presentes nas amostras identificadas de 10 a 21, consideradas normais ao tipo de açúcar utilizado. Sendo assim as amostras foram filtradas de acordo com o método, evitando assim oscilações nas leituras de absorbância e obtenção de resultados não confiáveis. Segundo Leal (2012), para determinação de um ou mais compostos de uma solução simultaneamente, são utilizados diferentes comprimentos de onda. Isto pode ser realizado desde que não ocorra nenhuma interação entre os componentes da solução. Sendo assim uma possível interação ou interferência das sujidades das amostras foi evitada com a utilização do método escolhido para condução do teste.

Para validação da eliminação do amido com a filtração descrita pelo método, foram realizadas análises de quantificação desse polissacarídeo na solução antes e depois da filtração.

É importante ressaltar que o método analítico utilizado é aplicável em amostras de açúcar cristal, açúcar refinado granulado, açúcar VHP e açúcar VVHP. No comprimento de onda de 700 nm, o efeito na absorbância devido as impurezas presentes no açúcar bruto é mínimo, entretanto, para que seja aplicável aos tipos de açúcar citados, deve haver a filtração da solução no início do ensaio.

A Figura 13 apresenta as quantidades de amido encontradas nas amostras de açúcar dissolvidas em água, antes e depois da filtração.

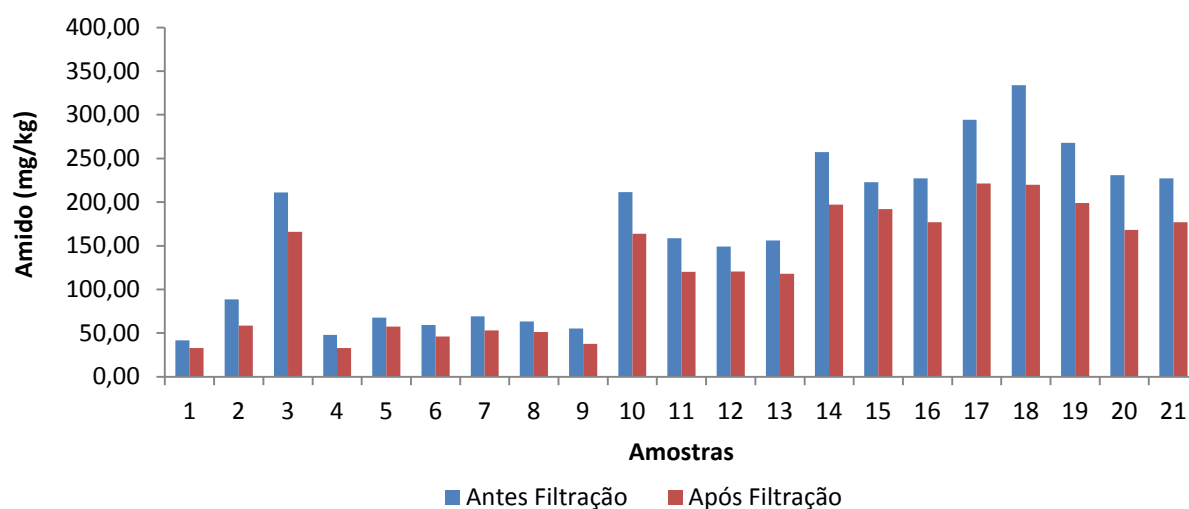


Figura 13 - Quantidade de amido presente na solução de açúcar antes e depois da filtração estabelecida pelo método de floco alcoólico.

O filtro utilizado foi de 0,8 μm , conforme estabelecido pelo método adotado. Segundo estudo realizado por Figueira (2009), grânulos de amido de cana-de-açúcar, observados em microscópio eletrônico de varredura apresentaram tamanho aproximado de 1 – 3 μm . Vignes (1974) e Kampen et al. (1998) relataram que os grânulos de amido de cana-de-açúcar apresentaram tamanho aproximado de 1 – 10 μm enquanto Stevenson e Whayman (1976) e Park et al. (1985) verificaram grânulos com diâmetro aproximado de 1-5 μm .

A Tabela 16 apresenta os valores obtidos de amido na solução de açúcar antes e após a filtração.

Tabela 16 – Redução do amido com a filtração utilizada no método de análise de floco alcoólico.

Período de avaliação	Amostra	Amido (mg/kg) Antes da Filtração	Amido (mg/kg) Depois da Filtração	Redução de amido (%)
Junho	1	41,59 ± 5,02 ^h	32,80 ± 1,31 ⁿ	21,12
	2	88,75 ± 6,59 ^g	58,61 ± 5,14 ^h	33,96
	3	211,25 ± 4,53 ^e	165,91 ± 2,30 ^e	21,46
	4	47,82 ± 5,20 ^h	32,82 ± 2,08 ⁿ	31,38
	5	67,73 ± 5,74 ^{gh}	57,53 ± 1,75 ^{hi}	15,06
	6	59,30 ± 1,86 ^{gh}	45,98 ± 5,00 ^l	22,46
	7	69,29 ± 4,08 ^{gh}	53,18 ± 2,09 ^{ij}	23,25
	8	63,39 ± 4,22 ^{gh}	51,28 ± 1,76 ^j	19,11
	9	55,47 ± 3,69 ^{gh}	37,75 ± 1,53 ^m	31,96
Outubro	10	211,32 ± 3,59 ^e	163,88 ± 1,09 ^e	22,45
	11	158,83 ± 9,66 ^f	120,09 ± 3,79 ^{fg}	24,39
	12	149,27 ± 1,10 ^f	120,73 ± 0,45 ^f	19,12
	13	156,05 ± 3,62 ^f	118,06 ± 3,26 ^g	24,35
	14	257,10 ± 10,18 ^{cd}	197,27 ± 4,94 ^b	23,27
	15	222,86 ± 13,43 ^{de}	192,16 ± 8,20 ^c	13,78
	16	227,39 ± 1,51 ^{de}	177,05 ± 6,16 ^d	22,14
	17	294,46 ± 17,28 ^b	221,43 ± 18,32 ^a	24,80
	18	334,03 ± 18,41 ^a	219,97 ± 7,86 ^a	34,15
	19	268,03 ± 9,89 ^{bc}	198,81 ± 6,07 ^b	25,83
	20	230,74 ± 8,98 ^{de}	168,02 ± 4,94 ^e	27,18
	21	227,05 ± 12,07 ^{de}	177,10 ± 1,00 ^d	22,00

NOTA: Valores médios de amido ± Desvios Padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 95% de confiança.

É possível afirmar que o amido presente nas amostras está em maior quantidade como frações menores que 0,8 µm. Figueira (2009) no estudo para avaliação da filtrabilidade de uma dispersão de amido de cana-de-açúcar gelatinizado, observou a presença de frações menores que 0,2 µm através do teste com solução de iodo – KI 0,1N.

As diminuições de amido foram diferentes para cada amostra filtrada, sendo que a menor redução observada foi de 13,78 % (amostra 15) e a maior de 34,15 % (amostra 18), ambas produzidas no mesmo período. Para esses dois exemplos, pode-se afirmar que 86,22 e 65,85 %, respectivamente, do amido presente nas amostras 15 e 18 estão sob a forma de frações menores que 0,8 µm. Diferentes valores de redução de amido após a filtração podem

estar relacionados com a quantidade de frações de amido contidas na amostra, em especial a amilose, que em condições de processamento utilizados para produção de açúcar, pode ser lixiviada dos grânulos de amido. Durante a clarificação e evaporação, devido ao aquecimento, os grânulos de amido apresentam inchamento progressivo, com ruptura e lixiviação de amilose e amilopectina, transformando o caldo em uma solução viscosa e amorfa (TESTER et al., 2004). Pela variação das condições de gelatinização do amido, uma ampla faixa de microestruturas pode ser produzida. Hashim et al. (1992) também descrevem o mesmo comportamento, relatando que durante a faixa de temperatura de gelatinização o grânulo de amido tem um limitado inchamento onde somente uma pequena quantidade de carboidratos é solubilizado, mas a 90 °C existe um aumento do poder de inchamento e uma grande quantidade de carboidratos é lixiviada a partir do grânulo de amido.

Durante a fase de resfriamento, polímeros de amilose e amilopectina solubilizados começam a se reassociar (THOMAS e ATWELL, 1999). A amilose que foi exsudada dos grânulos inchados forma uma rede por meio da associação com cadeias que rodeiam os grânulos gelatinizados (DENARDIN e SILVA, 2009). O processo de associação da amilose é conhecida como retrogradação e influencia a distribuição do amido no processamento e produto final (KAMPEN et al., 1998). Uma vez que foram observadas frações de amido menores que 0,8 μm , acredita-se que durante o processamento do açúcar, devido o resfriamento a temperatura ambiente ser observado somente após a secagem do açúcar, antes do envase do produto, o processo de retrogradação tenha sido influenciado, fazendo com que nem toda a amilose lixiviada do grânulo de amido se reassociasse. Segundo Eliasson (1996), Peroni et al. (2006) e Tharanathan (2002), vários perfis de gelatinização e retrogradação podem ser formados com os fatores: temperatura, tempo, fonte botânica, pH, presença de outros componentes (lipídios, eletrólitos e açúcares) e condições de processamento. Dessa forma, vários fatores podem influenciar o processo de retrogradação, podendo gerar perfis diferentes de reassociação da amilose e amilopectina.

O método para quantificação de amido em açúcar é baseada na formação de complexo azul de amido-iodo através da utilização de solução de iodeto/ iodato de potássio com leitura de absorbância em espectrofotômetro a 700 nm. A estrutura envolvida com a formação do complexo azul amido-iodo é a amilose. Segundo Thomas e Atwell (1999), a estrutura da amilose é frequentemente helicoidal. No interior da hélice existem átomos de hidrogênio sendo assim de caráter hidrofóbico e que permite que a amilose forme complexo com o iodo. Sendo assim, o método analítico aplicado para quantificação de amido detecta as frações

menores de 0,8 μm , demonstrando que essas frações são amiloses lixiviadas dos grânulos de amido durante o processamento de açúcar.

Outro fator que pode ser considerado para a obtenção de diferentes reduções de amido é a presença de variados teores de amilose e amilopectina do amido contido nas diferentes variedades de cana-de-açúcar utilizada. Segundo Vignes (1974), o amido da cana-de-açúcar possui aproximadamente 19 % de amilose e 81 % de amilopectina. Whayman e Willersdorf (1976) estimaram o conteúdo de amilose em amido de cana-de-açúcar das cultivares N:Co 310 e Q 58 da Austrália e encontraram o valor de 15 %.

As diferenças na composição e quantidade de xarope depositado na superfície dos cristais de açúcar também deve ser considerado. Segundo Max et al. (1972), ao final do processo de produção do açúcar bruto, uma fina camada de xarope é intencionalmente depositada na superfície do cristal. A pureza da camada que recobre o puro cristal, não é superior a 55-60 %. O xarope depositado nos cristais de açúcar pode apresentar diferentes concentrações de amido.

Para os ensaios de floco alcoólico apresentados no item 5.2, o coeficiente de correlação obtido para as variáveis amido e absorbância foi $R^2 = 0,91$, demonstrando correlação positiva entre o amido e a formação de floco alcoólico.

Considerando que a metodologia adotada pelo CTC reduz em média 25 % do amido presente na amostra analisada, pode-se dizer que a influência desse polissacarídeo no resultado de floco alcoólico poderia ser ainda mais relevante. O teste de floco alcoólico é baseado na insolubilidade dos polissacarídeos em álcool e consequente geração de turbidez na solução. Uma vez que os resultados desse ensaio são utilizados por muitas empresas como indicativo indireto da qualidade do açúcar em relação a presença de polissacarídeos, os valores obtidos podem ser parcialmente mal interpretados. A presença de amido no açúcar causa dificuldade na filtração e presença de turbidez visível nas soluções, sendo um grave problema para a indústria de refrigerantes e outros alimentos que utilizam açúcar como ingrediente nas formulações.

5.4 Teste forçado para formação de floco alcoólico

O método utilizado para avaliação da formação de floco alcoólico foi descrita por Koblitz et al. (1999). É um método desenvolvido na Companhia Muller de Bebidas onde se busca aceleração da formação de flocos. O objetivo da utilização desse método é avaliar em condições com alta concentração de etanol, o potencial do açúcar em formar flocos.

Segundo o método utilizado, as amostras devem ser avaliadas a cada 15 horas até completar o tempo total de 84 horas de estocagem. Na primeira avaliação, após 15 horas, foi verificada no fundo da embalagem a presença de poucos cristais de açúcar e a presença de flocos na solução com diferentes intensidades, conforme apresentado na Figura 14 e Figura 15. Após 30 horas de estocagem, observou-se uma redução dos flocos formados na solução e aumento da quantidade de cristais no fundo da embalagem, impossibilitando a continuidade dos testes.



Figura 14 – Resultado do teste de floco alcoólico com solução a 89 % v/v etanol para as amostras de açúcar cristal produzidas em junho de 2011.

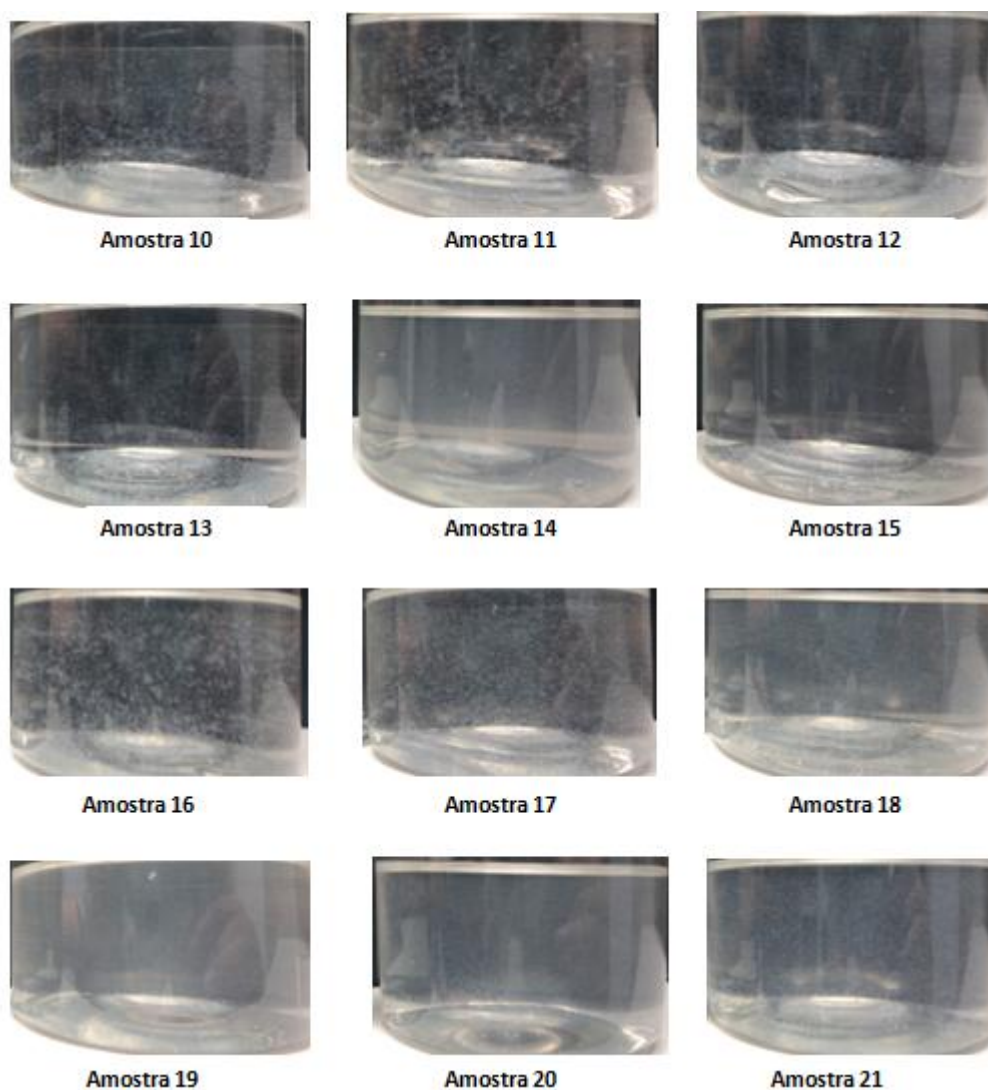


Figura 15 - Resultado do teste de floco alcoólico com solução a 89 % v/v etanol para as amostras de açúcar cristal produzidas em outubro de 2011.

Segundo Koblitz et al. (1999), quanto mais rápida for a precipitação no ensaio, mais rapidamente ela ocorrerá no produto. Embora seja basicamente empírica, essa metodologia tem se mostrado eficiente.

A Tabela 17 apresenta os resultados para o teste forçado de floco alcoólico. As avaliações visuais foram realizadas após 15 horas de estocagem da solução teste.

Tabela 17 – Resultado do teste forçado para verificação da formação de floco alcoólico.

Período de avaliação	Amostras	Dextrana (mg/kg)	Amido (mg/kg)	Teste Forçado (Floco alcoólico)
Junho	1	49,39 ± 0,72 ^{ilm}	56,34 ± 1,71 ^m	0 = ausência de flocos e turvação
	2	24,21 ± 0,88 ^{mn}	104,13 ± 1,86 ⁱ	0 = ausência de flocos e turvação
	3	15,39 ± 0,38 ⁿ	166,14 ± 2,54 ^g	1 = turvação
	4	24,94 ± 1,01 ^{mn}	49,11 ± 1,14 ⁿ	0 = ausência de flocos e turvação
	5	36,79 ± 1,53 ^{ilmn}	65,00 ± 0,95 ^{jl}	0 = ausência de flocos e turvação
	6	25,79 ± 3,10 ^{mn}	61,42 ± 0,84 ^{lm}	0 = ausência de flocos e turvação
	7	73,55 ± 1,27 ^j	67,69 ± 6,18 ^j	0 = ausência de flocos e turvação
	8	53,68 ± 0,61 ^{lj}	61,64 ± 1,10 ^{ilm}	0 = ausência de flocos e turvação
	9	23,49 ± 0,79 ^{mn}	56,49 ± 0,84 ^m	0 = ausência de flocos e turvação
Outubro	10	650,93 ± 1,21 ^d	219,6 ± 2,49 ^e	3 = muitos flocos
	11	433,59 ± 1,73 ^f	168,35 ± 1,96 ^g	3 = muitos flocos
	12	426,88 ± 1,96 ^{fg}	150,09 ± 1,61 ^h	2 = poucos flocos
	13	228,00 ± 0,87 ^h	168,98 ± 1,67 ^g	2 = poucos flocos
	14	699,64 ± 1,40 ^c	299,92 ± 1,05 ^a	1 = turvação
	15	132,89 ± 2,36 ⁱ	207,03 ± 1,76 ^f	1 = turvação
	16	403,77 ± 3,72 ^g	272,75 ± 1,41 ^b	3 = muitos flocos
	17	501,28 ± 4,48 ^e	237,83 ± 2,13 ^d	3 = muitos flocos
	18	788,69 ± 2,43 ^b	248,40 ± 0,83 ^c	3 = muitos flocos
	19	829,75 ± 4,17 ^a	269,61 ± 1,23 ^b	3 = muitos flocos
	20	830,25 ± 2,58 ^a	235,70 ± 1,20 ^d	3 = muitos flocos
	21	827,71 ± 2,26 ^a	234,51 ± 0,66 ^d	3 = muitos flocos

NOTA: Valores médios de dextrana e amido ± Desvios Padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 95% de confiança.

Como esperado devido a maior quantidade de dextrana e amido, a formação de flocos ou turvação foi observada em todas as amostras produzidas no mês de outubro. A amostra 3 produzida em junho, apresentou o maior teor de amido entre as demais amostras desse mesmo período, o menor teor de dextrana entre as 21 amostras analisadas e formou flocos no teste forçado após 15 horas. Isso mostra a forte influência do amido na formação de flocos alcoólicos.

Observou-se que teores a partir de 228,00 ± 0,87 mg/kg de dextrana e 168,98 ± 1,67 mg/kg de amido em açúcar (Amostra 13) são suficientes para acarretar a formação de flocos na solução alcoólica teste (89 % v/v etanol), após 15 horas de estocagem.

Segundo avaliação conduzida pelo programa Statistica 7.0, o coeficiente de correlação encontrado para a variável dextrana e resultado do teste forçado de floco alcoólico foi de $R^2 = 0,85$ e para a variável amido e resultado do teste forçado foi de $R^2 = 0,83$, demonstrando correlação positiva entre a presença desses polissacarídeos no açúcar e a formação de flocos no teste forçado. No teste de floco alcoólico conduzido de acordo com o método CTC, para essas mesmas variáveis os coeficientes de correlação encontrados foram de $R^2 = 0,95$ e $R^2 = 0,91$, respectivamente.

Acredita-se que o coeficiente de correlação encontrado no teste forçado foi menor devido a cristalização do açúcar e consequente arraste dos flocos formados. Após 15 horas de teste foi possível verificar a presença de cristais precipitados e após 30 horas, houve um aumento na quantidade desse sedimento, juntamente com uma diminuição na quantidade de flocos da solução, demonstrando dessa forma que os flocos possivelmente ficaram aderidos aos cristais formados, permanecendo junto ao precipitado. Já é conhecido que a solubilidade da sacarose aumenta em soluções aquosas com o aumento da temperatura e diminui em soluções hidroalcoólicas com o aumento da concentração alcoólica, sendo assim, devido a alta concentração de etanol, a sacarose do meio precipitou com consequente formação dos cristais.

A concentração alcoólica da solução desenvolvida para o teste forçado de floco alcoólico foi de 89 % v/v de etanol, maior que a concentração utilizada no método adotado pelo CTC (55 % v/v de etanol) e utilizada nesse estudo para avaliação da formação de floco alcoólico. Acredita-se que no teste forçado foi possível verificar a presença de flocos devido a maior concentração de etanol utilizada e a insolubilidade das dextranas e amido em soluções hidroalcoólicas. Como conhecido, quanto maior o teor alcoólico da solução, menor a solubilidade do amido. Conforme discutido no item 5.2, concentrações etanólicas de 80 % precipitam dextranas de baixa, média e alta massa molar, enquanto concentrações próximas a 50% precipitam as de média e alta massa molar. Sendo assim, a concentração de 89 % v/v de etanol favoreceu a precipitação das dextranas de baixa massa molar, podendo ser um fator que possibilitou a formação de flocos nas amostras do teste forçado.

O comportamento da dextrana e do amido nas soluções alcoólicas e a relação com a formação de flocos alcoólicos estão discutidos no item 5.2.

5.5 Determinação de floco ácido

Os resultados para a análise visual de floco ácido seguiram pontuação de acordo com os critérios definidos pelo método utilizado do CTC: 0 (Ausente de particulado), 0 (Turvo, sem partículas visíveis), 1 (Partículas discretas e muito pequenas, formato não definido, visível à luz), 2 (Diversas partículas agrupadas, semelhante a algodão), 3 (Diversas partículas grandes) e 4 (Aglomerado de partículas coloidais, visíveis sem o auxílio da luz).

Após avaliação visual para identificação da formação de flocos ácidos, as amostras foram avaliadas em relação ao valor em unidades nefelométricas de turbidez (NTU), buscando relação entre esses dois resultados. Desta forma, pode-se afirmar que quanto maior a turbidez da amostra, maior a precipitação ocorrida em solução ácida.

Para conhecimento, foi realizada a medição do pH da solução ácida carbonatada utilizada para o ensaio, sendo o menor valor obtido de 2,3, o maior 2,8 e a média de 2,5.

Os resultados das análises de floco ácido e turbidez são apresentados na Tabela 18.

Tabela 18- Resultados dos ensaios para determinação do floco ácido e turbidez.

Período de avaliação	Amostra	Floco ácido (Visual)	Turbidez (NTU)
Junho	1	0 = Negativo	4,34 ± 0,21 ⁱ
	2	0 = Negativo	7,49 ± 0,12 ^h
	3	0 = Negativo	10,18 ± 0,23 ^g
	4	0 = Negativo	3,72 ± 0,17 ⁱ
	5	0 = Negativo	4,10 ± 0,14 ⁱ
	6	0 = Negativo	3,92 ± 0,21 ⁱ
	7	0 = Negativo	5,18 ± 0,29 ⁱ
	8	0 = Negativo	5,19 ± 0,14 ⁱ
	9	0 = Negativo	3,98 ± 0,24 ⁱ
Outubro	10	0 = Turvo	16,29 ± 0,25 ^e
	11	0 = Turvo	14,29 ± 0,29 ^f
	12	0 = Negativo	9,87 ± 0,18 ^g
	13	0 = Negativo	11,16 ± 0,28 ^g
	14	0 = Turvo	33,46 ± 6,31 ^a
	15	0 = Turvo	20,35 ± 2,05 ^e
	16	0 = Turvo	32,10 ± 2,95 ^{ab}
	17	0 = Turvo	30,04 ± 2,40 ^c
	18	0 = Turvo	31,48 ± 4,65 ^{bc}
	19	0 = Turvo	30,41 ± 6,87 ^{bc}
	20	0 = Turvo	24,59 ± 2,30 ^d
	21	0 = Turvo	25,67 ± 1,79 ^d

NOTA: Médias em NTU ± Desvio Padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 95% de confiança.

A Tabela 19 apresenta a análise estatística descritiva dos resultados de turbidez das 21 amostras de açúcar cristal, realizada através da utilização do programa computacional Statistica 7.0.

Tabela 19 – Análise estatística descritiva dos resultados de turbidez das 21 amostras de açúcar cristal.

Média (mg/kg)	Mínimo (mg/kg)	Máximo (mg/kg)	Desvio Padrão
15,61	3,72	33,46	11,21

Nenhuma amostra avaliada visualmente apresentou formação de floco. Foi observada a formação de turvação em algumas amostras.

A amostra com menor teor de dextrana e que apresentou formação de turvação visível no teste de floco ácido foi a amostra 15, com teor médio de 132,89 ± 2,36 mg/kg de dextrana

e $207,03 \pm 1,76$ mg/kg de amido. A amostra com menor teor de amido e que apresentou formação de turvação foi a amostra 11, com teor médio de $168,35 \pm 1,96$ mg/kg de amido e $433,59 \pm 1,73$ mg/kg de dextrana.

As amostras 11 e 13 não apresentaram diferença significativa no teor de amido e foram produzidas no mesmo dia. A amostra 11 contém aproximadamente duas vezes mais dextrana que a amostra 13 e apresentou formação de turvação no teste de floco ácido. A turbidez medida foi de 14,29 NTU. A amostra 13 não formou turvação visível na solução e apresentou turbidez de 11,16 NTU. Sendo assim, verifica-se que a dextrana está diretamente relacionada com a formação de turvação na solução teste de floco ácido, mesmo o resultado sendo considerado negativo de acordo com os critérios de avaliação definidos pelo método utilizado. As amostras 2 e 4 apresentaram o mesmo teor de dextrana, entretanto o teor de amido da amostra 2 foi aproximadamente duas vezes maior em relação a amostra 4. As duas amostras não apresentaram a formação de turvação no teste de floco ácido, entretanto o valor de turbidez obtido para a amostra 2 ($7,49 \pm 0,12$ NTU) foi duas vezes maior que para a amostra 4 ($3,72 \pm 0,17$ NTU), proporcional a diferença de amido entre as duas amostras.

Considerando os dois exemplos citados, verifica-se que o amido tem mais influência no resultado de turbidez das soluções teste de floco ácido do que a dextrana. Essa constatação pode ser confirmada através dos coeficientes de correlação obtidos segundo avaliação conduzida pelo Statistica 7.0. As variáveis teor de dextrana e turbidez apresentaram coeficiente de correlação de $R^2 = 0,84$, e para as variáveis teor de amido e turbidez o coeficiente de correlação foi de $R^2 = 0,96$, demonstrando correlação positiva entre a presença desses polissacarídeos no açúcar e a formação de turbidez do teste de floco ácido.

As amostras 6, 8 e 9 apresentaram os teores de amido, dextrana e resultados de turbidez sem diferenças significativas, demonstrando a relação positiva desses polissacarídeos no teste de floco ácido. Entretanto, as amostras 1 e 4 apresentaram diferença significativa nos teores de amido, somente sendo os resultados de turbidez e teor de dextrana iguais estatisticamente. As amostras 7 e 8 apresentaram diferença significativa nos teores de dextrana, sendo os resultados de turbidez e teor de dextrana sem diferença estatística. Essa observação demonstra que variações nos teores dos polissacarídeos em questão nem sempre influenciam os resultados de floco ácido, a um nível de 95 % de confiabilidade.

A precipitação de dextranas em soluções ácidas é esperada. Segundo Aquino (2009), testes realizados com a redução da acidez da aguardente de 29,48 para 13,91 mg ácido acético/100mL de aguardente, demonstraram claramente a influência da acidez total quanto

ao favorecimento da precipitação das dextranas de alta massa molar numa mesma temperatura.

O mecanismo de formação de floco ácido ainda não é totalmente conhecido. Na literatura são encontrados dois modelos descritos por Clarke et al. (1999) e por Liuzzo et al. (1982). Entretanto com os resultados obtidos, foi possível verificar que o amido e a dextrana apresentam alta contribuição para a formação de turbidez nas soluções ácidas carbonatadas.

Segundo Clarke et al. (1999), a formação de floco ácido inicia com a formação de um “floco intermediário”, através da interação de proteínas com polissacarídeos *ISP*. Na sequência, há a interação com amido, dextranas, silicato, substâncias coloidais solúveis e outros polissacarídeos. Sendo assim, verifica-se que a dextrana e o amido não estão diretamente relacionados a formação de um coacervato precursor dos flocos. As amostras analisadas não formaram flocos, somente turvação, que pode estar relacionado com a precipitação das dextranas nesse meio. Para melhor avaliação do mecanismo descrito por Clarke et al. (1999), seria necessário a determinação do teor do polissacarídeo *ISP* e proteínas nas amostras de açúcar cristal.

Liuzzo et al. (1982) verificaram que os aminoácidos presentes no floco de bebidas carbonatas ácidas estão diretamente ligados com o potencial do açúcar em flocular. Eles concluíram que a amilose juntamente com outros componentes, em especial proteínas, eram potenciais responsáveis pela formação do flocos.

O comportamento do amido em meio ácido depende de muitos fatores como o empacotamento das cadeias que pode não permitir a penetração do íon do ácido e as ligações glicosídicas que estão no interior das duplas hélices onde o íon de hidrogênio não consegue penetrar (NAKAZAWA e WANG, 2004). Em casos onde a modificação ácida do amido é desejável, a utilização de concentrações mais altas de ácido são relatadas. Neves e Moraes (2005) avaliaram a solubilidade do amido de duas variedades de arroz em diferentes concentrações de ácido acético. Para o cultivar BR IRGA-410 foi observado aumento da solubilidade do amido com o aumento da concentração do ácido enquanto para a cultivar Epagri 111, o comportamento da solubilidade foi o oposto. O mecanismo e as contribuições do amido na formação de flocos ácidos ainda não é apresentado na literatura.

5.6 Teste modificado de floco ácido

A análise de floco ácido foi desenvolvida de acordo com o item 4.2.6, entretanto a solução inicial de açúcar foi filtrada em filtro 0,8 μm ao invés de filtro Whatman nº 54 (20 - 25 μm). O intuito deste teste foi a remoção do amido presente nas amostras, uma vez que os grânulos de amido na cana-de-açúcar apresentam tamanho entre 1 – 10 μm . Conforme avaliado e discutido no item 5.3, mesmo com a utilização de filtro 0,8 μm , o filtrado ainda apresenta amido em sua composição. Verificou-se que a redução do amido após a filtração das soluções preparadas com as amostras de açúcar em teste foi em média 25 %, observando-se reduções de 13,78 a 34,15%.

A Tabela 20 apresenta os valores de turbidez das amostras após 10 dias de estocagem em local seco e fresco, ao abrigo da luz. Não foi observada a formação de flocos nas amostras analisadas.

Tabela 20 – Avaliação da formação de floco ácido e turbidez com a utilização de filtro 0,8 μm no método de análise.

Período de avaliação	Amostras	Floco ácido (visual)	Turbidez (NTU)
Junho	1	0 = Negativo	3,73 $\pm$ 0,68 ^{de}
	2	0 = Negativo	4,07 $\pm$ 0,24 ^{de}
	3	0 = Negativo	6,77 $\pm$ 0,41 ^{bcd}
	4	0 = Negativo	2,35 $\pm$ 0,47 ^e
	5	0 = Negativo	2,63 $\pm$ 0,35 ^e
	6	0 = Negativo	2,11 $\pm$ 0,17 ^e
	7	0 = Negativo	1,94 $\pm$ 0,08 ^e
	8	0 = Negativo	2,19 $\pm$ 0,38 ^e
	9	0 = Negativo	2,05 $\pm$ 0,26 ^e
Outubro	10	0 = Negativo	9,31 $\pm$ 0,72 ^{ab}
	11	0 = Negativo	8,47 $\pm$ 0,52 ^{abc}
	12	0 = Negativo	6,03 $\pm$ 0,17 ^{cd}
	13	0 = Negativo	6,77 $\pm$ 0,38 ^{bcd}
	14	0 = Negativo	10,44 $\pm$ 0,77 ^a
	15	0 = Negativo	5,76 $\pm$ 0,68 ^{cd}
	16	0 = Negativo	9,57 $\pm$ 0,68 ^{ab}
	17	0 = Negativo	10,09 $\pm$ 1,03 ^a
	18	0 = Negativo	10,97 $\pm$ 1,04 ^a
	19	0 = Negativo	10,77 $\pm$ 0,49 ^a
	20	0 = Negativo	9,67 $\pm$ 0,57 ^{ab}
	21	0 = Negativo	10,54 $\pm$ 0,61 ^a

NOTA: Médias em NTU $\pm$ Desvio Padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 95 % de confiança.

Em relação aos resultados obtidos com o ensaio de floco ácido conduzido de acordo com o método CTC, apresentado no item 5.5, observa-se que com a filtração, as amostras 10,11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 e 21 não apresentaram mais turvação visível, demonstrando assim a importante relação do amido na formação de turbidez no teste de floco ácido. Essa relação foi confirmada também com o coeficiente de correlação obtido no teste de floco ácido ($R^2 = 0,96$), maior que o coeficiente entre as variáveis dextrana e turbidez que foi de $R^2 = 0,84$. As amostras 1, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 não apresentaram diferença estatística nos valores de turbidez no teste de floco ácido conduzido de acordo com o método CTC e com o método utilizando filtro de $0,8 \mu\text{m}$.

A Tabela 21 apresenta os resultados de turbidez obtidos com a condução do ensaio de floco ácido segundo método CTC e com a utilização da filtração sugerida da solução de açúcar no início do teste.

Tabela 21 – Avaliação da influência da filtração da solução de açúcar na turbidez do teste de floco ácido.

Período de avaliação	Amostras	Turbidez (NTU) ¹	Turbidez (NTU) ²	Redução %
Junho	1	4,34 ± 0,21 ⁱ	3,73 ± 0,68 ^{de}	14,70
	2	7,49 ± 0,12 ^h	4,07 ± 0,24 ^{de}	45,68
	3	10,18 ± 0,23 ^g	6,77 ± 0,41 ^{bcd}	33,55
	4	3,72 ± 0,17 ⁱ	2,35 ± 0,47 ^e	36,83
	5	4,10 ± 0,14 ⁱ	2,63 ± 0,35 ^e	35,99
	6	3,92 ± 0,21 ⁱ	2,11 ± 0,17 ^e	46,09
	7	5,18 ± 0,29 ⁱ	1,94 ± 0,08 ^e	62,48
	8	5,19 ± 0,14 ⁱ	2,19 ± 0,38 ^e	57,78
	9	3,98 ± 0,24 ⁱ	2,05 ± 0,26 ^e	48,37
Outubro	10	16,29 ± 0,25 ^e	9,31 ± 0,72 ^{ab}	42,84
	11	14,29 ± 0,29 ^f	8,47 ± 0,52 ^{abc}	40,76
	12	9,87 ± 0,18 ^g	6,03 ± 0,17 ^{cd}	38,87
	13	11,16 ± 0,28 ^g	6,77 ± 0,38 ^{bcd}	39,29
	14	33,46 ± 6,31 ^a	10,44 ± 0,77 ^a	68,80
	15	20,35 ± 2,05 ^e	5,76 ± 0,68 ^{cd}	71,70
	16	32,10 ± 2,95 ^{ab}	9,57 ± 0,68 ^{ab}	70,26
	17	30,04 ± 2,40 ^c	10,09 ± 1,03 ^a	66,42
	18	31,48 ± 4,65 ^{bc}	10,97 ± 1,04 ^a	65,14
	19	30,41 ± 6,87 ^{bc}	10,77 ± 0,49 ^a	64,58
	20	24,59 ± 2,30 ^d	9,67 ± 0,57 ^{ab}	60,57
	21	25,67 ± 1,79 ^d	10,54 ± 0,61 ^a	58,95

1 - Turbidez do teste de floco ácido seguindo o método descrito pelo CTC (*Centro de Tecnologia Canavieira*).

2 - Turbidez do teste de floco ácido realizando a filtração da solução de açúcar em filtro 0,8 µm.

Médias em NTU ± Desvio Padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 95 % de confiança.

Foi possível observar redução dos valores de turbidez nas amostras filtradas em filtro de 0,8 µm. A redução média nos valores de turbidez foi de 58,44 %, com mínimo de 14,70 % (amostra 1) e máximo de 71,70 % (amostra 15).

As amostras produzidas em outubro tiveram as maiores reduções nos valores de turbidez e possivelmente apresentavam maior quantidade de amido na forma de frações maiores que 0,8 µm. Os resultados de reduções do amido contido na solução com a utilização da filtração em filtro de 0,8 µm (item 5.3) não podem ser comparadas as reduções obtidas nos resultados de turbidez. Isso porque o preparo inicial da solução para o teste de floco ácido e alcoólico são diferentes em relação a temperatura de aquecimento. Além disso, no teste de

floco ácido existe o meio ácido carbonatado, que juntamente com os demais fatores citados pela literatura, podem influenciar os resultados de turbidez obtidos.

Segundo o método de floco ácido do CTC, deve ser utilizado filtro nº 54, que apresenta abertura de 20 - 25 μm . Considerando que na literatura são relatados grânulos de amido na cana-de-açúcar com tamanho entre 1-10 μm , pode-se afirmar que o método analítico não elimina o amido contido na amostra, sendo dessa forma considerado influente no resultado final.

5.7 Relação entre os testes de floco ácido e floco alcoólico

O coeficiente de correlação entre as variáveis floco ácido e floco alcoólico, segundo cálculo realizado pelo programa Statistica 7.0 foi de $R^2 = 0,87$. Considerando as variáveis floco alcoólico e turbidez, o coeficiente de correlação foi de $R^2 = 0,95$. Os dois coeficientes demonstram uma correlação positiva entre os testes de floco alcoólico e de floco ácido. O maior coeficiente encontrado se deve possivelmente ao método utilizado para avaliação do resultado de floco ácido. O método adotado pelo CTC determina a avaliação visual para conclusão do teste, com utilização de uma escala para classificação dos resultados. A medição da turbidez proporciona resultados mais confiáveis e elimina o fator percepção durante a avaliação. Dessa forma o coeficiente de correlação $R^2 = 0,95$ é mais representativo e confiável, podendo ser justificado pelo comportamento parecido da dextrana e amido em soluções alcoólicas e ácidas. Sendo assim, pode-se afirmar que a utilização de açúcar com altos teores de dextrana e amido na produção de bebidas alcoólicas destiladas e produção de bebidas ácidas carbonatadas com pH aproximado de 2,5 apresenta alta probabilidade de formação de flocos.

6. CONCLUSÃO

- Quanto maiores os teores de dextrana e amido nas amostras de açúcar cristal, maiores as leituras de absorbância, resultado esse que demonstra o potencial do açúcar em formar flocos alcoólicos;

- Teores a partir de $132,89 \pm 2,36$ mg/kg de dextrana e $207,03 \pm 1,76$ mg/kg de amido são suficientes para formação de turvação visível nos testes de floco ácido;

- O amido e a dextrana apresentaram correlação positiva com os resultados de floco ácido (avaliação visual e turbidez), sendo que o amido teve maior influência na formação de turvação nas soluções de teste de floco ácido do que a dextrana;

- Teores a partir de $228,00 \pm 0,87$ mg/kg de dextrana e $168,98 \pm 1,67$ mg/kg de amido em açúcar cristal são suficientes para acarretar a formação de flocos em solução alcoólica a 89 % v/v etanol após 15 horas de estocagem;

- O teste de floco alcoólico conduzido de acordo com o método padrão apresentou relação positiva com o teste forçado de floco alcoólico, entretanto a visualização de precipitados foi possível somente em solução a 89 % v/v etanol;

- Com a utilização do filtro 0,8 μ m no teste de floco ácido, foram observadas reduções de 14,70 a 71,70 % nos valores de turbidez e houve eliminação de turvação visível para todas as amostras que apresentaram essa alteração no teste de floco ácido;

- A filtração descrita pelo método utilizado para avaliação de floco alcoólico reduz em média 25 % da quantidade de amido presente no açúcar cristal, demonstrando que a maior parte do amido presente nas amostras de açúcar cristal apresentaram grânulos/partículas com tamanho $<0,8 \mu$ m.

- Os resultados dos testes de floco ácido (avaliação visual e turbidez) e floco alcoólico apresentaram correlação positiva. A utilização de açúcar com altos teores de dextrana e amido

na produção de bebidas alcoólicas destiladas e bebidas ácidas carbonatadas com pH aproximado de 2,5 apresenta alta probabilidade de formação de flocos.

7. BIBLIOGRAFIA

AGÊNCIA FAPESP. **Pesquisadores e produtores de cana-de-açúcar do mundo inteiro se reúnem no Brasil.** Thiago Moura. Disponível em <www.ttnsustentavel.com.br/.../pesquisadores-e-produtores-de-cana-de-acucar-do-mundo-inteiro-se-reunem-no-brasil> Acesso em: 10 mar. 2012.

AIZAWA, M.; SUZUKI, S.; KUOKA, T.; NAKAJIMA, N. IWAO, Y. Stability of dextran solutions. **Bulletin of chemical society of Japan**. v. 49, n. 8, p. 2061-2065, 1976.

ALSOP, R. M. Industrial production of dextrans. **Progress in Industrial Microbiology**, v. 18, p. 1 – 44, 1983.

ALVAREZ, F. J.; CARDENTY. Pratical aspects of the control of dextran at Atlantic Sugar Association. **Int. Journal Sugar**, v. 90, n. 1078, p. 182-184, 1988.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em <<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B25181-1-0%5D.PDF>> Acesso em: 25 mar. 2012.

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

AQUINO, D. S. **Produção de dextranas por novas linhagens de bactérias isoladas da cana-de-açúcar.** 2006. 91 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

AQUINO, F. W. B.; FRANCO, D. W. Dextranas em açúcares do estado de São Paulo. **Química Nova**, v. 31, n. 5, São Paulo, 2008.

AQUINO, F. W. B.; **Dextranas em açúcar e em água ardente de cana.** 2009. 128f.Tese (Doutorado em Ciências), Uiversidade de São Paulo, São Paulo.

BASHARI, M.; NIKOO, M.; JIN, Z.; BAI, Y.; XU, X.; YANG, N.; Thermal and rheological properties of the supersaturated sucrose solution in the presence of different molecular weight fractions and concentrations of dextran. **Europe Food Research Technology**, v. 234, p. 639–648, 2012.

BATTA, S. K.; SINGH, R. Sucrose metabolism in sugar cane grown under varying climatic conditions: synthesis and storage of sucrose in relation to the activities of sucrose synthetase, sucrosephosphate synthase and invertase. **Phytochemistry**, v. 25, p. 2431- 2437, 1986.

BEWLEY, J. D; BLACK, M. Seeds: Physiology of Development and Germination. **Plenum Press**, 2 ed., 445 p., New York and London, 1994.

BILIADERIS, C. G. Structures and phase transitions of starch with food. **Food Technology**, Chicago, v.46, n. 6, p. 98-109, 1992.

BLAKE, J. D; LITTLEMORE, J. A water-soluble polysaccharides from stand-over cane. Part I. Isolation and structural characterization from the Field, **Sugar Journal**, v. 86, p. 222-226, 1984.

BOLOGNA-CAMPBELL, I. **Balanço de nitrogênio e enxofre no sistema solo-cana-de-açúcar no ciclo de cana-planta**. 2007.112 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Solos e Nutrição de Plantas), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

BOSO, L. M. **Determinação de aminoácidos em flocos, açúcares e em bebidas alcoólicas por cromatografia líquida de alta eficiência**. 2001. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BOYES, P. N. Quantitative determination of some non-sugars and partial removal of one in particular- starch, **South African Sugar Technology Association**, v. 32, p. 37-43, 1958.

BULÉON, A.; COLONNA, P., PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: Structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, p. 85-112, 1998.

CALDAS, C.; SILVA, J. F. J.; CARVALHO, D. T. F. A dextrana na produção de açúcar de mesa. **Stab**, v.17, n. 1, p. 24, 1998.

CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise de aceitação de aguardentes de cana por testes afetivos e mapa de preferência interno. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, v. 20, n. 1, p. 32-36, 2000.

CASAGRANDE, A. A. **Tópicos de morfologia e fisiologia da cana-de-açúcar**. Jaboticabal: FUNEP, 1991, 180 p.

CHEN, J. C. P.; CHOU, C. **Cane Sugar Handbook. A manual for cane sugar manufacturers and their chemists**. 12nd ed., New York John Wiley & Sons, 1993.

CIACCO, C. F.; CRUZ, R. Fabricação do amido e sua utilização. **Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia do estado de São Paulo**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 152, 1982.

CLARKE, M. A. Dextranas em los ingenios azucareros: Presencia y control. **Sugar y Azucar**, v. 92, p. 38-46, 1997.

CLARKE, M. A. In: CHEN, J.C.P. **Cane Sugar Handbook**. Wiley Interscience. New York, 1985, cap. 35, 901 p.

CLARKE, M. A. Sugar Cane Processing: Raw and Refined Sugar Manufacture. **Chemistry and Processing of Sugar beet and Sugar cane**. p. 162-175, 1988.

CLARKE, M. A.; ROBERTS, E.J.; GODSHALL, M. Acid beverage floc from sugar beets. **Sugar Processing Research Institute**, 1999.

CLARKE, M. A.; ROBERTS, E. J.; GODSHALL, M. Non-Starch, soluble polysaccharides of sugar cane. **Sugar Processing Research Institute**, v. 60, p. 292-308, 1986.

CONTRERAS-LOPEZ, E.; CHAMPION, G.; LE MESTE, M. Influence of dextran, pullulan and gum arabic on the physical properties of frozen sucrose solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 83–91, 2005.

COOPERATIVA DOS PRODUTORES DE CANA, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO – COPERSUCAR. Métodos analíticos. In: COPERSUCAR. **Manual de controle químico de produção de açúcar**. Piracicaba, 1987. p. 1-51.

COSTA, M. C. G. **Distribuição e crescimento radicular em soqueiras de cana-de-açúcar: dois cultivares em solos com características distintas**. 2005. 88 f. Tese (Doutorado em Agronomia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CUDDIHY, J. A.; PORRO, M. E.; RAUH, J. S. The presence of total polysaccharides in sugar production and methods for reducing their negative effects. **Journal of American society of Sugarcane Technologists**, v. 21, p. 73-91, 2001.

DELGADO, A. A.; AZEREDO CÉSAR, M. A. **Elementos de tecnologia e engenharia do açúcar de cana**. v.2. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1977.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L.P. Starch granules structure and its regards with physicochemical properties. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945-954, 2009.

EBRAHIM, M. K.; ZINGSHEIM, O.; EL-SHOUBAGY, M.N.; MOORE, P. H.; KOMOR, E. Growth and sugar storage in sugarcane grown at temperatures below and above optimum. **Journal Plant Physiol**. v. 153, n. 5, p. 593-602, 1998.

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

ELIASSON, A. C. **Carbohydrates in food**. New York: Marcel Dekker, 1996. 664 p.

EL-SYIAD, S. I. Egyptian raw sugar quality in relation to refining requirements. **Food Chemistry**, v. 68, p. 253-257, 2000.

FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3th. New York: Ed. Marcel Dekker, 1996.

FIGUEIRA, J. A. **Amido de cana-de-açúcar: determinação quantitativa e caracterização**. 2009. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

FRANCO, C. M. L. **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**: Propriedades Gerais do amido. Campinas: Fundação Cargill, 2001, v.1, 224p.

FREITAS, V.; CARVALHO, E.; MATEUS, N. Study of carbohydrate influence on protein-tannin aggregation by nephelometry. **Food Chemistry**, v. 81, n. 4, p. 503-509, 2003.

FRENCH, D. Organization of starch granules. In: Whistler, R.L.; BEMILLER, J.N.; PASCHALL, E.F., **Starch: chemistry and tecnologia**, v. 32, p. 177-191, 1984.

FURTADO, S. M. B. **Avaliação sensorial descritiva de aguardente de cana (*Saccharum officinarum* L): Influência da composição em suas características sensoriais e correlação entre as medidas sensoriais e físico-químicas**. 1995. 99 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

GALVANI, A.; CAMARGO, C. R.; CIACCO, C. F. Effect of come lipids, sugars, salts and acids on starch gelatinization and retrogradation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 3- 13, 1994.

GIORNO, L.; TODISCO, S.; DONATO, L.; DRIOLO, E. Study of fouling phenomena in apple juice clarification by enzyme membrane reactor. **Separation Science and Technology**, v. 33, p. 739-756, 1998.

GODSHALL, M. A.; VERCELLOTTI, J. R.; TRICHE, R. Comparison of cane and beet macromolecules in processing. **International Sugar Journal**, v. 104, p. 228-233, 2002.

GODSHALL, M. A.; LEGENDRE, B. L.; CLARKE, M.A.; MIRANDA, X. M.; BLANCO, R. S. Starch, polysaccharide and proanthocyanidin in Louisiana sugarcane varieties. **International Sugar Journal**, v. 98, p. 144-148, 1994.

GODSHALL, M. A.; LEGENDRE, B. L.; RICHARD, C.; TRICHE, R. Effect of harvest system on cane juice quality. **Proc. Sugar Processing Research Conference**, p. 222 – 236, 2000.

HASHIM, D. B.; MOORTHY, S. N.; MITCHELL, J. R.; HILL, S. E.; LINFOOT, K. J.; BLANSHARD, J. M. V. The effect of low levels of antioxidants on the swelling and solubility of cassava starch. **Starch/Stärke**, v. 44, p. 471 - 475, 1992.

HERNANDEZ, L.; ARRIETA, J.; MENENDEZ, C.; VAZQUEZ, R.; COEGO, A.; SUAREZ, V.; SELMAN, G.; PETIT-GLATRON, M. F.; CHAMBERT, R. Isolation and enzymic properties of levansucrase secreted by *Acetobacter diazotrophicus* SRT4, a bacterium associated with sugar cane. **Biochemical Journal**, v. 309, p.113-118, 1995.

HIRATA, Y.; AOKI, M.; KOBATAKE, H.; YAMAMOTO, H. Insolubilization of water-soluble dextran. **Biomaterials**, v. 20, n. 4, p. 303-307, 1999.

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

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/estatisticas/indicadores/agropecuaria>>. Acesso em: 03 mar. 2012.

IMRIE, F. K. E.; TILBURY, R. H. Polysaccharides in sugar cane and its products. **Sugar Technology Reviews**, v. 1, p. 291-361, 1972.

IPMet - Instituto de Pesquisas Meteorológicas. Disponível em <<http://www.ipmet.unesp.br/>>. Acesso em: 13 mar. 2012.

JAMES, A. C.; MIGUEL, E. P.; JAMES, S. R. The presence of total polysaccharides in sugar production and methods for reducing their negative effects. **Midland Research Laboratories Inc**, 2000.

JANE, J.; CHEN, Y. Y.; LEE, L. F.; McPHERSON, A. E.; WONG, K. S.; RADOSAVLJEVIC, M.; ASEMMSUWAM, T. Effects of amylose branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, v. 76, n. 5, p. 629-637, 1999.

JAYAKODY, L.; HOOVER, R. The effect of lintnerization on cereal starch granules. **Food Research International**, v. 35, n. 7, p. 665-680, 2002.

JEANES, A. Dextran. **John Wiley & Sons Inc.**, v. 4, p. 805-824, 1966.

JIMÉNEZ, E. R. The dextranase along sugar – making industry. **Biotecnología aplicada**, v. 22, p. 20-27, 2005.

KAMPEN, W. H.; TAN, Q.; CUDDIHY, J. A. JR. The action of alphaamylase on sugar cane starch. **American Society of Sugar Cane Technologists**, 1998.

KARTHIKEYAN, R. S.; SWAMINATHAN, T.; VARADARAJAN, A. Dextran. **John Wiley & Sons Inc.** p. 803-821, 1999.

KASEMSUWAM, T.; JANE, J.; SCHNABLE, P.; STINARD, P.; ROBERTSON, D. Characterization of the dominant mutant amylose-extender (Acl– 5180) maize starch. **Cereal Chemistry**, v. 72, n. 5, p. 457-464, 1995.

KEPEC, M. Application of quaternary ammonium compounds and formalin as disinfectants in sugar production. **Food Technology and Biotechnology**, v. 34, n. 2/ 3, p. 101-105, 1996.

KIM, D.; DAY, D. F. Determination of dextran in raw sugar process streams. **Food Science and Biotechnology**, v. 13, p. 248 - 252, 2004.

KIM, D.; ROBYT, J. F.; LEE, S. Y.; LEE, J. H.; KIM, Y. M. Dextran molecular size and degree of branching as a function of sucrose concentration, pH, and temperature of reaction of *Leuconostoc mesenteroides* B-512FMCM dextranase. **Carbohydrate Research**, v. 338, n. 11, p. 1183-1189, 2003.

KOBLITZ, M.G.B.; MORETTI, R.H. Polysaccharide removal from refined sugar syrup. **Internacional Sugar Journal**, v. 101, n. 1206, p. 323-325, 1999.

KROES, S.; HARRIS, H. D. Effects of cane harvester basecutter parameters on the quality of cut. **Proceedings of Australian Society of Sugar Cane Technologists**. v. 16, p. 169-177, 1994.

LEAL, K. **Espectroscopia**. Disponível em www.uff.br/fisicoquimica/docentes/katialeal/didatico/Capitulo_2.pdf. Acesso em: 15 mar. 2012.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L.; COX, M. M. (2000 d). **Princípios de bioquímica**. 8. ed. São Paulo, Sarvier, 2005.

LIUZZO, J. A.; WONG, C. M. Detection of floc producing sugars by a protein dye-binding method. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v. 30, p. 340-34, 1982.

LOPES, C. H. Manual de controle de qualidade de açúcar da Sucral. 62 p. São Carlos, 1993.

MACHADO, H. N. F; MORETTI, R.H.. Comunicação pessoal, 1997.

MANTELATTO, P. E. **Estudo do processo de cristalização de soluções impuras de sacarose de cana-de-açúcar por resfriamento**. 2005. 272f. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de São Carlos.

MAPA. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>>. Acesso em: 13 abr. 2012.

MARAFANTE, L. J. **Tecnologia da fabricação do álcool e do açúcar**. 1.ed. São Paulo: Ícone Editora Ltda., 1993. 148p

MARQUES, M. O.; MARQUES, T.A.; TASSO JÚNIOR, L. C. **Tecnologia do açúcar. Produção e industrialização da cana-de-açúcar**. Jaboticabal-SP: Funep, 2001.

MASSON, N. P. M. **Caracterização das fontes poluidoras na fase industrial de uma usina de açúcar e álcool e proposição de melhorias**. 1999. 52f. Monografia (Especialização em Gestão Ambiental), Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

MATUDA, T. G. **Análise Térmica da massa de pão francês durante os processos de congelamento e descongelamento: Otimização do uso de aditivos**. 2004, 142f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo.

MAX, A.; CHOEN, O.; DIONISIO, G.; STANFORD, J. D. Quality problems in refined cane sugar, **Sugar Journal**, p. 8-16, 1972.

MEADE, G. P.; CHEN, J. C. P. Cane Sugar Handbook, 10th ed. John Wiley and Sons, v. 22 p. 136-137, 1977.

MOREL DU BOIL P. G.; WIENESE, S.; SCHOONEES, B. M. The cause of sarkaran in sugarcane. **International Sugar Journal**, v. 108, n. 1290, p.317-326, 2006.

MURO, A. C.; RODRIGUEZ, E.; ABATE, C. M.; SIÑERIZ, F. Levan production using mutant strains of *Zymomonas mobilis* in different culture conditions. **Biotechnology Letters**, v. 22, n. 20, p. 1639-1642, 2000.

NAESSENS, M.; CERDOBBEL, A.; SOETAERT, W.; VANDAMME, E.J. Leuconostoc dextranucrase and dextran: production, properties and applications. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 80, n. 8, p. 845-860, 2005.

NAKAZAWA, Y.; WANG, Y. J. Effect of annealing on starchpalmitic acid interaction. **Carbohydrate Polymers**, Kidlington Oxford, v. 57, n. 3, p. 327-335, 2004.

NEUCHL, C.; MERSMANN, A. Comparison of the non-solvents ethanol and isopropanol for the fractionation of dextran. **Fluid Phase Equilibria**. v. 116, n.1/2, p. 133-139, 1996.

NEUCHL, C.; MERSMANN, A. Fractionation of polydisperse dextran using ethanol. **Chemical Engineering Science**, v. 50, n. 6, p. 951-958, 1995.

NEVES, L. A. S.; MORAES, D. M. Análise do vigor e da atividade da α amilase em sementes e cultivares de arroz submetidas a diferentes tratamentos com ácido acético. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. v. 4, p. 35-43, 2005.

OLIVEIRA, A. S.; RINALDI, D. A.; TAMANINI, C. E. V. HAULY, M. C. O. **Fatores que Interferem na Produção de Dextrana por Microrganismos Contaminantes da Cana-de-Açúcar**. Semina Ciências e Tecnológica, Londrina, v. 23, n. 1, p. 99-104, 2002.

OLIVEIRA, D. T.; ESQUIAVETO, M. M. M.; SILVA JUNIOR, J. F. Impacto dos itens da especificação do açúcar na indústria alimentícia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 99-102, 2007.

OLIVEIRA, E. S. O. **Enzimas para limitar os resíduos de amido e dextrana**. Revista Opiniões. Disponível em <<http://www.revistaopinioes.com.br/aa/materia.php?id=291>>. Acesso em: 10 mar. 2011.

PARANHOS, S. B. **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987, v.1. 431p.

PARK, Y. K.; MARTENS, I. S. H.; SATO, H. H. – Enzymatic removal of starch from sugarcane during sugarcane processing. **Process Biochemistry**. v. 20, p. 57-59, 1985.

PARK, Y. K.; SATO, H. H. - Fungal invertase as an aid for fermentation of cane molasses into ethanol, **Applied and Environmental Microbiology**, v. 44, p. 988-989, 1982.

PAVNO, A. B.; PURCHASE, B. B. Dealing with dextran in the South African sugar industry. **International Sugar Journal**, v. 108, n. 1289, p. 255-269, 2006.

PERONI, F. H. G.; ROCHA, T. S.; FRANCO, C. M. L. Some structural and physicochemical characteristics of tuber and root starches. **Food Science and Technology International**, v. 12, n. 6, p. 505-513, 2006.

Polysaccharide in sugarcane juice. In: SIMCANA - Symposium of ecophysiology, maturation and ripeners in sugarcane, v. 2, Botucatu, Sao Paulo. Proceedings Botucatu: FCA, p. 01-03.

PAVNO, A. B.; PURCHASE, B. B. Dealing with dextran in the South African sugar industry. **International Sugar Journal**, v. 108, n. 1289, p. 255-269, 2006.

REFSGAARD, H. H. F.; SCHAUMBURG, K.; SKIBSTED, L. H. Solid-state C NMR investigations of insoluble deposits in aromatic bitters. **Zeitschrift für Lebensmittel-untersuchung und-Forschung A**, v. 203, n.3, p. 287-292, 1996.

RICKARD, J. E.; ASAOKA, M.; BLANSHARD, J. M. V. The physicochemical properties of cassava starch. **Tropical Science**, v. 31, p. 189-207, 1991.

ROBERTS, E. J.; GODSHALL, M. A.; CARPENTER, F.G.; CLARKE, M.A. Composition of soluble indigenous polysaccharide from sugarcane. **International Sugar Journal**, v. 78, p. 163-165, 1976.

ROBYT, J. F.; KIMPLE, B. K.; WALSETH, T.F. The mechanism of dextransucrase action: Direction of dextran biosynthesis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 165, n. 2, p. 634-640, 1974.

RODRIGUES, S. **Estudo da síntese enzimática de dextrana na presença de maltose como aceitor**. 2003. 244 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

RODRIGUES-FILHO, M. G.; LEITE-NETO, A. F.; AQUINO, F. W. B.; PLESPIS, A. M. G.; RODRIGUES-FILHO, U. P.; FRANCO, D. W. Quantificação de dextranas em açúcares e em cachaça. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1115-1118, 2007.

SABATIE, J.; CHOPLIN, L.; PAUL, F.; MONSAN, P. The effect of synthesis temperature on the rheological properties of native dextran. **Biotechnology Letters**, v. 8, n. 6, p. 425-430, 1986.

SEGATO, S. V.; MATTIUZ, C. F. M.; MOZAMBANI, A. E. Aspectos fenológicos da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. de S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. (Orgs). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, p.19-36, 2006.

SIEBERT, K. J.; CARRASCO, A.; LYNN, P. Y. Formation of protein-polyphenol haze in beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 8, p. 1997-3834, 2005.

SILVA, J. D. R., SILVA NETO, H. F., TASSO JUNIOR, L. C., MARQUES, M. O. SINGLETON, V.; J. HORN, C.; BUCKE & M, A. A new polarimetric method for the analysis of dextran and sucrose. **International Sugar**, v. 103, p. 251-254, 2001.

STENEKES, R.J.H.; TALSMA, H.; HENNINK, W.E. Formation of dextran hydrogels by crystallization. **Biomaterials**, v. 22, n. 13, p. 1891-1898, 2001.

STEVENSON, J.C.; WHAYMAN, E. Cane Starch -Part I-Isolation and iodine affinity. **International Sugar Journal**, p. 44-46, 1976.

TAKIZAWA, F. F.; SILVA, G. O.; KONKEL, F. E.; DEMIATE, I. M. Characterization of tropical starches modified with potassium permanganate and lactic acid. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n.6, p. 921-931, 2004.

TESTER, R. F. Properties of damaged starch granules: composition and swelling properties of maize, rice, pea and potato starch fractions in water at various temperatures. **Food Hydrocolloids**, v. 11, n. 3, p. 293-301, 1997.

TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches - Effects of amylopectin, amylose, and lipids. **Cereal Chemistry**, v. 67, p. 551-557, 1990.

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

THARANATHAN, R.N. Food derived carbohydrates – Structural complexity and functional diversity. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 22, p. 65-84, 2002.

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

TILBURY. R.H. **Biodeterioration of harvested sugarcane in Jamaica**. 1970. 391 f. Tese Ph.D. Aston University, Birmingham, UK.

UMEBARA. T. **Microfiltração de caldo de cana: Caracterização do caldo permeado e retentado**. 2010. 100 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

UNICA - União da Agroindústria Canavieira de São Paulo. Disponível em <<http://www.portalunica.com.br/portalunica/?Secao=UNICA%20em%20açúcar&SubSecao=cana-de-açúcar>>. Acesso em: 16 nov. 2011.

VASCONCELOS, J. N. Derivados da cana-de-açúcar. **STAB: açúcar, álcool e subprodutos**. v. 20, n. 3, p. 16-18, 2002.

VIGNES, E.C. Notes on Cane Starch and its Determinations. **Proc 15 th Congress of ISSCT**, v. 3, p. 1288-1295, 1974.

WHAYMAN, E.; WILLERSDORF, A. L. Cane Starch – Part II – Starch components and their iodine complex spectra. **International Sugar Journal**, p. 67-68, 1976.

YANLI, M.; WOOD. G.; THOMA, L. Protection mechanisms of excipients on lactate dehydrogenase during freeze–thawing and lyophilization. **AAPS Journal**, v. 6, 2002

YU, L.; CHRISTIE, G. Measurement of starch thermal transitions using differential scanning calorimetry. **Carbohydrate polymers**, v. 46, n. 2, p. 179-184, 2001.

ZHOU, M. M; KIMBENG, C. A.; EGGLESTON, G. VIATOR, R. P.; HALE, A. L.; GRAVOIS, K. A. Issues of starch in sugarcane processing and prospects of breeding for low starch content in sugarcane. **Sugar Cane International**, v. 26, n. 3, p. 1-11, 2008.