**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Estudo da degradação térmica de sacarose e da contaminação
microbiológica no processo de fabricação de açúcar**

Felipe Iwagaki Braga Ogando

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Microbiologia Agrícola

**Piracicaba
2015**

Felipe Iwagaki Braga Ogando
Engenheiro Agrônomo

**Estudo da degradação térmica de sacarose e da contaminação microbiológica
no processo de fabricação de açúcar**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **CLAUDIO LIMA DE AGUIAR**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Microbiologia Agrícola

Piracicaba
2015

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Ogando, Felipe Iwagaki Braga

Estudo da degradação térmica de sacarose e da contaminação microbológica no processo de fabricação de açúcar / Felipe Iwagaki Braga Ogando. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2015.

90 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. *Saccharum* 2. HMF 3. Furfural 4. Inversão de sacarose 5. Bactérias mesófilas
6. Bolores e leveduras I. Título

CDD 664.122
O34e

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

*Dedico este trabalho a minha
futura esposa, Aline, meus pais
José Álvaro e Marilsa e minha
irmã Patrícia.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, José Álvaro e Marilsa pelo enorme apoio, incentivo, dedicação e amor ao longo do trabalho.

A minha namorada, Aline, por todo carinho, dedicação, suporte e amor. Faltariam palavras para descrever toda ajuda.

A minha irmã porque mesmo longe nunca deixou de me apoiar e incentivar.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Cláudio Lima Aguiar, por acreditar no meu trabalho, por todos os ensinamentos e pela amizade construída.

Ao Prof. Dr. Antônio Sampaio Baptista pelos ensinamentos, amizade e ajuda.

A Juliana Sartori por me ajudar a entrar no Grupo de Pesquisa Hugot Bioenergia, pelos ensinamentos e pela enorme ajuda na execução do trabalho.

Aos dois amigos que pude fazer nesse período, Gustavo Frattini e Pedro Nouer, pelas valiosas ajudas nas análises, enorme disposição em me ajudar e pelos bons momentos no laboratório.

Aos membros do Grupo de Pesquisa Hugot Bioenergia pelo companheirismo, ensinamentos e ajuda ao longo de todo o trabalho.

E também aos técnicos, Sylvino, Rose e Pedrinho pela ajuda.

Aos meus sogros Reginaldo e Vanderleia pelo grande carinho e incentivo.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro.

"A maior glória da vida não está em nunca cair,
mas em levantar a cada vez que caímos."

Nelson Mandela

SUMÁRIO

SUMÁRIO	9
RESUMO	11
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	17
1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 A cana-de-açúcar	21
2.2 O mercado sucroenergético brasileiro	22
2.2.1 O mercado do açúcar	24
2.3 Processo de produção de açúcar	24
2.3.1 Preparo da cana-de-açúcar e extração do caldo	25
2.3.2 Tratamento do caldo	26
2.3.3 Evaporação	28
2.3.4 Centrifugação, secagem e armazenamento	30
2.4 Degradação térmica de sacarose	30
2.5 Contaminantes microbianos no processo de fabricação de açúcar e produto final	32
2.5.1 Bolores e leveduras	34
2.5.2 Bactérias mesófilas	36
2.5.3 Influência da temperatura nos contaminantes microbianos	37
3 MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1 Reagentes	41
3.2 Obtenção dos pontos do processo	41
3.3 Caracterização química das amostras	42
3.3.1 Brix	42
3.3.2 Açúcares redutores – glicose e frutose	42
3.3.2 Sacarose	44
3.3.3 Furfural e 5-Hidroximetilfurfural	44
3.3.4 Melanoidinas	45
3.4 Análises microbiológicas	46
3.4.1 Preparo das amostras para as análises microbiológicas	46

3.4.2 Contagem de bactérias mesófilas totais	46
3.4.3 Contagem de fungos (bolores e leveduras)	48
4 RESULTADOS	51
4.1 Caracterização química das amostras da indústria	51
4.1.1 Açúcares redutores.....	52
4.1.2 Sacarose.....	58
4.1.3 Furfural e 5-Hidroximetilfurfural.....	64
4.1.4 Melanoidinas.....	69
4.2 Análise microbiológica	72
4.2.1 Contagem de bactérias mesófilas total	72
4.2.2 Contagem de fungos (bolores e leveduras)	75
5 CONCLUSÕES.....	79
REFERÊNCIAS	81

RESUMO

Estudo da degradação térmica de sacarose e da contaminação microbiológica no processo de fabricação do açúcar

A cadeia sucroenergética tem uma grande influência para economia nacional. Ao longo da safra 2013/2014, a cadeia movimentou cerca de US\$ 100 bilhões, sendo que somente o açúcar gerou uma arrecadação de cerca de US\$ 5.55 bilhões as usinas. O Produto Interno Bruto chegou a US\$ 43 bilhões, representando assim aproximadamente 2,0% do PIB Nacional. Todavia, o setor está atravessando uma crise econômica que foi potencializada pela queda no valor da saca de açúcar e por uma severa seca que atingiu em especial o estado de São Paulo. A diminuição de perdas se torna essencial em momentos de dificuldades e uma maneira de atingir esse objetivo é melhorando o monitoramento do processo. Nesse cenário, o presente pesquisa monitorou a degradação de sacarose ao coletar amostras em uma usina da região de Piracicaba-SP, associando como causador não somente as elevadas temperaturas, como outros fatores e medidas utilizadas pela indústria. Conforme esperado aumentou a concentração de sacarose ao longo do processo, iniciando com média de 137,69 g/L na moenda e finalizando com 812,91 g/L no açúcar que saiu do secador. Todavia também apresentou um aumento de açúcares redutores (182,38 g/L no caldo da moenda para 245,81 g/L no xarope), indicando a degradação de sacarose. Inclusive, percebe-se uma razão de inversão maior durante da evaporação do que no tratamento (0,46 e 0,28, respectivamente). A justificativa pode estar associada a possível queda no pH, a evidente utilização de maior quantidade de calor em especial no primeiro efeito, a um tempo de residência maior do que o normal nos evaporadores ou mesmo através da entrada de vapor nos corpos, sendo o último mais raro. Os outros parâmetros levantados da degradação térmica de sacarose, 5-hidroximetilfurfural, furfural e as melanoidinas apresentaram uma alta correlação em função da concentração de açúcares redutores (0,99 para o HMF, 0,98 furfural e 0,96 melanoidinas), confirmando a tendência de perdas da molécula de interesse. Também foram levantadas as populações de bactérias mesófilas totais, cujas presenças estão associadas com as condições sanitárias em que o alimento foi processado e fungos (bolores e leveduras) que também diminuem o valor do produto. O tratamento de caldo mostrou-se eficiente na diminuição dos micro-organismos. Considerando a média dos dois meses, a queda foi de $4,10 \times 10^6$ UFC/mL para $6,62 \times 10^2$ UFC/mL para bactérias mesófilas, já para fungos a redução foi de $1,40 \times 10^4$ UFC/mL para $1,80 \times 10^1$ UFC/mL. Todavia, as altas concentrações encontradas no início e no final (bactérias apresentaram em média $3,00 \times 10^3$ UFC/g no xarope e $2,26 \times 10^3$ UFC/g no açúcar do secador, enquanto que para os fungos foram encontrados $3,50 \times 10^1$ UFC/g no xarope e $1,49 \times 10^3$ UFC/mL no açúcar do secador) são indicativos de descuidos com a assepsia, aproveitando a falta de exigência de qualidade no açúcar VHP. A alta concentração do caldo da moenda apresentou potencial de estar relacionado com a perda de sacarose. Por fim, ao avaliar a situação e considerando que investimento em equipamentos novos é algo fora da realidade financeira da usina, sugere-se trabalhar em aprimorar as operações realizadas dentro e fora da indústria para se evitar as perdas.

Palavras-chave: *Saccharum*; 5-(hidroximetil)furfural; Furfural; Inversão de sacarose; Bactérias mesófilas; Bolores e leveduras

ABSTRACT

Study of sucrose thermal degradation and microbiological contamination over the sugar manufacturing process

The sugar-energy industry chain has a great influence on the Brazilian economy. Along the 2013/2014 crop, the industry accounted for about US\$ 100 billion, and sugar alone yielded about US\$ 5.55 billion to sugar mills. The industry yielded US\$ 43 billion, accounting for approximately 2,0% of the Brazilian GDP. Nevertheless, the industry is facing an economic crisis aggravated by the drop prices of sugar bag and a severe drought that hit particularly the state of São Paulo in Brazil. Minimizing losses becomes essential in times of difficulties and a way to achieve it is to improve process monitoring. In this scenario, the present project monitored sucrose degradation in samples collected at sugar mill in the region of Piracicaba-SP, associating the degradation to high temperatures as well as other factors and measures used by the mill. As expected, sucrose concentration increased throughout the process, starting with an average of 137,69 g/L at milling and finishing with 812,91 g/L in sugar out of the dryer. However, there was also an increase of reducing sugars (182,38 g/L in milling juice to 245,81 g/L in syrup), indicating sucrose degradation. There was a larger reversal rate during evaporation than in the treatment (0,46 and 0,28, respectively). This is possibly attributed to a pH decrease, an evident use of greater amount of heat in particular in the first effect, a longer time than normal in evaporators or even due to steam inlet into the bodies, which is rarer. The other parameters arising from sucrose thermal degradation, 5-hydroxymethylfurfural, furfural and melanoidins, showed a high correlation with the concentration of reducing sugars (0,99 for HMF, 0,98 for furfural and 0,96 for melanoidins), confirming the trend for loss of the molecule of interest. We also investigated the total populations of mesophilic bacteria, whose presence is associated with health conditions where the food was processed, as well as fungi (molds and yeasts), which also decreases the value of the final product, may produce mycotoxins. The syrup treatment was effective to reduce microorganisms. Considering the average, the population of mesophilic bacteria decrease from $4,10 \times 10^6$ cfu/mL to $6,62 \times 10^2$ cfu/mL. For fungi, the reduction was $1,40 \times 10^4$ cfu/mL to $1,80 \times 10^1$ cfu/mL. However, the high concentrations found at the beginning and end (Bacteria on average $3,00 \times 10^3$ cfu/g in syrup and $2,26 \times 10^3$ cfu/g in sugar at the dryer. Fungi $3,50 \times 10^1$ cfu/g in syrup and $1,49 \times 10^3$ cfu/mL in sugar at the dryer) of the process are indicative of oversights with asepsis, using the lack of demand for quality VHP sugar. The high concentration of juice at milling showed potential to be related sucrose loss. Finally, assessing the scenario and considering that investment in new equipment is something out of the financial reality of the sugar mill, improving the operations inside and outside the mill to avoid losses is suggested.

Keywords: *Saccharum*; 5-(hydroxymethyl) furfural; Furfural; Sucrose inversion; Mesophilic bacteria; Molds and yeasts

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cana-de-açúcar, variedade IAC86-2480.....	21
Figura 2 - Cadeia produtiva da indústria sucroalcooleira.....	23
Figura 3 - Fluxograma de etapas do processo de fabricação de açúcar.....	25
Figura 4 - Esquema do tratamento de caldo misto para produção de açúcar branco.....	27
Figura 5 - Corpo do evaporador Tipo Robert.....	29
Figura 6 - Relação temperatura e grau de inversão.....	29
Figura 7 - Taxa de crescimento microbiano em função da temperatura. A temperatura ótima (mais rápida reprodução) é equivalente ao topo do pico, a mínima equivale a menor temperatura que o microrganismo pode crescer e a máxima é a maior.....	37
Figura 8 - Esquema de reações de oxido-redução envolvida no método do DNS.....	43
Figura 9 - Diluição seriada das amostras da Usina A até 10^{-3} antes do plaqueamento.....	47
Figura 10 - Esquema de contagem de bactérias mesófilas totais.....	48
Figura 11 - Esquema para contagem de fungos (bolores e leveduras).....	49
Figura 12 - Diferença nos valores de pH retirados de um mesmo local, porém em épocas da safra diferentes.....	51
Figura 13 - Concentrações de AR em setembro (a), outubro (b), novembro (c) e a média do período (d). Etapas com as mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%).....	53
Figura 14 - Crescimento da presença de impurezas associada com o aumento da utilização do corte mecanizado de cana de açúcar.....	55
Figura 15 - Concentrações de sacarose em setembro (a), outubro (b), novembro (c) e a média do período (d). Etapas com as mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%).....	59
Figura 16 - Princípio dos evaporadores de múltiplo-efeito.....	62
Figura 17 - Valores médios da concentração de Furfural (a) e HMF (b) ao longo do processo nos meses de outubro e novembro. Etapas com as mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%).....	65
Figura 18 - Parte das reações de degradação de açúcares que ocorrem ao longo da reação de Maillard.....	67

- Figura 19 - Valores médios da concentração de melanoidinas ao longo do processo nos meses de outubro e novembro. Etapas com as mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%).....69
- Figura 20 - Esquema da reação de Maillard e seu comportamento de acordo com as condições do ambiente.....71
- Figura 21 - População, em log₁₀ de UFC/mL ou UFC/g, de bactérias mesófilas totais ao longo das etapas de extração (moenda), clarificação (decantado), evaporação (xarope) e secagem (açúcar do secador); nos meses de outubro (a) e novembro (b). Etapas com as mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%).....74
- Figura 22 - Número em log₁₀ de UFC/mL ou UFC/g de fungos (bolores e leveduras) ao longo das etapas de extração (moenda), clarificação (decantado), evaporação (xarope) e secagem (açúcar do secador); nos meses de outubro (a) e novembro (b). Etapas com as mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%).....77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição do açúcar no mercado interno brasileiro.....	24
Tabela 2 - Valores de temperatura e concentrações em cada corpo (tipo Robert) do sistema de múltiplos efeitos.....	29
Tabela 3 - Valores de eliminação de 90% (valor D) de <i>Salmonella Senftenberg</i> 775W em função das temperaturas e concentrações de açúcares e glicerol.....	38
Tabela 4 - Concentração de açúcares redutores nos diferentes pontos do processo de fabricação de açúcar.....	52
Tabela 5 - Taxa de inversão de sacarose em função da temperatura.....	58
Tabela 6 - Concentração de sacarose nos diferentes pontos do processo de fabricação de açúcar.....	58
Tabela 7 - Variação na concentração de sacarose entre os corpos do evaporador..	62
Tabela 8 - Razão de inversão ao longo do processo e sua variação em função da etapa anterior.....	64
Tabela 9 - Concentração de furfural e HMF nas diferentes etapas do processo de fabricação de açúcar.....	64
Tabela 10 - Concentrações médias de HMF e furfural e as respectivas correlações com a concentração de açúcares redutores.....	68
Tabela 11 - Concentração de melanoidinas nos diferentes pontos do processo de fabricação de açúcar.....	69
Tabela 12 - Número de unidade formadora de colônias (UFC) de bactérias mesófilas totais encontradas nos pontos do processo.....	73
Tabela 13 - Número de unidade formadora de colônias (UFC) de bolores e leveduras encontradas nos pontos do processo.....	76

1 INTRODUÇÃO

As populações do mundo estão mudando seus hábitos alimentares ao evitar produtos excessivamente processados ou que tenha sofrido a adição de químicos (VERRUMA-BERNARDI et al., 2007). Em seu site oficial, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) destaca que as questões de fitossanidade e sanitária devem estar presente nas negociações agropecuárias internacionais para que sejam atendidas as imposições de qualidade dos consumidores. Um aumento na exigência do consumidor significa um acréscimo nos custos de produção, algo bastante indesejado para o setor sucroenergético, que está em crise e não possui uma perspectiva de melhora a curto prazo. A safra de cana-de-açúcar de 2014 foi comprometida com a ocorrência de uma seca que provocou queda na produtividade de cana-de-açúcar, estima-se que as perdas na moagem da safra 2014/2015 sejam de aproximadamente 30,6 milhões de toneladas, gerando um prejuízo de 3 bilhões de reais ao longo de toda a cadeia (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2014; UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR - UNICA, 2014; NOVACANA.COM, 2015).

A presença de microrganismos é perceptível em toda cadeia produtiva de açúcar desde o cultivo da cana-de-açúcar, processamento e armazenamento. Isso ocorre porque tanto o vegetal como o caldo de cana-de-açúcar são ótimos meios de desenvolvimento para os micro-organismos. Tais problemas impactam nos custos das usinas que devem investir em formas de controlar essa degradação do produto (RAVNÖ; PURCHASE, 2006).

Embora, leveduras, mofos e partes vegetativas de bactérias sejam destruídos em faixas de temperatura a qual o caldo de cana-de-açúcar é submetido no processo – por exemplo, durante o tratamento e evaporação, o caldo chega a mais de 100°C – os problemas com os custos persistem, uma vez que esporos de bactérias sobrevivem, e produtos causados por microrganismos como a dextrana não são eliminadas e a própria temperatura elevada causa inversão (GAVA, 1984; RAVNÖ; PURCHASE, 2006; PACHECO, 2010). As temperaturas elevadas do processo também aumentam a cor do açúcar, diminuindo o valor do produto final. Ela é gerada por polifenóis, reações de aminoácidos com açúcares redutores (reação de Maillard) e caramelização (LOPES, 2008). Ao longo das etapas de fabricação o pH oscila e acaba influenciando nas reações de degradação de sacarose influenciando na

produção de subprodutos, além de possuir papel significativo na presença de microrganismos contaminantes.

Nesse contexto que engloba as dificuldades econômicas do setor sucroenergético brasileiro, aumento de exigência dos consumidores e dificuldades em conter a contaminação microbiológica e a degradação de sacarose, o presente pesquisa teve como objetivo informar as concentrações de alguns compostos oriundos dessa decomposição de sacarose associando como causador não somente as elevadas temperaturas, como outros fatores e medidas utilizadas pela indústria. O trabalho também visou analisar a população de microrganismos presentes nos pontos do processo. Com o conjunto de dados espera-se avaliar alguns procedimentos adotados na indústria e pensar em novas alternativas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma monocotiledônea pertencente à família *Poaceae* (*Gramineae*), gênero *Saccharum*, sendo que os principais cultivares são híbridos derivados em especial da *Saccharum officinarum* e outras espécies, como por exemplo, *S. spontaneum*, *S. sinense*, *S. barbieri*, *S. robustum* e *S. edule*. (CARDOSO, 2001; REIN, 2006; JADOSKI et al., 2010). Seu país de origem é a Nova Guiné e foi levada ao sul da Ásia e utilizada inicialmente como xarope. Existe a suspeita de que a cultura já era explorada antes de seu descobrimento, porém o desenvolvimento ocorreu somente quando surgiram os engenhos e vieram as mudas trazidas por portugueses (MOZAMBINI et al., 2006). No Brasil, ela foi introduzida pelos portugueses no século XVI com o intuito de viabilizarem economicamente a proteção da colônia. A primeira muda foi trazida por Martim Affonso de Souza em 1532 (MACHADO, 2003).

Ela é um vegetal que cresce em forma de touceira, sendo dividida em parte aérea (panícula, ponteiro, folhas e colmo) e subterrânea (raízes e rizoma). O colmo é ereto, cilíndrico, rico em sacarose, fibroso e a propagação é feita vegetativamente através dos colmos com duas ou três gemas. Sendo que não é necessário o seu replantio ao final de todos os ciclo, dada sua capacidade de rebrotar e forma a soqueira, em média no Brasil são realizadas quatro a cinco cortes antes do replantio (GODOY; TOLEDO, 1972; REIN, 2007; WEBER, 2001).

Figura 1 – Cana-de-açúcar, variedade IAC86-2480 (LANDELL et al., 2002)

A cultura sofre uma grande influência das condições climáticas, disponibilidade de água e a forma como foi cultivada. O clima ideal de desenvolvimento da cultura se caracteriza pela grande radiação solar durante o período chuvoso e uma menor intensidade de temperatura e radiação solar na época de seca. As faixas de temperaturas ideais são: germinação (32°C), crescimento (20 a 28°C) e maturação (12 a 20°C) (CASAGRANDE, 1991).

O rendimento da cana-de-açúcar é medido de acordo com sua produção de sacarose (açúcar que pode ser cristalizado e que é o mais consumido), açúcares redutores que compõe o melaço (usado junto do caldo, na fermentação e produção de etanol) e as fibras que são usadas na produção de energia. Dado seu baixo custo de produção energético a partir da biomassa, a geração é maior do que o equivalente de energia fóssil utilizada nessa produção, logo, a cana-de-açúcar possui um balanço energético favorável (TOPPA et al., 2010; WACLAWOVSKY et al., 2010). A cana-de-açúcar ainda é matéria prima para a produção de subprodutos como por exemplo, cachaça, compostos orgânicos, dextrana, xantan, ceras e furfural. Além disso, os resíduos da fabricação de etanol, vinhaça e torta de filtro, são utilizados como fertilizantes (CORTEZ et al., 1992).

2.2 O mercado sucroenergético brasileiro

A Figura 2 representa a cadeia de produção sucroenergética brasileira que envolve desde o plantio da cana-de-açúcar até a introdução dos seus produtos no mercado. Ela se caracteriza pela geração de diversas oportunidades de negócio, como a produção da cana-de-açúcar, transporte, comercialização dos diversos produtos gerados, dos insumos, matéria-prima, pesquisas (campo, indústria, logística), exportação e outros mais. Conclui-se que a modernidade e estruturação envolve a interação desses setores entre si e dos mesmos com o consumidor final (SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS - SEBRAE, 2008; VIDAL, 2006).

A cadeia sucroenergética tem uma enorme importância para economia brasileira. Neves e Trombin (2014) mostraram que a cadeia movimentou durante a safra 2013/2014 mais de US\$ 100 bilhões e o Produto Interno Bruto alcançou US\$ 43 bilhões, o que representa aproximadamente 2,0% do PIB Nacional. A cadeia ainda foi

responsável por 988 mil empregos diretos (considerando os empregos sazonais ao longo da safra) e 3,56 milhões de informais (diretos e indiretos), o que gerou uma massa salarial de US\$4.13 bilhões.

Figura 2 - Cadeia produtiva da indústria sucroalcooleira (SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS - SEBRAE, 2008)

Em 2014, a produção brasileira de cana-de-açúcar foi de 690 milhões de toneladas, com rendimento de 69.552 kg/ha. Isso representa uma queda de 6,7% na quantidade colhida e de 7,5% na produtividade em comparação com 2013. Embora a Região Nordeste obteve um incremento de 1,6% na área plantada, 1,9% na produtividade e 3,5% na produção em comparação com o ano anterior, as quedas nos índices brasileiros se devem aos problemas climáticos enfrentados pela Região Sudeste (dona de 62,8% da cana-de-açúcar produzida no Brasil). A seca e as temperaturas elevadas enfrentadas pelo Centro-Sul causou uma grande queda na produtividade da região (-7,8%), com destaque para São Paulo (-12,1%). E como não houve compensação pelo o preço do açúcar que continuou baixo e o etanol manteve lucratividade limitada dado o aparelhamento do seu valor com o da gasolina, as usinas optaram por não ampliarem a área plantada e a recessão foi confirmada. Consequentemente, deve haver quedas de mais de 30 milhões de toneladas na moagem e a aplicação de menos dinheiro em toda a cadeia (IBGE, 2014; UNICA, 2014).

2.2.1 O mercado do açúcar

As usinas faturaram com o açúcar em duas frentes: mercado interno e exportação. No interno foram vendidos 11,13 milhões de toneladas de açúcar. A Tabela 1 resume os destinos dessa produção. A partir dos valores descritos, estima-se que o faturamento das usinas tenham sido US\$ 5.55 bilhões (NEVES; TROMBINI, 2014).

Tabela 1 - Distribuição do açúcar no mercado interno brasileiro

Destino	Quantidade (milhões de t)	Valor (US\$ / t)	Centro-Sul (%)	Nordeste (%)
Matéria-prima de produtos industrializados.	6,05	424.00	93	7
Atacadista	1,85	548.62	76	24
Varejista	3,23	609.27	72	28
Total	11,13		84	16

O Brasil lidera o ranking mundial de exportadores de açúcar, sendo responsável por cerca de 50% do montante comercializado. Foram exportados 26,63 milhões de toneladas de açúcar na safra de 2013/2014, sendo a China o maior comprador (13% do produto comercializado) e o faturamento total nas exportações de US\$11.11 bilhões. O país asiático ao lado de Argélia, Emirados Árabes Unidos, Bangladesh, Rússia, Nigéria, Malásia e Indonésia foram destino de quase 50% do açúcar brasileiro (NEVES; TROMBINI, 2014).

2.3 Processo de produção de açúcar

A Figura 3 resume a produção de açúcar bruto, possui o plantio e a colheita da planta cana-de-açúcar, extração e peneiramento do caldo, remoção de impurezas que gerem cor, evaporação da água do caldo, transformando-o em xarope, geração de cristais de açúcar com o mel através do cozimento, cristalização, turbinagem, secagem e ensacamento (SARTORI, 2013).

Figura 3 - Fluxograma de etapas do processo de fabricação de açúcar (SARTORI, 2013)

2.3.1 Preparo da cana-de-açúcar e extração do caldo

A cana-de-açúcar colhida manualmente ao entrar na usina são descarregadas por hilos mecânicos ou pontes rolantes nos pátios de armazenamento ou diretamente as mesas alimentadores, onde são lavadas a seco ou com água, a qual é reutilizada. Entretanto a cana picada não tem sido lavada dada à elevada possibilidade de perda de açúcar durante o processo. Após passagem na esteira metálica, o material passa pelo picador e desfibrador para que as células fiquem expostas e aumente a eficiência da extração (REIN, 2007).

Após a preparação, a cana-de-açúcar é encaminhada para a extração que pode ser feita pela moenda ou difusor. O objetivo dessa etapa é separar a sacarose contida do caldo das outras partes da cana. Nas moendas, a matéria-prima passa por um conjunto de quatro rolos, sendo lavada e esmagada e produzindo não apenas o caldo como também um bagaço com o mínimo de umidade possível (BURGI,

1995; PEREIRA, 2006; NAZATO et al., 2011). Nos difusores, um líquido percola através de uma camada de cana-de-açúcar extraindo a sacarose (REIN, 2007).

Uma vez extraído, o caldo possui dois destinos a produção de etanol ou açúcar. Enquanto que o bagaço é encaminhado para as caldeiras. Ao longo dessa etapa não existe aplicação de temperaturas elevadas, uma vez que é um processo mecânico (REIN, 2007).

2.3.2 Tratamento do caldo

O tratamento do caldo consiste em retirar as impurezas sólidas (por exemplo, ponteiros) e coloidais (ceras, proteínas) do caldo de cana-de-açúcar através das da peneiragem e clarificação, respectivamente. Assim, a etapa visa produzir um caldo com a menor quantidade possível de turbidez, cor e teor de cal, evitando valores de pH e temperaturas extremos que causem a inversão ou reações de degradação de sacarose (reações de Maillard e caramelização) (MARQUES et al., 2001; DAL-BEM et al., 2006; REIN, 2007). A Figura 4 ilustra as etapas do tratamento com a utilização de sulfitação.

Após a extração, a primeira etapa da clarificação é a peneiragem. Geralmente, as usinas de açúcar utilizam três tipos de peneiras, *cush-cush*, *DSM* e rotativas e é comum a associação de mais de um tipo. Em seguida, o bagacilho retido retorna às moendas ou difusores para recuperação do açúcar retido e o caldo segue para a clarificação. Tratamentos que envolvem o uso do cal em água (leite de cal - Ca(OH)_2) são os mais amplamente aplicados (defecação). Geralmente, eles são associados com a sulfitação (adição de SO_2) e a fosfatação quando há o interesse na produção de um açúcar de melhor qualidade, uma vez que o sistema simples possui pequeno poder de remoção de impurezas, embora cause impacto positivo na turbidez (VAN DER POEL et al., 1998; REIN, 2007).

A etapa seguinte à adição de cal é o aquecimento pouco acima do ponto de ebulição (103 a 105°C) para desnaturar proteínas, expulsar gases dissolvidos, aumentar a velocidade de floculação e diminuir a viscosidade do meio, aumentando a velocidade de decantação. O caldo é então flasheado em um tanque flash, dessa forma a temperatura do caldo é sempre constante e os gases dissolvidos no mesmo é removido. No processo nenhum ar aprisionado nas partículas do bagaço ou bagacilho escapam, permitindo que essas partículas não passem para a etapa

seguinte. A temperatura durante essa parte do processo mantém-se próxima dos 105°C, pois podem levar a um flash excessivo que causa perdas de açúcar e desperdício de vapor (MEADE; CHEN, 1977; REIN, 2007; ROZA, 2008).

Por fim, o caldo será colocado em repouso em decantadores, enquanto que as impurezas serão removidas por floculação sedimentação e flotação dos colóides menos densos através da separação gravimétrica e obtendo-se uma mistura heterogênea de três fases, onde a fase superior compreende as impurezas menos densas (flotadas), a intermediária o caldo clarificado e a inferior as impurezas mais densas (decantadas) (MARQUES et al., 2001). O lodo oriundo dos decantadores são filtrados para recuperação do açúcar (cerca de 2% da sacarose da cana moída). Ao final do processo, o caldo extraído do lodo retorna ao decantadores, devido à sua maior contaminação. O lodo filtrado, denominado de torta de filtro, consiste num adubo orgânico que é enviado à lavoura (REIN, 2007).

Figura 4 - Esquema do tratamento de caldo misto para produção de açúcar branco (REIN, 2007)

2.3.3 Evaporação

Após o tratamento do caldo, ocorre a evaporação que é a eliminação de 75% da água e concentração da sacarose contida no caldo. Saindo assim de aproximadamente 15° Brix para 90° Brix. Esse processo envolve duas etapas. Na primeira, o caldo clarificado (15° Brix) passa pelos evaporadores até a formação do xarope (55 a 65° Brix) que é um líquido denso e coloração marrom, porém sem que haja cristalização. Em seguida, a cristalização ocorre a transformação do xarope em massa cozida que é um material com 90° Brix composto por cristais de sacarose e mel (VAN DER POEL et al., 1998).

Ao longo da passagem pelos evaporadores, acontece a remoção de cerca de 90% da água do caldo clarificado; aumentando a concentração de sólidos. Os evaporadores tipo Robert (Figura 5) são os mais utilizados no setor e estão dispostos em sistemas de cinco (ou múltiplos) efeitos em correntes paralelas. Esses modelos são simples, robustos e fáceis de operar. Cada efeito ou corpo consiste em um evaporador Roberts, todos com as mesmas dimensões, exceto o primeiro efeito que é chamado de pré-evaporador e possui o dobro da área de troca. Durante o processo, tanto o caldo quanto o vapor são alimentados no pré-evaporador, seguindo paralelos através do primeiro até o quinto ou último efeito (MEADE; CHEN, 1977; EGGLESTON; MONGE, 2005; ENSINAS et al., 2007; PACHECO, 2010). Após a alimentação, o caldo circula no sentido ascendente pelos feixes de tubo e descendem pelo tubo central. Durante o intervalo, ele perde água via evaporação. A energia necessária vem da condensação do vapor d'água nas partes externas dos tubos de circulação do caldo (VAN DER POEL et al., 1998). A temperatura da parede interna do tubo geralmente é significativamente superior ao do caldo, graças à grande resistência térmica da solução, podendo ocorrer inversão de sacarose (Figura 6). A Tabela 2 descreve valores de temperatura e concentração a qual o caldo é submetido durante a evaporação.

Um dos problemas operacionais dos evaporadores Robert é a necessidade periódica de limpeza devido acúmulo de calcário ou incrustação, que são referentes a presença de não-açúcares. O último efeito possui um destaque negativo, pois neles os íons inorgânicos tornam-se supersaturados e precipitam na

superfície de aquecimento. A limpeza pode chegar a 10 dias (EGGLESTON; MONGE, 2005).

Ao sair dos evaporadores, o xarope é direcionado aos cozedores. Na primeira fase, acontece a nucleação e são formados os cristais de sacarose. Por fim, ocorre a deposição de sacarose nos núcleos recém formados e assim os cristais crescem de tamanho. Quanto maior o brix da massa cozida ao longo da etapa, mais viscoso ele ficará, indicando a passagem da fase líquida para a sólida em forma de cristais. Os cozedores trabalham com alto vácuo e baixa temperatura, logo são amenizados os problemas com a degradação de sacarose por inversão e também a formação de cor (REIN, 2007).

Tabela 2 – Valores de temperatura e concentrações em cada corpo (tipo Robert) do sistema de múltiplos efeitos (ENSINAS et al., 2007)

Variável	Corpos				
	1	2	3	4	5
Temperatura de ebulição da solução (°C)	118,0	118,2	105,1	83,10	63,60
Concentração da solução na saída (°Brix)	18,0	24,5	32,7	44,0	58,9

Figura 5 – Corpo do evaporador Tipo Robert (HUGOT, 1986)

Figura 6 - Relação temperatura e grau de inversão (PACHECO, 2010)

2.3.4 Centrifugação, secagem e armazenamento

Após o cozimento, a massa cozida é direcionada as centrífugas para separação dos cristais de sacarose. Existem dois tipos de centrífugas utilizadas no processo, os equipamentos contínuos e os em batelada. O primeiro são mais baratos e simples de usar, todavia levam a quebra de cristais e seu uso torna-se restrito dependendo do produto final. Em um primeiro momento, o mel em excesso é removido para se criar espaços entre os cristais, na sequência acontece a redução do filme de mel ao redor dos cristais. O material é então encaminhado aos secadores, os açúcares de baixo grau retornam diretamente ou diluídas em caldo ou água como semente nos cozedores (VAN DER POEL et al., 1998).

A secagem é a última operação do processo de produção do açúcar bruto. A secagem tem como objetivo principal a retirada da umidade e assim atingir características de manuseamento (evitar o empedramento), atender as exigências do mercado, evitar ganho de cor e contaminação microbiológica. Por fim, o açúcar é ensacado e mantido em armazéns. Os locais devem contar temperaturas de até 38°C, proteção contra umidade (em especial na parte inferior dos sacos), evitar ao máximo contato entre o ambiente externo e o açúcar (REIN, 2007).

2.4 Degradação térmica de sacarose

Woo et al. (2009) citam que existem duas principais reações de degradação térmica de sacarose: (1) reações de Maillard que acontecem quando há o aquecimento na presença de compostos nitrogenados e (2) caramelização que sofre grande influência do pH e concentração de sacarose e ocorre em altas temperaturas. Ambos processos são visualizados na fabricação do açúcar devido as aplicações de temperatura acima de 100°C e dada a presença de nitrogênio no caldo de cana-de-açúcar (STUPIELLO, 1987). Ambos mesmo não sendo aplicados diretamente no produto final, são capazes de comprometer a qualidade e a quantidade do açúcar.

Woo et al. (2009) também mostraram os impactos do tratamento térmico na degradação de sacarose ao trabalharem com um sistema modelo, os autores mostraram que o conteúdo de sacarose decresceu significativamente quando aquecido por 110 a 120°C por 1 a 5 horas. Inicialmente, a degradação de sacarose resulta na formação de glicose e frutose. O grau de inversão de sacarose (% de

açúcares reduzidos/% de sacarose) é um fator de preocupação para os operadores dos evaporadores, pois é causador de perdas de sacarose no processo, além de alterar as colorações desejadas do produto, causando um aumento dos custos de operação (PACHECO, 2010). Outros problemas são citados por Yu et al. (2011) ao comentarem sobre (1) a autocatálise da sacarose ao ficarem em contato com ácido carboxílico, que é um produto da degradação de açúcares invertidos. Esses ácidos abaixam o pH da solução de açúcar e causam mais conversões da sacarose em glicose e frutose. (2) As inversões no açúcar bruto e no refinado aumentam a possibilidade de solidificação durante o estoque, particularmente quando há frutose, pois ela é hidratada facilmente e a aglutinação do açúcar é causada pela migração de umidade; além disso, (3) pequenas quantidades de açúcares invertidos, particularmente na superfície do cristal afetam a fluidez do açúcar cristal, assim como das características de manuseio do açúcar.

Ao longo da reação de Maillard, os açúcares redutores formam produtos como o furfural, 5-hidroximetilfurfural (HMF) (originado em especial da frutose), ácido fórmico, ácido láctico e ácido levulínico (WOO et al., 2009). De acordo com Martins et al. (2001) e Kabel et al. (2007), os ácidos fórmicos e acético são os principais produtos de degradação em pH baixo. Huang et al. (2011), complementa a informação citando que o ácido fórmico é originado da frutose e o acético da glicose. O tratamento térmico de alimentos ainda pode estar relacionada com a formação de substâncias tóxicas para os seres humanos como a acrilamida, furano e acroleína (VAN BOEKEL et al., 2010). O produto final das reações de Maillard são as melanoidinas. Até o momento, esses compostos não possuem sua estrutura molecular totalmente definida, porém é consenso que elas são aniônicas, de cor castanha, com alto peso molecular e contém nitrogênio. Além disso, sua composição dependerá das condições a qual o açúcar esteve submetido. Os principais parâmetros de influência são temperatura de aquecimento, pH, atividade de água e complexidade dos reagentes (tipos dos aminoácidos e açúcares) (LANGNER; RZESKI, 2014).

Egglestone e Monge (2005) realizaram um estudo de caso que contabilizou as perdas de sacarose ocorridas em uma indústria localizada em Louisiana, Estados Unidos da América. No trabalho foi discutido a importância do pH na degradação térmica de sacarose. Quando o pH medido do xarope foi de 5,9, houve uma perda média de 0,55% de sacarose e US\$ 390.400,00, enquanto que quando o caldo clarificado entrou com um pH em torno de 7,1 e 7,3 e o xarope sai com 6,5, a

degradação de sacarose diminuiu 0,36% e as despesas US\$ 131.100,00. Os autores ainda correlacionam positivamente a degradação e a entrada de impurezas ao citarem que no início e final da safra, períodos em que a cana-de-açúcar chega com menor qualidade à indústria, as taxas de perdas são maiores.

2.5 Contaminantes microbianos no processo de fabricação de açúcar e produto final

A cana-de-açúcar é um ótimo meio de cultura para micro-organismos. O vegetal possui alta concentração de nutrientes e pH adequado, além disso estando no campo as condições ambientais de temperatura e umidade também são favoráveis (GALLO, 1990).

Por exemplo, normalmente a contaminação por *Lactobacillus* e outras bactérias produtoras de ácido láctico ocorrem ainda no campo como mostrado por Maciel (2001) que detectou a presença na bainha, na superfície do colmo e no solo. Tais microrganismos são nocivos e podem causar perdas de aproximadamente 4,75% de sacarose recuperável por dia entre o corte e o processamento (VALSECHI, 2005). Outro microrganismo que inicia a contaminação no campo e também gera perdas aproximadas de 4,8% de sacarose recuperável por dia é o *Leuconostoc mesenteroides*. Essas bactérias invadem o vegetal através das lesões, rachaduras e partes segmentadas do colmo, sendo o mínimo contato com o solo o suficiente para que haja a contaminação. Elas produzem uma goma chamada dextrana, que pode gerar o entupimento de peneiras e tubulações; e o aumento da viscosidade do mel, dificultando a cristalização, consequentemente acarretando em um aumento de custos dado o tempo perdido no controle do problema, desperdício de vapor e a necessidade de aquisição de enzimas. O *L. mesenteroides* ainda consomem sacarose e produzem frutose e ácidos orgânicos, consequentemente o pH cai e a taxa de inversão (produção de glicose e frutose a partir de sacarose) aumenta (LOPES; BORGES, 1998; TILBURY, 1975). As *Acetobacter* também chegam com a cana-de-açúcar na indústria e influenciam negativamente, afetando o caldo principalmente na moenda e nas peneiras de bagacilho (FIGUEIREDO et al., 2008).

No produto final, as contaminações estão mais relacionadas com a atividade de água do produto (ou seja, a quantidade disponível de água para a contaminação de deterioração de um alimento) do que com a umidade (DITCHFIELD,

2000). Como geralmente o açúcar possui um valor baixo nesse atributo, ele é considerado um produto alimentício microbiologicamente estável, sendo que os contaminantes relacionadas são bactérias termófilas, leveduras e fungos. As bactérias termófilas são bons medidores da eficiência do processo de tratamento do caldo e da higiene nas usinas (PARAZZI et al., 2009).

Alguns órgãos determinam os números máximos de microrganismos no açúcar. A legislação determina a ausência de sujidades, parasitas e larvas de insetos e seu fragmentos, em açúcar, rapadura e melado (MINGUETTI, 2012).

A Cooperativa de Produtores de Cana-de-Açúcar, Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo - COPERSUCAR (2001) e outros órgãos oficiais estabeleceram que o limite máximo e tolerância para açúcar cristal não refinado, mascavo, demerara, melaço, rapadura e similares são de 10^2 UFC/g para bolores e leveduras. A International Commision on Microbiological Specifications for Foods - ICSMF (1986) relata que existe um padrão internacional de 5 esporos/10 g de produto para as bactérias de deterioração sulfídrica (*Desulfotomaculum nigrificans*). No caso de bactérias produtoras de “flat sour” (*Bacillus stearothermophilus* e *Bacillus coagulans*) e bactérias aeróbias mesófilas não há um padrão microbiológico para a contagem, apesar de se desenvolverem durante a extração e refino do açúcar e/ou serem capazes de contaminar o produto já processado (ICMSF, 2005).

Algumas usinas, baseando-se no Codex Alimentarius e na Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária nº12 de 02/11/2001, adotaram de forma não oficial os limites máximos para os açúcares branco cristal tipo 1, 2, 3 e 4, além do VHP. Os micro-organismos avaliados foram: bactérias termófilas não produtoras de H_2S , bactérias termófilas produtoras de H_2S , bactérias termófilas produtoras de flat-sour, mesófilas aeróbias totais, leveduras e bolores, coliformes, *Salmonella spp.*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*. Os açúcares branco tipo 1, 2 e 3 possuem as mesmas especificações (ALTO ALEGRE, 2014):

- Ausência de coliformes, *Salmonella spp.* e *Bacillus cereus*;
- Máximo de 10^3 UFC/g de *Staphylococcus aureus*;
- 50 UFC/g de bactérias mesófilas totais e fungos (bolores e leveduras);
- 50 esporos/g de termófilas produtoras de flat-sour;
- 5 esporos/10g de termófilas produtoras de H_2S ;
- 3 tubos positivos de termófilas não produtoras de H_2S .

Para o açúcar cristal branco tipo 4 as especificações adotadas são semelhantes, mudando somente a que o limite de tubos positivos de termófilas não produtoras de H₂S são 4. Já para o açúcar VHP não se aplica limite em nenhum dos contaminantes relacionados AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 2001; ALTO ALEGRE, 2014).

O Inmetro seguindo as diretrizes de seus programas avaliou a tendência de nove marcas de açúcar refinado tradicionais e com grande participação no mercado. Os ensaios consideraram os seguintes parâmetros: máximo de 10³/g de bolores e leveduras e ausência de 25g para *Salmonella* (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA - INMETRO, 1999).

Para o açúcar mascavo, o único microrganismo com o limite máximo estabelecido (10² UFC/g) pela legislação brasileira é o coliforme total (ANVISA, 2001). A *National Food Canners and Processors* estabelece que o limite de microrganismo presente no açúcar mascavo é de 50 UFC/g para bolores, leveduras e bactérias mesófilas e 5 esporos/grama de termófilas “flat-sour”. Todavia o açúcar mascavo devido a forma como é armazenado pode estar susceptível a outras contaminações como mostra Singh et al. (2009). Os autores levantaram a presença dos gêneros: *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Enterococcus*, *Alcaligenes*, *Corynebacterium*, *Bordetella* e *Alteromonas*. O inconveniente de tais contaminações é que alguns grupos causam problemas à saúde humana e são resistente aos antibióticos.

Os conceitos de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e Boas Prática de Fabricação (BPF) são fundamentais para que o processo de produção se mantenha em alto nível e não haja contaminação do produto (OLIVEIRA et al., 2007).

2.5.1 Bolores e leveduras

Os fungos são eucariotos pertencentes ao reino fungi, utilizam compostos orgânicos como fonte de carbono (químio-heterotróficos), absorvem os alimentos, não forma embriões e podem produzir esporos sexuais e assexuais. Sua membrana celular possuem esteróis, com a parede celular composta por glicanas, mananas e quitina, e podem ser aeróbicos ou anaeróbicos facultativos (TORTORA et al., 2012).

Os bolores são formadores de hifas que são filamentos que podem crescer em tamanhos enormes. Elas podem possuir paredes cruzadas chamadas de septos (hifas septadas), ou ser contínua (cenocíticas). Havendo condições para o desenvolvimento o conjunto de hifas é chamado de micélio, podendo ser visível a olho nu e, por isso, podem ser utilizadas como forma de identificação do microrganismo. O micélio pode ser a estrutura de reprodução ou auxiliar na fixação em alimentos. Bolores podem reproduzir-se assexuadamente ou sexualmente e são em sua grande maioria aeróbios (FRANCO; LANDGRAF, 2006; TORTORA et al., 2012).

Dada as características fisiológicas, são menos exigentes que bactérias e leveduras quanto as condições de temperatura, pH, umidade e disponibilidade de nutrientes (FRANCO; LANDGRAF 2006). Os exemplos de maior importância para os alimentos são Zygomycotas, Ascomycotas e Deuteromycotas. Os Zygomycotas possuem micélio não septado, reprodução por esporangióforos e crescimento rápido. Ascomycotas possuem micélio septados e produzem ascósporos, alguns com notada resistência térmica. Deuteromycota, também conhecido como fungos “imperfeitos” por não serem conhecidas os seus estados perfeitos, possuem hifas que dão origem a conídios (JAY, 2005). Contaminações com bolores estão relacionadas com problemas no armazenamento e conservação (INMETRO, 1999).

Já as leveduras são unicelulares e em sua maioria não-filamentosos. Leveduras que estão na transição entre leveduras unicelulares e fungos filamentosos possuem estruturas alongadas semelhantes a filamentos que formam pseudo-micélios ou micélios verdadeiros caso as células permaneçam unidas após a divisão celular. São normalmente ovais ou esféricos, porém existindo exemplos de alongados e elipíticos (JAY, 2005; FRANCO; LANDGRAF, 2006). Elas possuem duas principais formas de reprodução, por brotamento e fissão binária (TORTORA et al., 2012).

Elas possuem a capacidade de utilizar o oxigênio ou um composto orgânico como aceptor final de elétrons e, por isso, são anaeróbicas facultativas, elas ainda podem metabolizar açúcares (preferidos), álcool e ácidos orgânicos. Essa característica lhes fornecem uma versatilidade nos ambientes de sobrevivência. As leveduras ainda são encontradas em uma abrangente faixa de pH ácido, estando presente no meio com até 18% de etanol e 55 a 60% de sacarose (JAY, 2005; FRANCO; LANDGRAF, 2006; TORTORA et al., 2012). As leveduras de interesse para os alimentos exigem menos umidade que a maioria das bactérias e mais do que boa parte dos bolores. A temperatura ideal está entre 25 e 30°C e o pH ácido favorece os

seus desenvolvimento. Alguns exemplos gêneros de notada importância são: *Picchia*, *Candida* e *Saccharomyces*.

2.5.2 Bactérias mesófilas

As bactérias são células procarióticas, que não possuem esteróis em sua membrana celular (com exceção do *Mycoplasma*), a parede celular é formada por peptidoglicano, produzem endósporos (não para a reprodução) e alguns esporos assexuais reprodutivos e seu metabolismo abrange os aeróbicos, anaeróbicos, anaeróbicos facultativos; autotróficos, fotoautotróficos e heterotróficos (TORTORA et al., 2012).

Dentre as classificações dos microrganismos quanto a temperatura de melhor desenvolvimento, as mesófilas são as bactérias que crescem em temperatura moderadas, entre 25 e 40°C (TORTORA et al., 2012).

A presença de bactérias mesófilas nos alimentos está relacionado com as condições sanitárias a qual ele foi processado. Havendo ou não alterações nas características organolépticas, um alto número desses microrganismos são indícios de que ele ou as matérias-primas para a produção estiveram expostos a condições de insalubridade e o binômio tempo/temperatura favoreceu a contaminação. Um sério problema é que a grande maioria das bactérias deteriorante e causadoras de doenças aos homens são mesófilas, dada a temperatura ambiente ser favorável ao desenvolvimento (Figura 7) (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

Linhagens mesófilas estão presentes em diversos gêneros de bactérias, logo sua diversidade de alimentos possíveis de serem contaminados torna-se maior. Destaca-se que mesmo em temperaturas de refrigeração, embora não consigam crescer é possível notar a presença das mesófilas. Um exemplo de contaminação por esses microrganismos é citado pela EMBRAPA, onde nota-se no processamento de leite que há ineficiência na refrigeração e limpeza, a presença de bactérias dos grupos *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* e *Coliformes* capazes de fermentarem a lactose e produzirem ácidos orgânicos e assim deteriorando o valor do produto (JAY, 2005; EMBRAPA, [s.d]).

Figura 7 - Taxa de crescimento microbiano em função da temperatura. A temperatura ótima (mais rápida reprodução) é equivalente ao topo do pico, a mínima equivale a menor temperatura que o microrganismo pode crescer e a máxima é a maior (TORTORA et al., 2012)

2.5.3 Influência da temperatura nos contaminantes microbianos

A temperatura influencia a velocidade das reações químicas sintetizadas pelos microrganismos. Baixas temperaturas tornam o movimento das moléculas lentas e consequentemente sem energia suficiente para ação do metabolismo. Por outro lado, um fornecimento de calor acima da temperatura ótima acarreta em uma redução extrema nas reações. Esse processo provoca a quebra de ligações não covalentes e pontes de hidrogênio na estrutura terciária da proteína, assim ocorre uma mudança no arranjo dos aminoácidos no sítio ativo, inativando a atividade catalítica. A desnaturação pode ser reversível parcialmente ou totalmente, todavia o processo é irreversível havendo a coagulação e perda de sensibilidade (TORTORA et al., 2012).

Baseado nesse princípio, surge a conservação de alimentos por altas temperaturas que são aquelas acima da temperatura ambiente. A pasteurização (destruição dos microrganismos causadores de doenças) e a esterilização (eliminação de todos os microrganismos viáveis) são as categorias comumente utilizadas para os alimentos. O binômio tempo/temperatura utilizado na pasteurização é o suficiente para eliminar todas as bactérias gram-negativas, muitas bactérias gram-positivas, todos os bolores e leveduras. Os microrganismos que resistem a esse processo são os termodúricos (sobrevivem, mas não se desenvolvem) e os termófilos (sobrevivem e se reproduzem nas condições, por exemplo *Bacillus* e *Clostridium*) (JAY, 2005).

Existem fatores que afetam a resistência dos microrganismos ao calor. Dentre os principais estão a água, sais, carboidratos, pH, proteínas, quantidade e idade dos organismos, temperaturas de crescimento, compostos inibidores e o tempo (JAY, 2005).

Em relação a água, quanto maior a atividade de água no local, menor será a quantidade de energia necessária na quebra térmica das ligações peptídicas. A influência dos outros atributos na atividade de água irá definir o aumento ou perda de resistência ao calor. Alguns sais aumentam (exemplo, glutamato) a atividade de água e outros diminuem (CaCl_2) (JAY, 2005). Os carboidratos, as proteínas e outras partículas coloidais também influenciam na atividade de água e geralmente, quanto maior a presença deles, maior será a resistência dos microrganismos. Trabalhando com *Salmonella*, JAY (2005) estabeleceu a seguinte ordem de estímulo de resistência ao calor: sacarose, glicose e glicerol (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores de eliminação de 90% (valor D) de *Salmonella* Senftenberg 775W em função das temperaturas e concentrações de açúcares e glicerol (JAY, 2005)

Temperatura (°C)	Valores D	Condições
65	0,8 min	30% de sacarose
65	43,0 min	70% de sacarose
65	2,0 min	30% de glicose
65	17,0 min	70% de glicose
65	0,95 min	30% de glicerol
65	0,70 min	70% de glicerol

Microrganismo são mais tolerantes quando o meio está com seu pH e temperatura de crescimento ótimos de desenvolvimento. A medida que as condições fogem desse ponto na solução, a temperatura aumenta sua efetividade. Baseado nessas relações abaixo são feitas algumas comparações entre microrganismos:

- Termófilos > mesófilos > psicrófilos.
- Formadores de esporos termofílicos > formadores de esporos mesofílicos > não formadores de esporos.
- Gram-positivas > gram-negativas.
- Cocos formadores de esporos > bastonetes não-formadores.
- Ascósporos de leveduras > leveduras vegetativas.
- Esporos de fungos > micélio de fungos (JAY, 2005).

Outra forma de resistência vista em microrganismo é na quantidade de células expostas ao calor. Quanto maior, menor a influência. Relaciona-se esse fato

com a maior produção de proteínas e outros compostos protetores. Em termos de população, a presença de indivíduos com diferentes graus de resistência fornecerão benefícios as populações. A idade das populações possui uma relação complexa com a resistência e ainda não muito bem definida. Estudos apontaram que a resistência de populações na fase estacionária e lag é muito superior a fase log. O mesmo foi observado com os esporos (JAY, 2005).

Por fim, a presença de compostos inibidores também atuam maximizando o efeito da temperatura. Antibióticos resistentes ao calor quando inclusos em tratamento térmico diminuem o tempo de exposição necessário para esterilização ou pasteurização (JAY, 2005).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Para as análises química foram utilizados os seguintes reagentes e soluções: Acetonitrila (Tédia – Pureza: Grau HPLC), Ácido 3,5 Dinitrosalicílico P.A. (Vetec), Ácido Acético (Sigma/Aldrich, Pureza: $\geq 99\%$), Ácido Clorídrico 0,1 mol/L (Merck), Bicarbonato de Sódio P.A. A.C.S. (Synth), D-Fructose P.A. (Synth), Furfural (Merck, Pureza: $\geq 99\%$), Glicina (Sigma/Aldrich, Pureza $\geq 99\%$), D-Glicose Anidra P.A. (Synth), Hidróxido de Sódio 0,1 N (Reagex), Hidroximetilfurfural (Sigma/Aldrich, Pureza: $\geq 99\%$), Sacarose (Sigma/Aldrich – pureza: Grau HPLC), Sacarose P.A. A.C.S. (Synth), Tartarato de Sódio e Potássio P.A. A.C.S. (Synth).

Para as análise microbiológicas os reagentes foram: Ácido Tartárico P.A. A.C.S. (Synth), Batata Dextrose Ágar (Fluka), Cloreto de Sódio P.A. A.C.S. (Synth), Plate Count Ágar (Difco).

3.2 Obtenção dos pontos do processo

Foram coletadas amostras em um usina de açúcar e etanol da região de Piracicaba-SP (Usina A) nos meses de setembro, outubro e novembro de 2014, abrangendo os últimos três meses de safra. Abaixo são listados os locais e matérias coletados disponibilizados pela usina:

- Caldo de cana-de-açúcar da moenda;
- Caldo de cana-de-açúcar após caleagem;
- Caldo de cana-de-açúcar no decantador;
- Lodo do decantador;
- Caldo de cana-de-açúcar clarificado (após o tratamento do caldo);
- Caldo de cana-de-açúcar entre o 1º e 2º efeito do evaporador;
- Caldo de cana-de-açúcar entre o 2º e 3º efeito do evaporador;
- Xarope entre o 3º e 4º efeito do evaporador;
- Xarope antes da entrada no cozedor;
- Massa cozida retirada do cozedor;
- Açúcar da centrífuga;

- Açúcar do secador.

As coletas foram realizadas com auxílio do operador responsável pelo processo de fabricação do açúcar e os materiais acondicionados em frascos de vidro de 1 L e imediatamente colocados em isopor e gelo (temperatura $10\pm 2^{\circ}\text{C}$). Dada a distância entre a indústria e o laboratório, eles foram colocados em freezer a -20°C após 1 hora. No caso dos caldos da moenda e caleados, eles foram filtrados com uso de algodão estéril antes do congelamento. A etapa visou retirar bagacilho e outras impurezas presentes na amostra que poderiam causar contaminação.

3.3 Caracterização química das amostras

Foram realizadas análises de Brix (% de sólidos solúveis total), açúcares redutores (AR – glicose e frutose), quantificação de sacarose, 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), furfural e melanoidinas.

3.3.1 Brix

O Brix foi quantificado utilizando o refratômetro de bancada Bellingham + Stanley Ltd. Série RFM700. A calibração foi com água destilada.

3.3.2 Açúcares redutores – glicose e frutose

Na determinação de açúcares redutores, foi utilizado o método colorimétrico do 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959). Os testes colorimétricos de açúcares baseiam-se em reações de óxido-redução do grupo hidroxílico hemiacetálico dos monossacarídeos e consequente formação de complexos coloridos. O teste de DNS consiste na redução do composto amarelado ácido 3,5-dinitrosalicílico em uma molécula avermelhada, ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, consequentemente há a oxidação da glicose e frutose (Figura 8) (MALDONADE et al., 2013).

Para o preparo do reagente DNS, diluiu-se 1,0 g de ácido 3,5 – Dinitrosalicílico com 50 mL de água destilada. Aos poucos foram adicionados 100 mL de hidróxido de sódio 4N até completa dissolução. Em seguida, foram adicionados 30

g de tartarato duplo de sódio e potássio. Por fim, o material foi transferido para balão de 100 mL e diluído com água destilada.

Na determinação da concentração de AR, inicialmente, as amostras foram diluídas baseados em seu brix ou no caso dos açúcares considerando uma proporção pequena de açúcares redutores presentes no produto final dada a não capacidade de cristalização dos mesmos. Assim, 1,0 mL dessa solução foi colocada em tubo de ensaio, em seguida houve a adição de 1,0 mL do reagente DNS. A etapa posterior foi aquecer os tubos em banho-maria com a água em ebulição por 5 minutos, retirá-los e resfriá-los em banho de gelo e, por fim, realizar leitura em espectrofotômetro (absorbância de 540 nm). As concentrações de AR foram adquiridas comparando os valores obtidos com a curva padrão realizada previamente com soluções de glicose e frutose P.A.

Figura 8 - Esquema de reações de oxido-redução envolvida no método do DNS (MALDONADE et al., 2013)

3.3.2 Sacarose

Os perfis de açúcares foram de acordo com metodologia descrita por Agblevor et al. (2007). A metodologia envolveu a utilização de cromatógrafo líquido ultra rápido com detector de espalhamento de luz evaporativo a baixa temperatura (UFLC/ELSD-LT). Como fase móvel foi utilizado uma solução mista de acetonitrila/água milliQ na proporção de 70:30 (v/v), previamente filtrada contra membranas Millipore de 0,45 µm. As amostras foram diluídas de acordo com o brix ou no caso dos açúcares e massa cozida em 100 vezes (m/v) em água MilliQ. Uma vez diluídas, elas também passaram pelo mesmo processo de filtragem. A coluna foi a amino (Shodex NH₂P-50 4E). As condições de trabalho foram:

- Temperatura de termostatização da coluna: 30°C,
- Fluxo de 1,0 mL/min da fase móvel,
- Volume de amostra coletada de 20 µL.
- Temperatura do detector 40°C,
- Gás de nebulização foi o nitrogênio com uma pressão no detector de 350 kPa,
- Ganho do detector 3.

Cada análise foi executada em triplicata e comparada com curvas de calibração (0,1 a 0,5 g/L). O reagente utilizado para montagem da curva foi sacarose com pureza ≥ 99,5% (Sigma/Aldrich). Os caldos foram diluídos 20 vezes, enquanto que o xarope 50 vezes e os açúcares 100 vezes. O lodo foi centrifugado por 15 minutos em uma rotação de 5.000 rpm e assim o sobrenadante foi diluído 10 vezes e analisado no equipamento.

3.3.3 Furfural e 5-Hidroximetilfurfural

Para o furfural e 5-HMF, a metodologia utilizada foi a elaborada por ROCHA et al. (1997). O equipamento também foi o UFLC, porém com o detector Diode Array Detector (DAD) (Projeto Bioen-FAPESP; Processo FAPESP#2008/56146-5) acoplado e processando os resultados. A coluna utilizada foi a Shim-pack VP-ODS (5 µm) de 250 x 4,6 mm, sendo acetonitrila/água 1:8 (v/v) com 1% de ácido acético previamente filtrado em membranas de Millipore de 0,45 µm utilizada como fase móvel. Nessa etapa, somente o caldo decantado, xarope e os açúcares foram

analizados e a diluição foi de 20 vezes para o caldo decantado e 50 vezes para o xarope, açúcares da centrifuga e secador.

- Temperatura de termoeestatização da coluna: 25°C,
- Fluxo de 0,8 mL/min da fase móvel,
- Volume de amostra coletada de: 50 µL.

Os compostos foram detectados em comprimento de onda de 275 nm no caso do furfural e 285 do 5-HMF. As concentrações foram determinados com o auxílio de curvas de calibração dos dois compostos puros.

3.3.4 Melanoidinas

As melanoidinas foram calculadas conforme metodologia proposta por Tehrani et al. (2002) e Erazo (2012). Inicialmente, foi preparada a curva de calibração utilizando uma solução padrão dissolvendo 4,55 g de glicose, 1,88 g de glicina e 0,42 g de NaHCO₃ em 200 mL de água destilada. A solução padrão foi aquecida a 95 °C utilizando banho com glicerina e agitada por 7 horas e congelada ao término do processo. Em seguida, o material foi liofilizado até que toda a umidade fosse removida. Foram adicionados 200 mL de água com 5 g do material liofilizado e o mesmo ficou agitando por 12 h a 4 °C. A suspensão então foi filtrada com papel de filtro Whatman nº4. Considerou-se o material filtrado como sendo as melanoidinas e esse foi em seguida armazenado. Preparou-se um uma solução com 180 mg/L de melanoidinas e a partir desta outras com 144, 90, 36 e 8 mg/L.

Com as soluções de 90 e 180 ppm fez-se um *scanning* em espectrofotômetro para obtenção do pico de absorbância. Embora, Bekedam et al. (2008) afirmaram que a capacidade de absorção de luz das melanoidinas foi no comprimento de onda de 405 nm para o café e outros grupos alimentícios, o encontrado foi 293.3 nm. Logo após, fez-se uma curva associando a concentração de melanoidinas com a absorbância em 293.3 nm. Então, as amostras da Usina A foram diluídas e encontrou-se os valores de melanoidinas associando a absorbância lida com os valores da curva.

3.4 Análises microbiológicas

As amostras coletadas na indústria também foram analisadas quanto a contaminação microbiológica, todavia visando associar a presença dos contaminantes com a temperatura, foram plaqueados as amostras do caldo da moenda, caldo clarificado, xarope, açúcar da centrífuga e açúcar do secador. Os resultados foram expressos em contagem de unidades formadoras de colônia por grama ou mL de material. A metodologia imposta são as tradicionais propostas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT.

3.4.1 Preparo das amostras para as análises microbiológicas

No caso dos caldos da moenda e do clarificado, as amostras foram utilizadas como vieram da indústria. Para os xaropes, açúcares da centrífuga e açúcares do secador, foram pesados 20 g e completados a um volume de 100 mL com água destilada esterilizada.

3.4.2 Contagem de bactérias mesófilas totais

O método de isolamento das bactérias mesófilas totais foi o plaqueamento em superfície com utilização do meio Plate Count Ágar (PCA). O PCA é um meio nutritivo que pode ser utilizado para inoculação de diversos materiais, como produtos lácteos, leite, alimentos e água. Ele permite o desenvolvimento bactérias e é utilizado na avaliação de execução do controle microbiológico. Em 1 L de meio em pH 7 ($\pm 0,2$) possui 1 g de glicose, 5,0 g de peptona de caseína, 2,5 g de extrato de leveduras e 9 g de ágar. Os extratos de levedura e triptona atuam como fonte de carbono, a dextrose no fornecimento de açúcar fermentável e o ágar entra para permitir a solidificação do meio. O seu preparo envolve a diluição de 23,5 g de meio para cada litro de meio. Após a diluição, ele foi fervido por aproximadamente 1 minuto até completa dissolução e auto-clavado por 15 minutos a 1 atm e 105 °C antes de utilização.

Inicialmente, foi executado o teste de diluição seriada. 1 mL das amostras preparadas foi colocada em tubo de ensaio com 9 mL de solução salina (0,85% de NaCl) e homogeneizada, formando a diluição 10^{-1} . Em seguida, 1 mL da

solução 10^{-1} foi incluída em outros 9 mL de solução salina formando a 10^{-2} . O processo se repetiu até a diluição 10^{-6} . A Figura 9 ilustra a forma como procedeu a diluição seriada.

Logo após, as placas foram preparadas. Foram utilizados aproximadamente, 20 mL por placa do PCA difuso, resfriado e esterilizado. Posteriormente, distribuiu-se 100 μ L das soluções em três placas, espalhou-se com alça de Drigalski de vidro e deixou incubar em estufa por 48 horas a 35 °C. As placas que apresentaram uma quantidade contável de colônias (entre 20 e 60 vezes) determinaram a diluição.

Dentro da diluição previamente estabelecida repetiu-se o processo de plaqueamento, todavia foram distribuídos 100 μ L das soluções em 5 placas. A quantidade de colônias formadas foi somada e expressos em Unidades Formadoras de Colônia / g ou mL de amostra (UFC/g ou UFC/mL). A Figura 10 ilustra a maneira a qual foi realizada a contagem de bactérias mesófilas totais.

Ao final das análises antes do descarte, os materiais foram autoclavados à 1 atm e 121°C por 30 minutos.

Figura 9 - Diluição seriada das amostras da Usina A até 10^{-3} antes do plaqueamento

Figura 10 - Esquema para contagem de bactérias mesófilas totais

3.4.3 Contagem de fungos (bolores e leveduras)

Para o isolamento de bolores e leveduras, a técnica de plaqueamento foi a de superfície e o meio utilizado o Batata Dextrose Ágar (BDA). O BDA é recomendado pela American Public Health Association (APHA) e US Food and Drug Administration (FDA) na contagem de fungos em alimentos e laticínios. O United States Pharmacopeia (USP) recomenda a utilização desse meio para testes de limite microbiano. O BDA permite um amplo crescimento de fungos, e a redução do meio pH do meio para 3,5 inibe o desenvolvimento de bactérias, tornando-o mais seletivo. A composição em 1 L é: 200 g de infusão de batatas, 20 g de dextrose, 15 g de ágar e o pH final é de 5,2.

O preparo se iniciou pesando 39 g de BDA para cada 1 L de meio. Ele foi fervido até completa dissolução por aproximadamente 1 minuto, esterilizado em autoclave a 1 atm e 105° C por 15 minutos. Antes de vertê-los, foi introduzido 1 mL de ácido tartárico 10% estéril para cada 100 mL de meio, com o objetivo de diminuir o pH para 3,5 e assim inibir o crescimento de bactérias. É importante salientar que após a adição do ácido não foi possível o reaquecimento para posterior uso, uma vez que haveria a hidrólise do ágar e consequente não solidificação do meio.

O teste de diluição e a forma de plaqueamento empregado foram semelhante ao realizado no isolamento de bactérias mesófilas totais. Exceção somente para incubação em estufa que foi a 30 °C por 72 horas. A quantidade de colônias também foi expressa como UFC / g ou mL de amostra e será a soma de colônias observadas nas 5 placas. A Figura 11 ilustra os procedimentos adotados na contagem de fungos.

Ao final das análises o procedimento de descarte foi o mesmo, esterilização em auto clave à 1 atm e 121°C por 30 minutos.

Figura 11 – Esquema para contagem de fungos (bolores e leveduras)

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização química das amostras da indústria

Antes da apresentação dos dados obtidas na Usina A é importante realçar que houve diferenças de concentrações de um mesmo composto, porém em períodos de coleta distintos. Isso ocorreu devido a diferença das matéria primas fornecidas, da quantidade de impurezas que chega no processo, desempenho da colheita (qual sistema utilizado), carregamento e transporte (CCT), situação da indústria no momento em que as amostras foram retiradas (no mês de novembro, por exemplo, a Usina A estava em seu último dia de safra no momento da coleta), ocorrência de chuva recente, presença de pragas e doenças, dentre outros aspectos. Eggleston e Monge (2005) avaliando o pH do xarope final e do caldo clarificado, notaram diferenças de resultados nos mesmos pontos ao realizarem coletas no início, meio e final de safra (Figura 12). Esse padrão se estende para as caracterizações microbiológicas.

Figura 12 – Diferença nos valores de pH retirados de um mesmo local, porém em épocas da safra diferentes (EGGLESTON; MOORE, 2005)

4.1.1 Açúcares redutores

Constam na Tabela 4 e a Figura 13, os valores de açúcares redutores das amostras ao longo dos meses de coleta. Foi realizado o Teste de Tukey para diferenciação das médias entre as diferentes etapas de fabricação do açúcar.

Os açúcares redutores estão presentes na cana-de-açúcar, em altas concentrações quando o vegetal está em fase de crescimento. Isso indica que ao longo da fase de maturação os teores de AR mudam (ROBERTSON et al., 1996). Portanto, é normal que haja glicose e frutose no caldo de cana-de-açúcar conforme foi visualizado na presente pesquisa. Todavia não é recomendável que essas concentrações aumentem ao longo da fabricação (VAN DER POEL et al., 1998). Quantidades elevadas de glicose e frutose no caldo podem indicar que a matéria-prima foi colhida fora do seu ponto ideal de maturação. Um dos problemas ocasionados ao AR está na adulteração da leitura de pol (massa de sacarose aparente contida em uma solução açucarada, definida pelo desvio da luz polarizada ao incidir na solução), como citado em pesquisas que mostraram que a frutose pode diminuir a rotação positiva da luz polarizada do polarímetro, enquanto que a glicose possui a capacidade de adicionar rotação. Isso influencia no pagamento aos fornecedores de cana-de-açúcar (VETTORAZZI; MACDONALD, 1988; GUY et al., 1992; ROBERTSON et al., 1996; UNIÃO DOS PRODUTORES DE BIOENERGIA- UDOP, 2015).

Tabela 4 – Concentração de açúcares redutores nos diferentes pontos do processo de fabricação de açúcar

Amostras	Setembro	Outubro	Novembro	Média
Moenda (g/L)	191,50 ± 6,29	169,03 ± 1,81	186,60 ± 3,46	182,38 ± 11,82 ^{ce}
Caleado (g/L)	ND	24,99 ± 1,60	76,19 ± 0,53	50,59 ± 25,60 ^f
Decantado (g/L)	28,83 ± 0,60	39,92 ± 1,65	52,22 ± 1,42	40,32 ± 11,70 ^{fg}
Lodo (g/L)	ND	52,50 ± 0,63	58,93 ± 0,59	55,72 ± 3,22 ^f
Clarificado (g/L)	34,42 ± 1,51	51,13 ± 3,10	49,97 ± 3,39	45,17 ± 9,33 ^{fg}
1º Efeito (g/L)	ND	139,34 ± 3,82	145,15 ± 2,22	142,25 ± 2,91 ^e
2º Efeito (g/L)	ND	193,91 ± 1,77	ND	193,91 ± 0,00 ^{bc}
3º Efeito (g/L)	198,91 ± 1,01	254,98 ± 3,55	236,12 ± 2,22	230,00 ± 28,53 ^{ab}
Xarope (g/L)	241,11 ± 1,01	256,02 ± 1,33	240,30 ± 5,55	245,81 ± 8,85 ^a
Centrifuga (g/Kg)	5,36 ± 0,08	22,23 ± 0,92	21,76 ± 1,37	16,45 ± 9,61 ^{fg}
Secador (g/Kg)	4,98 ± 0,38	9,79 ± 0,00	5,24 ± 0,09	6,67 ± 2,71 ^g

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%)

ND: Não determinadas

Figura 13 – Concentrações de AR em setembro (a), outubro (b), novembro (c) e a média do período (d). Etapas com as mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%).

Embora, o levantamento das amostras tenham indicado altas concentrações de AR nos três meses de coleta, não se pode afirmar que foi o único fator responsável pela presença desses açúcares tenha sido a idade da planta. Outros fatores que justificam esse alto teor são encontrados na literatura (IVIN; DOYLE, 1989; BOVI; SERRA, 1999). Bovi e Serra (1999) comprovaram que a cada 1% de folhas verdes adicionadas, houve uma redução 0,075° brix, 0,125% de pol e 0,322% de pureza do caldo, e um aumento de 0,012% no valor de cinzas e 0,012% de AR. Sendo que a presença de substâncias contidas nas folhas verdes extraídas no momento da prensagem seriam as responsáveis no ganho de AR. Todavia os dois autores não encontraram relação entre a idade e a presença de glicose e frutose.

A queda atípica no teor de AR observado entre o caldo da moenda (média dos três meses de 182,38 g/L) e o caldo caleado (50,59 g/L), decantado (40,32 g/L) e clarificado (45,17 g/L) é um indicativo de que pode ter ocorrido contaminação antes do momento de avaliação. O caldo não é submetido a procedimentos que justifiquem essa diminuição, já, a presença de bagacilho e terra na amostra moída é um forte indicativo da possibilidade de contaminação microbiológica. Na usina A, o sistema de extração é feito com moenda e, por isso é descartada a possibilidade de alta degradação térmica de sacarose, pois as temperaturas de retirada do caldo eram próximas da ambiente e inferiores a encontrada no tratamento do caldo a qual possui menos de um terço da concentração de AR (REIN, 2007). Mesmo que o processo de extração fosse através de difusores, a temperatura é por volta de 75° C (DELFINI, 2013) que é inferior aos 110°C a do tratamento do caldo (REIN, 2007).

De acordo com o operador do processo, a ausência de chuvas no ano de 2014 e a transição para o sistema de colheita mecanizado elevou a quantidade de impurezas minerais e vegetais levadas do campo a indústria. Os levantamentos de Moraes (1992), Kroes e Harris (1996), Magalhães e Braunbeck (1998), Neves et al. (2006), Benedini et al. (2009), Thai et al. (2012) e Finguerut (2014) relatam que a saída do corte manual com carregamento mecanizado para utilização do totalmente mecanizado sem queima aumentou a quantidade de impurezas enviada a indústria e dificuldades industrial para manutenção da qualidade do produto final, corroborando a informação recebida (Figura 14). Finguerut (2014) relata que a seca durante a safra de 2014 geraria um aumento de descarregamento de cana-de-açúcar excedente da safra anterior na indústria e consequente aumento de impurezas vegetais. A presença

de terra no processo possui correlação positiva com a quantidade de bactéria contaminante do processo (FIGUEIREDO et al., 2008).

Figura 14 – Crescimento da presença de impurezas associada com o aumento da utilização do corte mecanizado de cana de açúcar (FINGUERUT, 2014)

Outro fator que justifica os teores discrepantes de AR no caldo da moenda foi o pH próximo de 3,5, no momento de análise das amostras. Um dos fatores que aceleram a inversão de sacarose é a acidez do meio. A hidrólise ou inversão é diretamente proporcional a temperatura e inversamente proporcional ao pH (HUGOT, 1986; ARAÚJO, 2007).

Todavia, a principal justificativa para essa queda é a influência de amostras que contenham minerais (SINEGANI; EMTIAZI, 2006; RIVERS et al., 1983) e aminoácidos (TEIXEIRA et al., 2012) no resultado do método do DNS. Sinigani e Emitiazi (2006) trabalharam com mais de 30 sais na concentração de 0,04 N e encontraram que a presença dos íons na solução de glicose subestimou ou superestimou os valores se comparados com uma amostra em branco (somente glicose). Em levantamento realizado por Souza et al. (2014) em três diferentes usinas do Nordeste brasileiro foram detectadas no caldo de cana-de-açúcar a presença de cálcio (101,33 g/L, média das três usinas), cobre (2,87 g/L), ferro (34,67 g/L), magnésio (956,67 g/L), manganês (5,03 g/L), zinco (13,3 g/L), fósforo (321,33 g/L) e

potássio (794 g/L). O mesmo trabalho relata a presença de 333 g/L de nitrogênio total (média das três usinas), esse conteúdo está ligado a presença de amônio, nitrato e também aminoácidos livres. Os valores variam de acordo com a região, quantidade de chuva, solo, adubação, condições da indústria, quantidade de impurezas, dentre outros fatores. Considerando que a concentração de AR no caldo de cana-de-açúcar está em torno de 1,5 g/L, os elevados valores da presente pesquisa estão superestimados pela presença desses íons e a queda entre moenda e caldo caleado pode ser explicada pela precipitação dos sais que ocorre com a subida do pH para 7,2 – 8,0 na etapa de caleagem e própria ação do Ca^{2+} (REIN, 2007).

Porém, o hidróxido de cálcio adicionado nessa etapa pode reagir com os sais presentes no caldo que são oriundos do campo (via adubação ou solo) formando hidróxidos fortes, e esses na presença de AR catalisam reações de formação de substância escuras (ARAUJO, 2007). Spencer (1932) notou um escurecimento de uma solução de açúcares invertidos ao adicionar leite de cal até que o pH chegasse a 8,0. O autor concluiu que em pH alcalino houve a formação de estruturas enólicas e consequentemente houve o estímulo na formação dos compostos coloridos cíclicos (ácidos orgânicos, caramelos e polifenóis). Ainda é citado que a exposição excessiva do caldo ao pH alcalino no tratamento pode provocar a formação de gomas, como a dextrana, e a mesma pode provocar problemas de atraso na cristalização, entupimento de tubulações e consequente atraso no processamento (TILBURY, 1975; LOPES; BORGES; 1998; REIN, 2007).

Com exceção da moenda, a quantidade de açúcares redutores evoluiu à medida que o material passou por etapas que utilizam altas temperaturas. Ao longo do tratamento do caldo, especialmente no momento em que o caldo fica parado nos decantadores, pode ocorrer a queda do pH (geralmente de 7,5 a 6,9), em temperaturas acima de 100°C, provocando a inversão de sacarose na faixa de 0,2% a 0,3%, existindo relatos de 1% (HUGOT, 1986). Caso o pH chegue ácido nessa etapa, pode ocorrer a formação de substâncias como sacárico, glucínico e melansínico que estimulam a formação de cor (ARAUJO, 2007). Todavia, na presente pesquisa, o caldo decantado (coletado nos decantadores) não apresentaram diferenças estatísticas no teor de AR comparados com o caldo clarificado (após a etapa de clarificação). O lodo apresentou um teor de glicose e frutose próximo dos caldos, talvez justificado pela afirmação de Hugot (1986) de que o lodo deteriora mais rapidamente do que o caldo. Outro fator é a possível presença de compostos

redutores que agem na redução do reagente DNS superestimando a concentração de açúcares redutores (MALDONADE et al., 2013).

O caldo clarificado, caleado, decantado e o lodo apresentaram menor teor de frutose e glicose do que os caldos retirados do evaporador e também que o xarope. Isso se deve ao aumento significativo da temperatura e utilização da pressão no momento da concentração, além de uma acidez crescente (HUGOT, 1986; EGGLESTONE; MONGE, 2005). Eggleston e Moore (2005) listaram quatro razões para essa queda de pH: (1) precipitação de sais alcalinos, em especial os sais de magnésio, silicato e cálcio; (2) a formação de ácidos devido a degradação da sacarose; (3) o aumento do Brix que leva a uma maior concentração de H^+ e (4) a liberação de pequenas quantidades de amônia dos compostos com o grupo amina. De acordo com Cardoso (1990) e Rein (2007), os quatro corpos do evaporador tipo Robert trabalham com as seguintes temperaturas: 118,2, 105,1, 83,1 e 63,6 °C, dessa forma o caldo perde água e ocorre a concentração de sólidos, aumentando o teor de sólidos solúveis totais de aproximadamente 18,2° Brix para 58,9° Brix. O objetivo dessa operação é concentrar a sacarose que é o material a ser cristalizada mais adiante, todavia é observado o ganho de açúcares redutores, indicando a degradação térmica e potencializada pela diminuição de pH. A medida que a temperatura aumenta acima de 100°C a inversão cresce rapidamente, sendo que valores próximos de 125°C são proibitivos.

Tendo como base essa afirmação, Hugot (1986) ilustra que considerando a taxa de inversão a 100°C igual a 100, a 120°C o valor sobe para 523. A Tabela 5 ilustra essa relação. O mesmo autor também ilustra o efeito do pH na degradação térmica em função do tempo, citando que a 100°C, se a solução estiver com pH 6,0 em uma hora será invertida 0,21% e a pH 7,0, 0,021%. Por fim, para um evaporador de quatro efeitos as perdas chegam a 0,05% da sacarose, sendo que há uma diminuição na inversão ao longo dos efeitos, 0,02% no primeiro efeito, 0,015% no segundo, 0,01% no terceiro e 0,005% no quarto. E analisando os resultados do presente pesquisa, realmente houve uma maior diferença na produção de açúcares redutores na transição de caldo clarificado para caldo do 1º efeito (45,17 g/L para 142,25 g/L) e uma menor do caldo do 3º efeito para xarope (230,00 mg/Kg para 245,81 mg/Kg).

Tabela 5 – Taxa de inversão de sacarose em função da temperatura, adaptado de HUGOT (1986)

Temperatura (°C)	Temperatura (°F)	Taxa de Inversão
120	248	523
100	212	100
80	176	15,7
60	140	1,7

Os açúcares redutores causam interferências negativas na cristalização do açúcar, como por exemplo, influência na solubilidade da sacarose, diminuindo a velocidade do processo e na morfologia final dos cristais (REIN, 2007). Os açúcares redutores podem cristalizar, todavia esse é um processo mais complexo dada a estabilidade do conjunto de isômeros. Mantelatto (2005) ilustrou essa situação em trabalho realizado com cristalização a frio. Portanto, os cristais de açúcar oriundos da centrifugação na etapa de fabricação de açúcar VHP apresentam uma quantidade reduzida de AR o que é positivo, tendo em vista que a glicose e a frutose presente nos cristais é um dos agentes formadores de cor e contribui para o ganho de umidade por empedramento dada a maior higroscopicidade das estruturas (CLARKE; LEGENDERE, 1999; MONICA et al., 2004).

4.1.2 Sacarose

Constam na Tabela 6 e na Figura 15, os valores de sacarose ao longo do processo e dos meses de coleta.

Tabela 6 – Concentração de sacarose nos diferentes pontos do processo de fabricação de açúcar

Amostras	Setembro	Outubro	Novembro	Média
Moenda (g/L)	76,38 ± 0,65	181,22 ± 8,69	155,47 ± 3,86	137,69 ± 54,63 ^d
Caleado (g/L)	ND	185,67 ± 15,01	198,77 ± 18,95	192,22 ± 6,55 ^d
Decantado (g/L)	130,34 ± 1,63	223,28 ± 14,25	149,39 ± 0,10	167,67 ± 49,09 ^d
Lodo (g/L)	ND	138,15 ± 0,88	93,59 ± 7,96	115,87 ± 22,28 ^d
Clarificado (g/L)	136,57 ± 2,30	141,91 ± 19,02	147,24 ± 4,27	141,91 ± 5,34 ^d
1º Efeito (g/L)	ND	345,22 ± 11,16	369,72 ± 9,75	357,47 ± 12,25 ^c
2º Efeito (g/L)	ND	439,96 ± 0,01	ND	439,96 ± 0,00 ^{bc}
3º Efeito (g/L)	430,06 ± 18,56	504,63 ± 2,13	453,84 ± 19,57	462,84 ± 38,09 ^{bc}
Xarope (g/L)	516,10 ± 14,44	515,02 ± 58,25	479,82 ± 0,25	503,65 ± 20,64 ^b
Centrífuga (g/Kg)	811,65 ± 0,01	666,86 ± 35,93	761,78 ± 10,22	746,76 ± 73,55 ^a
Secador (g/Kg)	945,97 ± 0,01	711,88 ± 6,81	780,88 ± 22,82	812,91 ± 120,3 ^a

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%)

ND: Não determinadas

Figura 15 – Concentrações de sacarose em setembro (a), outubro (b), novembro (c) e a média do período (d). Etapas com as mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%).

Foi realizado o Teste de Tukey e observou-se que houve uma diferença significativa após as etapas de concentração de sacarose. As médias de sacarose entre a extração e o tratamento do caldo (moenda, caleado, decantado e clarificado) diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, dos caldos e xaropes retirados do evaporador. Por sua vez são menores do que os açúcares já cristalizados oriundos da centrífuga e secador. Esses são resultados já esperados uma vez que o processo o qual o caldo de cana-de-açúcar atravessa na usina tem como objetivo concentrar a sacarose e cristalizá-la (MANTELATTO, 2005).

A sacarose possui fórmula molecular $C_{12}H_{22}O_{11}$ e seu peso é 342,3. Em condições normais do ambiente, ela está na forma de cristais monocíclicos esfenoidais ou em blocos e pó branco ou massa cristalina. É a molécula utilizada como padrão de doçura e, por isso, possui o valor de 1,0. Ela é produzida por todas as plantas verdes através da fotossíntese, sendo a cana-de-açúcar a maior “produtora” e “fornecedora” da molécula para consumo humano. A qualidade tecnológica da planta está diretamente ligada ao teor de sacarose e a sua colheita deve ser realizada no momento onde apresentar maior teor de sacarose (FIGUEIREDO, 2008; VETTORAZZI; MACDONALD, 1988). O caldo de cana-de-açúcar apresenta em média 18% de sacarose (STUPIELLO, 1987) e as concentrações encontradas na presente pesquisa apresentaram valores semelhantes (média de 137,69 g/L). A inferioridade vista no mês de setembro deve-se a taxa de inversão acentuada apresentada no item 4.1.1. Portanto, no caso do processo pode-se dizer que a moenda cumpriu seu objetivo de extrair o máximo de sacarose, sendo a entrada de impurezas a causa de problemas na manutenção do material (DELFINI, 2013).

No decorrer do tratamento de caldo o objetivo é a purificação do caldo, para que o mesmo chegue aos evaporadores com o mínimo de impurezas possíveis e assim o processo de evaporação ocorra de forma mais eficiente, sem o risco de incrustações nos evaporadores, logo nessa etapa ainda não há a intenção de concentrar a sacarose (HUGOT, 1986; VAN DER POEL et al., 1998; REIN, 2007) e, por isso, esperava-se que no levantamento os teores de sacarose se mantivessem constantes. Conforme foi visualizado no item 4.1.1, as reações de inversão embora possam ser detectadas dada a alta temperatura e a variação no pH, não foi o suficiente para apresentar diferenças estatísticas entre as concentrações de AR e também não gerou mudanças nas concentração de sacarose.

O lodo (*underflow*) do decantador precisa ser filtrado para recuperação dos açúcares contidos nele. As concentrações de sacarose no lodo (115,87 g/L) não apresentaram diferenças estatísticas comparados com os caldos do tratamento, reforçando a necessidade de filtração do material e recuperação desses açúcares. O cenário contribuiu para uma maior quantidade de *underflow* formado devido à crescente presença de impurezas levadas do campo a indústria (conforme discussão no item 4.1.1). Segundo Rein (2007), a quantidade de lodo que será manejada e o critério de performance do filtro (área requerida, perda de pol% torta, quantidade de bagacilho a ser adicionada) são fortemente influenciadas pela quantidade de sólidos no lodo, que vem sofrendo influência dos altos teores de impurezas minerais e vegetais vindos para indústria em decorrência da colheita mecanizada. Como parâmetro, com 1,5 grama de solos trazidos a indústria por grama de cana-de-açúcar moída, o volume de *underflow* é de 12 g/100 g de cana moída, se a quantidade de solos dobrar (3,5 g/g) o volume de *underflow* subirá para 18g/100g (REIN, 2007).

A evaporação, conforme discutida no item, 2.3.3 tem como objetivo eliminar a água presente no caldo e assim concentrar a sacarose (HUGOT, 1986; VAN DER POEL et al., 1998; REIN, 2007). No levantamento, percebe-se um grande acúmulo de sacarose, que sai de 199,74 g/L no caldo decantado para 357,62 g/L após passagem no primeiro efeito e finaliza com 503,05 g/L no xarope (Tabela 7). Os evaporadores de múltiplo efeitos propostos por Norbert Rilleux preza por aquecerem com vapor o primeiro efeito e os corpos seguintes aproveitam o vapor gerado na evaporação do caldo contido no efeito anterior (Figura 16).

Esse mecanismo somente foi possível com a inclusão do vácuo entre os corpos. Embora crie a necessidade de mais uma instalação no equipamento, a temperatura de ebulição sobre o vácuo é menor e isso permitiu que o processo operasse em temperaturas não tão altas e menos susceptíveis a degradação de sacarose (Tabela 2). Essa característica da temperatura decrescer ao longo da etapa não significou um efeito padronizado na diferenças da concentração de sacarose (Tabela 7).

Assim como discutido no item anterior, após a cristalização se inicia a formação de cristais e na centrifugação, o melaço que possui altos teores de açúcares redutores é removido. O açúcar da centrífuga e do secador, portanto apresentam altas taxas de sacarose (MANTELATTO, 2005). Após passagem nos secadores, o açúcar VHP está pronto para ser armazenado, embora ele seja considerado um açúcar bruto

e não atender padrões de qualidade para o consumo humano, ele deve possuir: no mínimo 99% de pol, e os máximos de 0,15% de cinzas, 1200 UI de cor e 0,15% de umidade (ALTO ALEGRE, 2014).

Figura 16 – Princípio dos evaporadores de múltiplo-efeito (AMERICAN CHEMICAL SOCIETY - ACS, 2015).

Tabela 7 – Variação na concentração de sacarose entre os corpos do evaporador

Etapa	Concentração de Sacarose	Variação em relação a etapa anterior
1º Efeito	357,62 g/L	157,88 g/L
2º Efeito	446,94 g/L	89 g/L
3º Efeito	456,81 g/Kg	9,87 g/Kg
Xarope	503,05 g/Kg	46,24 g/Kg

4.1.2.1 Correlação entre as concentrações de AR e sacarose

Adaptando a proposta de Hugot (1986) para detectar perdas de sacarose ao longo da evaporação, calculou-se a razão de inversão do açúcar ao dividir a concentração de AR pela sacarose (Tabela 8).

Analisando os dados, percebe-se uma razão de inversão (RI) maior ao longo do processo de evaporação do que no tratamento. Comparando a média de RI entre as etapas do tratamento e da evaporação existiu um aumento de 62% (0,28 contra 0,46). Como o coeficiente está aumentando, acredita-se que estão ocorrendo perdas de inversão nos evaporadores.

A justificativa pode estar associada a possível queda no pH, a evidente utilização de maior quantidade de calor em especial no primeiro efeito e a um tempo de residência maior do que o normal nos evaporadores (HUGOT, 1986). Outra forma de degradação pode ser fisicamente através da entrada de vapor nos corpos, todavia esse é um processo mais raro (EGGLESTON; MONGE, 2005). A presença de impurezas também pode estar influenciando na RI, uma vez que a inversão é otimizada na presença de sais (logo é possível uma associação com as incrustações) e também da própria glicose e frutose. Autores detectaram uma relação positiva entre o intervalo de lavagem dos equipamentos e as taxas de degradação (EGGLESTON; MONGE, 2005), uma vez que as incrustações quando acumuladas diminuem a capacidade de troca de calor dos evaporadores, tornando o processo menos eficiente e mais lento, consequentemente mantendo o caldo por mais tempo nos evaporadores. Boa parte das usinas utilizam a polarimetria como forma de quantificar a sacarose no caldo (inclusive a indústria a qual as amostras foram coletadas), comprometendo a quantificação da perda de sacarose, uma vez que as impurezas podem superestimar o valor de polarização (EGGLESTON et al., 1996).

A queda no RI que ocorre entre a amostra coletada no 3º efeito e no xarope (de 0,50 para 0,49) pode ser explicada pela tendência de aumento do pH nos últimos efeitos dos evaporadores, dada a evaporação de ácidos voláteis. Em levantamento mostrou-se que nos últimos efeitos havia grandes concentrações de ácidos fórmicos e acéticos nos condensadores, acarretando em corrosões (EGGLESTON; MOORE, 2005).

Conclusões definitivas quanto a tendência de perda de sacarose não podem ser expressadas pelo presente pesquisa, porque o acompanhamento de tais estudos exigem que as amostras sejam coletadas ao longo de toda a safra, com uma grande quantidade de amostras conforme sugere Eggleston e Monge (2005).

Tabela 8 – Razão de inversão ao longo do processo e sua variação em função da etapa anterior

Ponto de Coleta	Concentração Sacarose	Concentração AR	Razão de Inversão (RI)	Variação na RI em relação a etapa anterior
Moenda (g/L)	137,69	182,38	1,34	
Caleado (g/L)	192,22	50,59	0,27	-79,81%
Decantado (g/L)	167,67	40,32	0,26	-5,09%
Clarificado (g/L)	141,91	45,17	0,32	23,34%
1º Efeito (g/L)	357,47	142,25	0,40	26,91%
2º Efeito (g/L)	439,96	193,91	0,43	7,76%
3º Efeito (g/L)	462,84	230,00	0,50	14,73%
Xarope (g/L)	503,05	245,81	0,49	-1,79%
Centrifuga (g/Kg)	746,76	16,45	0,02	-95,49%
Secador (g/Kg)	812,91	6,67	0,01	-60,69%

4.1.3 Furfural e 5-Hidroximetilfurfural

Constam na Tabela 9 e na Figura 17, as concentrações de Furfural e HMF nas amostras do processo que sofrem mais influência da temperatura. Foi realizado o Teste de Tukey para diferenciação das médias entre as diferentes etapas de fabricação do açúcar.

Tabela 9 – Concentração de furfural e HMF nas diferentes etapas do processo de fabricação de açúcar

Amostra	Furfural			HMF		
	Outubro	Novembro	Média	Outubro	Novembro	Média
Clarificado (mg/L)	0,0070	0,0087	0,0079 ^a	0,0599	0,0441	0,0520 ^b
Xarope (mg/L)	0,0251	0,0216	0,0234 ^b	0,1462	0,1517	0,1490 ^a
Centrifuga (mg/Kg)	0,0003	0,0006	0,0005 ^c	0,0213	0,0265	0,0239 ^b
Secador (mg/Kg)	0,0003	0,0006	0,0005 ^c	0,0227	0,0364	0,0296 ^b

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%)

O 5-hidroximetilfurfural (HMF) é uma molécula furânica heterocíclica com os grupos funcionais hidróxidos e aldeídos nas posições 2 e 5. Essa molécula é considerada um composto aromático relativamente insaturado e tem potencial de uso combustível através da hidrogenação. Além disso, estruturas heterocíclicas de furanos podem ser encontradas em moléculas com atividade farmacêutica, sendo esse um potencial para pesquisas (WANG, 2014).

Figura 17 – Valores médios da concentração de Furfural (a) e HMF (b) ao longo do processo nos meses de outubro e novembro. Etapas com as mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%).

Sua produção está bastante ligada com a degradação térmica de açúcar sendo assim associado a reação de Maillard e também a caramelização, ambos formadores de compostos coloridos, consequentemente a concentração de HMF é associada a formação de cor do material. Temperaturas elevadas induzem a decomposição de hexoses ou outros açúcares em compostos derivados de furano. Em pH abaixo de 7 e ocorrência de altas temperaturas, o HMF é observado como intermediário das reações de Maillard após a degradação dos produtos do rearranjo de Amadori (Figura 18).

Hugot (1986) relatou estudos que a degradação chegou a 1% quando o pH estava próximo de 7 e 3% quando houve aumento para 8. Rodrigues et al. (2000) trabalharam com a fabricação de xarope de açúcar invertido através de hidrólise ácida, observaram que se o material mantivesse por longo período em resinas catiônicas que diminuem o pH do meio haveria a formação de HMF e consequente cor no xarope. Logo, o aumento na concentração do produto após passagem pelo evaporador observado no presente pesquisa já era esperado, uma vez que no equipamento a temperatura e pressão são superiores do aos aplicados nos decantadores e o pH da solução diminui em especial no 3º efeito (EGGLESTONE; MONGE, 2005). A concentração de HMF será baseada nas condições em que ocorre sua formação, ou seja, tipo do açúcar, presença de composto aminados, pH e a forma como o processo térmico é conduzido (KAVOUSHI et al., 2015).

Hugot (1986) comentou que a avaliação da degradação de glicose em evaporadores é muitas vezes negligenciadas, assim a utilização da relação de inversão (RI) na avaliação da degradação de sacarose torna-se falho, pois a possibilidade de degradação de glicose em HMF é desconsiderado e consequente acontece uma subestimação da relação.

O HMF pode ser encontrado em diversas alimentos e bebidas, sendo observadas altas concentrações acima de 1 g/kg em produtos como frutos secos, pó de café e produtos caramelizados (MONAKHOVA; LACHENMEIER, 2012). Processos de fabricação de alimentos como a torrefação (DURMAZ; GÖKMEN, 2011), cozimento (ZHANG et al, 2012) e fritura (KAVOUSHI et al., 2015) apresentaram formação de HMF.

Todavia, em levantamento realizado por Monakhova e Lachenmeier (2012) nota-se que as informações de consumo diário de HMF são bastante variáveis. Os autores citam que os noruegueses consomem cerca de 27,6 mg/p/d (HUSOY et al., 2008), os espanhóis 10 mg/p/d e os alemães de 4 a 30 mg/p/d (NATIONAL

TOXICOLOGY PROGRAM- NTP, 2015), enquanto que em bebidas alcoólicas as concentrações máximas presentes são de 840 mg/L para o vinho, 55,9 mg/L para o whiskey e 43,5 mg/L para o rum. Em estudos realizados com ratos e cães, Ulbricht et al. (1984) revelaram que altas doses excedendo 75 mg/kg de peso corporal ocasionou alguns efeitos tóxicos como aumento da atividade das enzimas hepáticas, aumento relativo do peso do baço e degeneração gordurosa hepática.

Porém, as concentrações encontradas em alimentos e bebidas são bem inferiores e não apresentam riscos (MONACHOVA; LACHENMEIER, 2012). E as concentrações detectadas na presente pesquisa também não geram preocupações em contaminações humanas. Além disso o açúcar avaliado é o VHP que servirá de matéria-prima para produção de açúcar refinado e, portanto ainda será reprocessado passando por um sistema de qualidade mais rigoroso. E não há relatos de consumo de açúcar e consequente bioconversão do HMF contido nele em 5-sulfoximetil-furfural (SMF) que hoje é a maior preocupação associada ao composto, dada a capacidade do SMF reagir com o DNA e formar mutações (KAVOUSHI et al., 2015). Essa é uma preocupação desnecessária dada as baixíssimas concentrações encontradas.

Figura 18 – Parte das reações de degradação de açúcares que ocorrem ao longo da reação de Maillard (adaptado de HODGE, 1953)

O furfural possui peso molecular de 96, temperatura de ebulição de 162 °C, solubilidade em água 8,3 g/100 g de água e temperatura de fusão de 36,5 °C. Ele é um óleo límpido que ao ser exposto ao oxigênio torna-se castanho avermelhado. É uma molécula aromática heterocíclica que atua como solvente orgânicos e serve de base para a produção de outros solventes, aditivos alimentar, precursores de produtos farmacêuticos e pesticidas, dentre outros. Por ser oriundo de fontes renováveis como o bagaço de cana-de-açúcar e sabugos de milho são responsáveis por cerca de 98% do furfural produzido e a China é o maior produtor (RIBEIRO et al., 2012).

Assim como o HMF, o furfural é um dos subprodutos da reação de Maillard (WOO et al., 2009). Sua toxicidade em alimentos e utilização como aromatizantes foi testada e liberada em teste realizado por Adams et al. (1997). Considerando as baixas concentrações encontradas no produto final (açúcar do secador) é possível afirmar que não haveria riscos para a saúde humana o consumo do mesmo. A variação na concentração ao longo do processo também está diretamente ligada a temperaturas elevadas que geram inversão de açúcares e consequente formação de furfural.

Dessa forma, o HMF e o furfural estão diretamente correlacionados com a concentração de AR. Aplicando a correlação de Pearson entre as médias da concentração de caldo decantado, xarope, açúcar da centrífuga e do secador chegou-se aos valores da Tabela 10. Ambos os parâmetros apresentaram uma correlação forte positiva (acima ou igual a 0,80 e menor que 1) corroborando a teoria de que o AR é o primeiro passo para a degradação de sacarose e os dois compostos heterocíclicos seriam as etapas subsequentes.

Tabela 10 – Concentrações médias de HMF e furfural e as respectivas correlações com a concentração de açúcares redutores

Parâmetros	Clarificado	Xarope	Centrífuga	Secador	Correlação de Pearson Com AR
HMF	0,0520 mg/L	0,1490 mg/L	0,0239 mg/Kg	0,0296 mg/Kg	0,99
Furfural	0,0079 mg/L	0,0234 mg/L	0,0005 mg/Kg	0,0005 mg/Kg	0,98
Açúcares Redutores*	50,55 g/mL	248,16 g/L	22,00 g/Kg	7,52 g/Kg	ND

*As concentrações de AR correspondem a média das concentrações de outubro e novembro.

ND: Não determinadas, uma vez que as correlações foram em função o AR

4.1.4 Melanoidinas

Constam na Tabela 11 e na Figura 19, as concentrações de melanoidinas ao longo do processo, durante os meses de outubro e novembro. Foi realizado o Teste de Tukey para diferenciação das médias.

Tabela 11 – Concentração de melanoidinas nos diferentes pontos do processo de fabricação de açúcar

Amostra	Outubro	Novembro	Média
Moenda (mg/Kg)	41,36 ± 7,98	54,07 ± 8,31	47,71 ± 8,98 ^d
Caleado (mg/Kg)	29,58 ± 1,69	33,30 ± 4,39	31,44 ± 2,63 ^{de}
Decantado (mg/Kg)	13,87 ± 1,60	25,87 ± 1,28	19,87 ± 8,48 ^{ef}
Clarificado (mg/Kg)	11,04 ± 8,53	28,60 ± 1,19	19,98 ± 12,42 ^{ef}
1º Efeito (mg/Kg)	69,86 ± 18,23	77,00 ± 4,81	73,43 ± 5,05 ^c
2º Efeito (mg/Kg)	75,16 ± 3,09	ND	75,16 ± 0,00 ^{bc}
3º Efeito (mg/Kg)	97,17 ± 6,70	101,80 ± 1,79	99,49 ± 3,27 ^{ab}
Xarope (mg/ Kg)	96,13 ± 7,50	106,28 ± 2,51	101,20 ± 7,18 ^a
Açúcar da Centrífuga (mg/Kg)	5,23 ± 0,35	4,73 ± 0,00	4,98 ± 0,35 ^f
Açúcar do Secador (mg/Kg)	5,66 ± 0,51	5,50 ± 0,23	5,58 ± 0,12 ^f

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%)

ND: Não determinadas

Figura 19 – Valores médios da concentração de melanoidinas ao longo do processo nos meses de outubro e novembro. Etapas com as mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%).

Melanoidinas são os produtos finais das reações de Maillard que ocorre em processos de fabricação de alimentos (panificação, torrefação, fritura e cozimento), sendo sua concentração determinada de acordo com os polissacarídeos, aminoácidos, proteínas e compostos fenólicos presentes no momento de produção. Existem diferentes rotas para a produção desses compostos, sendo que o mapa estabelecendo todas as reações possíveis ainda não foi definido. O fluxograma mais aceito é o de Hodge (1953) (Figura 20).

A presença de melanoidinas nos alimentos é amplamente estudada, devido ao consumo diário estimado em torno de 10 g por dia e também uma dualidade em que alguns autores afirmam que essas moléculas nitrogenadas são um ingrediente de alimentos funcionais com propriedades benéficas a saúde e que ainda possuem a capacidade de aumentar o prazo de validade de alguns alimentos dada a estabilidade da molécula, enquanto que outros a consideram um composto com baixo valor nutritivo já que as proteínas ou aminoácidos são destruídos comprometendo a digestibilidade do nitrogênio (LANGNER; RZESKI, 2014).

No café existem as melanoidinas de baixo peso molecular e as de alto, a concentração de ambos dependerá do tempo de torrefação. A presença de HMF e furfural exibidas no item 4.1.3 são indicativos de que a produção de açúcar também é susceptível a reação de Maillard, uma vez que os compostos heterocíclicos citados estão presentes nas rotas da degradação de açúcar na presença de compostos aminados (HUGOT, 1986; LANGNER; RZESKI, 2014). E as concentrações encontradas desde o caldo da moenda corrobora essa informação.

Figura 20 – Esquema da reação de Maillard e seu comportamento de acordo com as condições do ambiente (HODGE, 1953, adaptado por MARTINS et al., 2001)

A perceptível queda da concentração de melanoidina que ocorre desde a moenda até o caldo clarificado deve-se ao fato da retirada de impurezas, enquanto que o aumento subsequente está relacionado com o aumento de temperatura e pressão a qual o caldo é submetido nos evaporadores. O tratamento tem como principal objetivo a remoção de impurezas e diminuição da cor do caldo. O processo além de ser importante na prevenção de incrustações ao longo da evaporação também contribui para a fabricação de um produto final mais branco. É principalmente nessa etapa que os operadores atuam quando se deseja produzir um açúcar VHP ou um branco tipo 2, aumentando ou diminuindo o tempo de residência nos clarificadores ou adicionando mais ou menos polímeros. Portanto, no lodo do decantador está sendo removido muitos compostos coloridos, dentre eles as melanoidinas (ARAÚJO, 2007; REIN, 2007).

A partir dos resultados das análises de melanoidinas e AR descritos nas Tabelas 6 e 13, é perceptível um crescimento na concentração de ambos no decorrer do processo. Os decantadores trabalham com temperaturas na faixa de 100 a 105°C sem aplicação de pressão (REIN, 2007), enquanto que os evaporadores possuem a distribuição de temperaturas e pressão fornecidas pela Tabela 2. Consequentemente, houve maiores concentrações de produtos da degradação de sacarose nas amostras dos evaporadores (caldo do 1º, 2º e 3º efeito e xarope) do que no tratamento de caldo (caldo do decantador e caldo clarificado). Embora a temperatura de trabalho diminua ao longo dos evaporadores, o tempo com que o caldo de cana-de-açúcar fica no equipamento faz com que os parâmetros analisados aumentem.

Após a centrifugação, os cristais de açúcar (sacarose) foram separados do mel e, portanto possuem menores quantidades de melanoidinas. Foi realizado a correlação de Pearson da melanoidinas com os outros compostos provenientes da degradação térmica: AR, HMF e furfural e os respectivos valores foram: 0,962, 0,998 e 0,984.

Muito embora, as melanoidinas apresentem capacidade de quelar metais e reduzirem outros compostos, assim como os AR, acredita-se que não seja provável que haja problemas de diferenciação dos dois compostos pelos respectivos métodos colorimétricos. Isso porque o comprimento de onda de leitura utilizado na leitura em espectro é bem distinto (405 nm para o AR e 293.3 nm para os produtos finais da reação de Maillard). Além disso o alinhamento com as concentrações de HMF e furfural (determinados por um método não colorimétrico) indicam a ocorrência de degradação térmica de sacarose no caldo e, portanto, formação dos compostos citados.

4.2 Análise microbiológica

4.2.1 Contagem de bactérias mesófilas total

Constam na Tabela 12 e Figura 21, as populações de bactérias mesófilas ao longo do processo nos meses de outubro e novembro. Foi aplicado o Teste de Tukey, a 5%, para diferenciação entre as médias.

Tabela 12 – Número de unidade formadora de colônias (UFC) de bactérias mesófilas totais encontradas nos pontos do processo

Amostra	Mês	Dil	População
Moenda	Outubro	10000	$2,40 \times 10^5$ UFC/mL ^a
Clarificado	Outubro	10	$3,33 \times 10^1$ UFC/mL ^d
Xarope	Outubro	5000	$5,00 \times 10^3$ UFC/mL ^b
Secador	Outubro	500	$9,00 \times 10^2$ UFC/g ^c
Moenda	Novembro	5000	$7,96 \times 10^6$ UFC/mL ^a
Clarificado	Novembro	10	$1,29 \times 10^3$ UFC/mL ^c
Xarope	Novembro	500	$1,00 \times 10^3$ UFC/mL ^c
Secador	Novembro	500	$3,61 \times 10^4$ UFC/g ^b

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%)

Mesmo antes do plaqueamento das bactérias mesófilas, já havia a hipótese de uma contaminação bacteriana dado o baixo pH da amostra e alta concentração de AR (item 4.1.1). Os *Lactobacillus* são contaminantes de destaque na fabricação de açúcar e etanol e a capacidade de produzir ácido láctico pode influenciar na concentração de H⁺ do meio. Existem outras bactérias, como *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* e *B. polymyxa* que são produtoras de ácidos orgânicos como o acético, láctico e o butírico e que também podem ser os responsáveis pela acidez do caldo da moenda (GALLO, 1990; OLIVA-NETO, 1995).

A grande queda na concentração dos mesófilos totais nos decantadores justificam a teoria passada por operadores que uma das funções do aquecimento do caldo para temperaturas acima de 100°C durante o tratamento é atuar na eliminação de microrganismos, a qual está 30°C acima do máximo suportado por mesófilos. Tanto em outubro, como em novembro, as reduções foram próximas de 10.000 vezes. Nessa etapa, impurezas minerais que poderiam fornecer uma resistência aos contaminantes (JAY, 2005) estão sendo removidas através do lodo contribuindo para o controle.

Figura 21 – População, em log10 de UFC/mL ou UFC/g, de bactérias mesófilas totais ao longo das etapas de extração (moenda), clarificação (decantado), evaporação (xarope) e secagem (açúcar do secador); nos meses de outubro (a) e novembro (b). Etapas com as mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%).

No xarope, embora a matéria-prima tenha passado pelos evaporadores, onde a aplicação de altas temperaturas ainda é mais intensa, houve um aumento na contagem de bactérias no mês de outubro e a manutenção no mês de novembro. Existem duas hipóteses para esse fenômeno: (1) o xarope quando se dirige aos cozedores possui uma temperatura na faixa de 55°C o que está dentro da faixa de crescimento dos mesófilos (REIN, 2007; TORTORA et al. 2012) e (2) o teor de sólidos solúveis próximo dos 65°Brix aumenta o valor D dos contaminantes conforme é explicado no item 2.5.3, na Tabela 3. O valor acima do normal no mês de outubro, pode indicar uma contaminação externa nas tubulações que ligam o xarope ao cozedor.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2001), ao contrário do que ocorre com os açúcares branco tipo 1, 2, 3, e 4, o órgão não exige nenhum limite mínimo para a presença de mesófilos totais e bolores e leveduras em açúcar VHP. Esse tratamento dado de matéria prima para um produto de qualidade, retira a obrigatoriedade da indústria em tornar asséptico e controlar a contaminação do VHP. Portanto, a ocorrência de contaminação já nos secadores é considerável. Tendo como comparação o açúcar branco tipo 4, a quantidade máxima aceitável de mesófilas totais é de 50 UFC/g (ANVISA, 2001), em outubro o açúcar do secador superaria esse valor em 18 vezes e em novembro 72 vezes. O armazenamento inadequado sem controle da temperatura, umidade e de padrões fitossanitários podem levar a uma contaminação ainda maior do açúcar, como ocorre com a presença de contaminantes no açúcar mascavo (GENEROSO et al., 2009).

4.2.2 Contagem de fungos (bolores e leveduras)

Constam na Tabela 13 e na Figura 22, a contagem de fungos ao longo do processo durante os meses de outubro e novembro. Foi realizado o Teste de Tukey para diferenciação das médias.

Tabela 13 – Número de unidade formadora de colônias (UFC) de bolores e leveduras encontradas nos pontos do processo

Amostra	Mês	Dil	UFC
Moenda	Outubro	1000	$1,00 \times 10^4$ UFC/mL ^a
Clarificado	Outubro	10	$2,00 \times 10^0$ UFC/mL ^c
Xarope	Outubro	50	$5,00 \times 10^1$ UFC/mL ^c
Secador	Outubro	50	$2,68 \times 10^3$ UFC/g ^b
Moenda	Novembro	1000	$1,8 \times 10^5$ UFC/mL ^a
Clarificado	Novembro	10	$3,4 \times 10^1$ UFC/mL ^c
Xarope	Novembro	50	$2,00 \times 10^1$ UFC/mL ^c
Secador	Novembro	500	$3,00 \times 10^2$ UFC/g ^b

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%)

Na contagem dos fungos novamente foi observada uma redução drástica na quantidade de UFC/g entre a moenda e o caldo decantador, e uma subsequente estabilização no mês de novembro e subida em outubro. Isso indica, que o controle microbiológico realizado no mês de outubro nos decantadores foi mais eficiente, ou seja, os contaminantes que poderiam aumentar o valor D foram retirados pelo lodo ou mesmo as temperaturas foram melhor manejada. Além, disso na coleta realizada em novembro, a Usina A estava em seu último dia de safra e muitos equipamentos estavam prontos para terminarem a operação de 2014, aumentando a possibilidade de uma matéria prima de baixa qualidade ser processada somente para finalização do processo.

Os fungos podem produzir micotoxinas que são substâncias tóxicas a saúde humana, sendo alguns mutagênicos e carcinogênicos (JAY, 2005). Não há muito relatos de fungos capazes de produzirem micotoxinas associadas ao açúcar de cana no Brasil. Em levantamento realizado pelo Instituto Biológico apresentado por Gonzalez et al. (2001), de 728 amostras analisadas, somente uma foi de cana-de-açúcar e a mesma apresentação ocratoxina A na concentração de 11,7 ppb que é inferior a DL₅₀ dessa micotoxina que é de 20 a 22 mg/kg. As ocratoxinas são um grupo de ao menos sete metabólitos secundários hepatotóxicos e nefrotóxicos. Algumas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* são os responsáveis pela síntese do composto, como por exemplo o *A. mellus* e o *A. ochraceus*. (JAY, 2005). Todavia, a falta de higiene na condução dos açúcares VHP é um alvo vulnerável para uma possível contaminação mais grave.

Figura 22 – Quantidade em log₁₀ de UFC/mL ou UFC/g de fungos (bolores e leveduras) ao longo das etapas de extração (moenda), clarificação (decantado), evaporação (xarope) e secagem (açúcar do secador); nos meses de outubro (a) e novembro (b). Etapas com as mesmas letras não diferem entre si (Teste de Tukey, 5%).

5 CONCLUSÕES

Ao término do trabalho foi possível concluir que ao longo do processo ocorre degradação térmica de sacarose em especial nas etapas de tratamento de caldo e também de evaporação, locais onde a aplicação de temperatura é mais intensa. A alta correlação na concentração de açúcares redutores, HMF, furfural e melanoidinas, que são produtos da degradação térmica de sacarose, corroboram a conclusão. A taxa de inversão de sacarose (concentração de açúcares redutores dividido pela concentração de sacarose) apresentou um crescimento atípico ao longo da etapa de evaporação.

A queda na concentração de bactérias mesófilas totais e fungos após o tratamento do caldo é um ponto positivo. Todavia os altos valores encontrados no início do processo (moenda), após a evaporação e no produto final são preocupantes.

Considerando que investimento em equipamentos novos é algo fora da realidade financeira para a Usina A, deve-se trabalhar em aprimorar a operação do sistema já existente. Algumas medidas no campo podem ser tomadas como: (1) continuar buscando uma maior eficiência na colheita mecanizada, para que assim diminua a quantidade de impurezas que entram no processo, reduzindo a entrada de agentes formadores de incrustações. (2) Melhorar o planejamento de colheita contribuindo em uma uniformidade maior de matéria prima entregue, facilitando a padronização do processo. (3) Trabalhar na logística de entrega de matéria-prima evitando que falte cana-de-açúcar (algo potencializado na última safra com a seca e queda de produtividade) ou que haja um tempo muito grande entre o corte e processamento (agente causador de contaminação).

Já nas operações de dentro da indústria algumas práticas podem ser aprimoradas como: (1) evitar a recontaminação de micro-organismos após o tratamento térmico. (2) controle da pressão e temperatura aplicada nos evaporadores, evitando que o xarope fique por um longo período dentro do equipamento, (3) observar a possibilidade de contaminação que está havendo entre as etapas de evaporação e cristalização, uma vez que teoricamente o xarope não deveria estar ganhando contaminação após a evaporação. (3) avaliar se procedimentos utilizados por outras indústrias fora do setor de açúcar podem ser aplicados às usinas. O processo de fabricação de açúcar não evoluiu muito e mesmo literaturas antigas podem ainda ser consideradas.

REFERÊNCIAS

ADAMS, T.B.; DOULL, J.; GOODMAN, J.I.; MUNRO, I.C.; NEWBERNE, P.; PORTOGHESE, P.S.; SMITH, R.L.; WAGNER, B.M.; WEIL, C.S.; WOODS, L.A.; FORD, R.A. The FEMA GRAS assessment of furfural used as a flavour ingredient. Flavor and Extract Manufacturers' Association. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 35, n. 8, p. 739-751. 1997.

AGBLEVOR, F.A.; HAMES, B.R.; SCHELL, D.; CHUM, H.L. Analysis of biomass sugars using a novel HPLC method. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 136, n. 3, p. 309-326, 2007.

AGÊNCIA DE INFORMAÇÕES EMBRAPA. **Tipos de microrganismos**. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_182_21720039246.html>. Acesso em: 01 maio 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC nº12, de 02 de novembro de 2001**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES>. Acessado em: 03 ago. 2014.

ALTO ALEGRE. **Açúcar branco e VHP**. Disponível em: <http://www.altoalegre.com.br/produtos/acucar_cristal.aspx>. Acesso em: 13 jul. 2014.

AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. **Landmark Lesson Plan: Norbert Rillieux, Thermodynamics and Chemical Engineering**. Disponível em: http://www.acs.org/content/dam/acsorg/education/whatischemistry/landmarks/norbert_rillieux/rillieux-thermodynamics-engineering-landmark-lesson-plan.pdf. Acessado em: 16 ago. 2015.

ARAÚJO, F.A.D. Processos de clarificação do caldo de cana pelo método da bicarbonatação. **Revista Ciência & Tecnologia**, Recife, n. 1, p. 1-6, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR11246**: açúcar: contagem de bactérias mesófilas aeróbias (método I). Rio de Janeiro, 1988. 2 p.

BEKEDAM; E.K.; ROOS, E.; SCHOLS, H.A.; VAN BOEKEL, M.A.J.S.; SMIT, G. Low molecular weight melanoidins in coffee brew. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, p. 4060-4067, 2008.

BENEDINI, M.S.; BROD, F.P.R.; PERTICARRARI, J.G. **Perdas de cana e impurezas vegetais e minerais na colheita mecanizada**. Sertãozinho: CANAOESTE, 2009. 7 p.

BOVI, R.; SERRA, G.E. Impurezas fibrosas da cana-de-açúcar e parâmetros tecnológicos do caldo extraído. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 885-896, 1999.

BURGI, R. **Produção de bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum sp. L.*) autohidrolisado e avaliação de seu valor nutritivo para ruminantes**. 1985. 61 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1985.

CARDOSO, M.G. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: Editora UFLA, 2001. 264 p.

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

CLARKE, M.A.; LEGENDRE, R.B. Qualidade da cana-de-açúcar: Impactos no rendimento do açúcar e fatores da qualidade. **STAB. Açúcar, Álcool & Subprodutos**, Piracicaba, v. 17, n. 6, p. 36-40, 1999.

COOPERATIVA DE PRODUTORES DE CANA, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Manual de controle química da fabricação de açúcar**. Piracicaba, 2001. 36 p.

CORTEZ, L.; MAGALHÃES, P.; HAPPI, J. Principais subprodutos da agroindústria canavieira e sua valorização. **Revista Brasileira de Energia**, Itajubá, v. 2, n. 2, p. 1-17, 1992.

DAL-BEM, A.J.; KOIKE, G.H.A.; PASSARINI, L.C. Modelagem e simulação para o processo industrial de fabricação de açúcar e álcool. **Minerva: Pesquisa e Tecnologia**, São Carlos, v. 3, n. 1, p. 33-46, 2006.

DELFINI, P. Revisão da moenda. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO AGROINDUSTRIAL, 14., 2013, Ribeirão Preto. **A usina da superação: anais...** Disponível em <http://stab.org.br/seminario_14sba/04_paulo_delfini_30.pdf>. Acesso em: 01 jun. 2015.

DITCHFIELD, C. **Estudos dos métodos para a medida da atividade da água**. 2000. 146 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

DURMAZ, G.; GÖKMEN, V. Changes in oxidative stability, antioxidant capacity and phytochemical composition of *Pistacia terebinthus* oil with roasting. **Food Chemistry**, Oxford, v. 128, n. 2, p. 410–414, 2011.

EGGLESTONE, G.; MONGE, A. Minimization of seasonal sucrose losses across Robert's-type evaporator in raw sugar manufacture by pH optimization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, p. 6332-6339. 2005.

EGGLESTON, G.; VERCELLOTTI, J.; EDYE, L.; CLARKE, M. Effects of salts on the initial thermal degradation of concentrated aqueous solutions of sucrose. **Journal of Carbohydrate Chemistry**, Philadelphia, v. 15, n. 1, p. 81-94, 1996.

ENSINAS, A.V.; NEBRA, S.A. Design of evaporation systems and heaters networks in sugar cane. **International Journal of Thermodynamics**, Istanbul, v. 10, n. 3, p. 97-105, 2007.

ERAZO, C.C. **Remoción de melanoidinas sintéticas mediante electrocoagulación**. 2012. 50 p. Monografía (Proyecto de Grado) – Facultad de Ingeniería – Universidad del Valle, Santiago de Cali, 2012.

FIGUEIREDO, I.C.; MACIEL, B.F.; MARQUES, M.O. A qualidade da cana-de-açúcar como matéria-prima para a produção de álcool. **Nucleus**, Ituverava, p. 82-92, 2008. Edição Especial.

FINGUERUT, J. Evolução das impurezas na matéria-prima. In: WORKSHOP SOBRE LIMPEZA DA CANA CRUA E QUALIDADE DA MATÉRIA-PRIMA, 1., 2014. **Anais eletrônicos...** Piracicaba: STAB, 2014. Disponível em: <http://www.stab.org.br/palestra_ws_limpeza_da_cana/JAIME_FINGUERUT.pdf> Acesso em: 03 fev. 2015.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2006. 182 p.

GALLO, C.R. **Determinação da microbiota bacteriana de mosto e de dornas de fermentação alcoólica**. 1990. 338 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) — Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1990.

GAVA, A.J. Métodos de conservação de alimentos. In: _____. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1984. p. 129-139.

GENEROSO, W.C.; BORGES, M.T.M.R.; CECCATO-ANTONINI, S.R.; MARINO, A.L.F.; SILVA, M.V.M.; NASSU, R.T.; VERRUMA-BERNARDI, M.R. Avaliação microbiológica e físico-química de açúcares mascavo comerciais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 259-268, 2009.

GODOY, O.P.; TOLEDO, F.F. **Plantas extrativas**: cana-de-açúcar, amendoim, girassol, mamona, mandioca, soja. Piracicaba: ESALQ, 1972. v. 1, 352 p.

GUY, C.L.; HUBER, J.L.A.; HUBER, S.C. Sucrose phosphate synthase and sucrose accumulation at low temperature. **Plant Physiology**, Rockville, v. 100, n. 1, p. 502-508, 1992.

HODGE, J.E. Chemistry of browning reactions in models systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 1, n. 15, p. 928-943, 1953.

HUANG, X.S.; DUAN, H.Y.; BARRINGER, S.A. Effects of buffer and temperature on formation of furan, acetic acid and formic acid from carbohydrate model systems. **Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v. 44, n. 8, p. 1761-1765, 2011.

HUGOT, E. **Handbook of cane sugar engineering**. Amsterdam: Elsevier, 1986. 1166 p.

HUSOY, T.; HAUGEN, M.; MURKOVIC, M.; JOBSTIL, D.; STOLEN, L.H.; BJELLAS, T.; RONNINGBORG, C.; GLATT, H.; ALEXANDER J. Dietary exposure to 5-hydroxymethylfurfural from Norwegian food and correlations with urine metabolites of short-term exposure. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, n. 12, p. 3697-3702, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro, 2014. v. 28, n. 12, 88 p.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. **Informação ao consumidor: açúcar**. 1999. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/acucar.asp>>. Acesso em: 14 jan. 2014.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications**. Toronto: University of Toronto, 1986. 278 p. (Microorganisms in Foods, 2).

_____. **Microbial ecology of food commodities**. New York: Kluwer Academic; Plenum, 2005. 736 p. (Microorganisms in Foods, 6).

IVIN, P.C.; DOYLE, C.D. Some measurements of the effect of tops and trash on cane quality. In: AUSTRALIAN SOCIETY OF SUGAR CANE, 11., 1989, Brisbane. **Proceedings...** Brisbane: Watson Ferguson, 1989. p. 1-7.

JADOSKI, C.J.; BRAGANTI, E.V.T.; JULIANETTI, A.; HULSHOF, T.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. Fisiologia do desenvolvimento do estágio vegetativo da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Natal, v. 3, n. 2, p. 169-176, 2010.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

KABEL, M.A.; BOS, G.; ZEEVALKING, J.; VORAGEN, A.G.J.; SCHOLS, H.A. Effect of pretreatment severity on xylan solubility and enzymatic breakdown of the remaining cellulose from wheat straw. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 98, n. 10, p. 2034-2042, 2007.

KAVOUSHI, P.; MIRHOSSEINI, H.; GHAZALI, H.; ARIFFIN, A.A. Formation and reduction of 5-hydroxymethylfurfural at frying temperature in model system as a function of amino acid and sugar composition. **Food Chemistry**, Oxford, v. 182, p. 164-170, 2015.

KROES, S.; HARRIS, H.D. Knockdown causes major damage to cane during harvesting. In: AUSTRALIAN SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS CONFERENCE, 18., 1996, Mackay. **Proceedings...** Brisbane: Watson Ferguson, 1996. p. 137-144.

LANDELL, M.G.A.; CAMPANA, M.P.; RODRIGUES, A.A.; CRUZ, G.M.; BATISTA, L.A.R.; FIGUEIREDO, P.; SILVA, M.A.; BIDOIA, M.A.P.; ROSSETTO, R.; MARTINS, A.L.M.; GALLO, P.B.; KANTHACK, R.A.D.; CAVICHIOLI, J.C.; VASCONCELOS, A.C.M.; XAVIER, M.A. A variedade IAC86-2480 como nova opção de cana-de-açúcar para fins forrageiros: manejo de produção e uso na alimentação animal. **Boletim Técnico IAC**, Campinas, n. 193, p. 36, 2002.

LANGNER, E.; RZESKI, W. Biological properties of melanoidins: a review. **International Journal of Food Properties**, Philadelphia, v. 17, p. 344-353, 2014.

LOPES, C.H. Segue a batalha pelo açúcar branco de qualidade. **Jornal Cana**, Ribeirão Preto, p. 62, nov. 2008. Disponível em: <http://www.inovatronic.com.br/FOLHETOS_PDF/JORNAL%20DA%20CANA.pdf> Acesso em: 01 dez. 2013.

LOPES, C.H.; BORGES, M.T.M.R. **Produção de açúcar mascavo, rapadura e melado de cana**. Araras: SEBRAE, 1998. 44 p.

MACIEL, J.F. **Antagonismo de culturas lácticas associadas em cana-de-açúcar sobre *Gluconacetobacter diazotrophicus***. 2001. 62p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2001.

MACHADO, F.B.P. Brasil, a doce terra – História do Setor. **Procana.com**, Ribeirão Preto, p.8, 2003. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/historia_da_cana_000fhc62u4b02wyiv80efhb2attuk4ec.pdf> Acesso em: 10 ago. 2015.

MAGALHÃES, P.S.G.; BRAUNBECK, O.A. Colheita de cana-de-açúcar: atualidade e perspectiva. In: BAUBUENA, R.H.; BENEZ, S.H.; JORIARURIA, D. **Ingeniería Rural y Mecanización Agrária en el Ámbito Latinoamericano**, La Plata, v. 1, p. 262-273, 1998.

MALDONADE, I.R.; CARVALHO, P.G.B.; FERREIRA, N.A. **Protocolo para determinação de açúcares em hortaliças pelo método de DNS**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013. 4 p. (Comunicado Técnico, 85).

MANTELATTO, P.E. **Estudo do processo de cristalização de soluções puras de sacarose de cana-de-açúcar por resfriamento**. 235 p. 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Centro de Ciências Exatas e Tecnologia - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005.

MARQUES, M.O.; MARQUES, T.A.; TASSO JÚNIOR, L.C. **Tecnologia do açúcar: produção e industrialização da cana-de-açúcar**. Jaboticabal: FUNEP, 2001. 170 p.

MARTINS, S.I.F.S.; JONGEN, W.M.F., VAN BOEKEL, M.A.J.S. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. **Food Science & Technology**, London, v. 11, n. 9/10, p. 364-373, 2001.

MEADE, G.P.; CHEN, J.C.P. **Meade-Chen cane sugar handbook**: a manual for cane sugar manufacturers and their chemists. 10th ed. New York: John Wiley, 1977. 947 p.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, p. 426-428, 1959.

MINGUETTI, F.F. **Influência do cultivo na qualidade de cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*) e do açúcar mascavo**. 2012. 76 p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Araras, 2012.

MONAKHOVA, Y.B.; LACHENMEIER, D.W. The margin of exposure of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in alcoholic beverages. **Environmental Health and Toxicology**, Yongin and Cheonan, v. 27, p. 2012-2016, 2012.

MÓNICA, C.; GARCÍA, M.T.; GONZÁLEZ G., MAR P.; JORGE A.G.J. A. Study of colored components formed in sugar beet processing. **Food Chemistry**, Oxford, v. 86, p. 421–433, 2004.

MORAES, E.E. **Avaliação das perdas invisíveis de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) e impurezas vegetais na colheita mecanizada**. 1992. 124 p. Dissertação (Mestrado em Máquinas Agrícolas) - Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1992.

MOZAMBANI, A.E.; PINTO, A.S.; SEGATO, S.V.; MATTIU, C.F.M. História de morfologia da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S.V.; SENE, A.P. de; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J.C.M. de. (Org.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP2, 2006. p. 11-18.

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM. **Toxicology and carcinogenesis studies of 5-(hydroxymethyl)-2-furfural (CAS No. 67-47-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies)**. Disponível em: <<http://ntp.niehs.nih.gov/?objectid=793A39F7-F1F6-975E-761D9DAC33E41B3F>>. Acesso em: 05 maio 2015.

NAVES, P. Contaminação microbiana nas etapas de processamento e sua influência no rendimento fermentativo em usina alcooleira. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 6, n. 11, p. 1-16, 2010.

NAZATO, C.; SILVA, D.F.C.; FERRAZ, S.C.U.; HARDER, M.N.C. Moenda x difusor: diferentes pontos de vista sobre o assunto. **Bioenergia em Revista: Diálogos**, Piracicaba, v. 1, n. 1, p. 129-139, 2011.

NEVES, J.L.M.; MAGALHÃES, P.S.G.; MORAES, E.E.; ARAÚJO, F.V.M. Avaliação de perdas invisíveis na colheita mecanizada em dois fluxos de massa de cana-de-açúcar. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal v. 26, n. 3, p. 787-794, 2006.

NEVES, M.F.; TROMBIN, V.G. **A dimensão do setor sucroenergético: mapeamento e quantificação da safra 2013/2014**. Ribeirão Preto: Markestrat; FUNDACE; USP, FEA-RP, 2014. 45 p.

NOVACANA. **Usinas brasileiras endividadas terão ano difícil, projetam Fitch e S&P.** Disponível em: <<http://www.novacana.com/n/industria/financeiro/usinas-endividadas-ano-dificil-fitch-sp-110215/>>. Acesso: 23 fev. 2015.

OLIVA-NETO, P. **Estudo de diferentes fatores que influenciam o crescimento da população bacteriana contaminante da fermentação alcoólica por leveduras.** 1985. 183 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.

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

PACHECO, C.R.F. A complexidade de transferência do calor contada pelo evaporador Roberts. **Química e Derivados**, São Paulo, n. 496, p. 54-60, abr. 2010.

PARAZZI, C.; JESUS, D.A.; LOPES, J.C.; VALSECHI, O.A. Análises microbiológicas do açúcar mascavo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 3, p. 32-40, 2009.

PEREIRA, R.C. **Ensilagem e fenação do bagaço de cana-de-açúcar proveniente da produção de cachaça.** 2006. 202 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

PRATI, P. **Desenvolvimento de processo de estabilização de caldo de cana adicionado de sucos de frutas ácidas.** 2004. 169 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

RAMONAYTYTĖ, D.T.; KERSIENE, M.; ADAMS, A.; TEHRANI, K.A.; KIMPE, N.D. The interaction of metal ions with Maillard reaction products in a lactose–glycine model system. **Food Research International**, Amsterdam, v. 42, p. 331-336, 2009.

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

REIN, P.W. **Cane sugar engineering.** Berlin: Bartens, 2007. 768 p.

RIBEIRO, P.R.; CARVALHO, J.R.M.; GERIS, R.; QUEIROZ, V.; FASCIO, M. Furfural – da biomassa ao laboratório de química orgânica. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 5, p. 1046-1051, 2012.

RIVERS, D.B.; GRACHECK, S.J.; WOODFORD, L.C.; EMERT, G.H. Limitations of DNS Assay for Reducing Sugar from Saccharified Lignocellulosic. **Biotechnology and Bioengineering**, New Jersey, v. 26, p. 800-802, 1984.

ROBERTSON, M.J.; MUCHOW, R.C.; WOOD, A.W.; CAMPBELL, J.A. Accumulation of reducing sugars by sugarcane: effects of crop age, nitrogen supply and cultivar. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 49, p. 39-50, 1996.

ROCHA, G.J.M.; SILVA, F.T.; CURVELO, A.A.S.; ARAUJO, G.T. A fast and accurate method for determination of cellulose and polyoses by HPLC. In: BRAZILIAN SYMPOSIUM ON CHEMISTRY OF LIGNINS AND OTHER WOOD COMPONENTS, 5., 1997, Curitiba. **Proceedings...** Belo Horizonte: UFV, 1997. v. 6, p. 3-8.

ROZA, D. O caminho da cana: o processo de transformação da cana-de-açúcar ensina importantes lições sobre o aproveitamento total de recursos. **Weg em Revista**, Jaraguá do Sul, v. 7, n. 53, p. 1-20, 2008.

SANTOS, C.P.; FERREIRA, A.F.N.; CARVALHO, I.F.; CARVALHO, M.L.L. Avaliação preliminar da qualidade microbiológica do caldo de cana consumido na cidade de Tangará da Serra-MT. In: CONGRESSO INTERNO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNEMAT, 5., 2009, Cáceres. **Resumo expandido...** Cáceres: UNEMAT, 2009. p. 1-4.

SARTORI, J.A.S. **Cinética química do decaimento de cor ICUMSA de caldo de cana-de-açúcar por reação de oxidação com peróxido de hidrogênio em reatores de fase homogênea**. 2013. 111 p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Cadeia produtiva da indústria sucroalcooleira: cenários econômicos e estudos sociais**. Recife, 2008. 52 p.

SINEGANI, A.A.S.S.; EMTIAZI, G. The relative effects of some elements on DNS method in cellulase assay. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, Port Harcourt, v. 10, n. 3, p. 93-96, 2006.

SINGH, S.; DUBEY, A.; TIWARI, L.; VERMA, A.K. Microbial profile of stored jiggery: a traditional Indian sweetener. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 11, n. 2, p. 213-216, 2009.

SOUZA, R.B.; MENEZES, J.A.S.; DE SOUZA, R.D.R.; DUTRA, E.D.; MORAIS, M.A. Mineral composition of the sugarcane juice and its influence on the ethanol fermentation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 175, e. 1, p. 209-222, 2015.

SPENCER, G.L. **Manual de fabricantes de açúcar de cana e químicos açucareros**. 7. ed. New York: John Wiley, 1932. 617 p.

STUPIELLO, J.P. A cana-de-açúcar como matéria-prima. In: PARANHOS, S.B. **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 30-51.

TEHRANI, K.A.; KERSIENE, M.; ADAMS, A.; VENSKUTONIS, R.; KIMPE, N. Thermal degradation studies of glucose/glycine melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 4062-4068; 2002.

TEIXEIRA, R.S.S.; SILVA, A.S.; FERREIRA-LEITÃO, V.S.; BOM, E.P.S. Amino acids interference on the quantification of reducing sugars by the 3,5-dinitrosalicylic acid

assay mislead carbohydrase activity measurements. **Carbohydrate Research**, Oxford, v. 363, p. 33-37, 2012.

THAI, C.C.D.; BAKIR, H.; DOHERTY, W.O.S. Insights to the clarification of sugar cane juice expressed from sugar cane stalk and trash. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 60, p. 2916-2923; 2012.

TILBURY, R.H. Occurrence and effects of lactic acid bacterium in the sugar industry. In: CARR, J.G.; CUTTING, C.V.; WHITING, G.C. **Lactic acid bacteria in beverages and food**. London: Academic Press, 1975. p. 177-191.

TOPPA, E.V.; JADOSKI, C.J.; JULIANETTI, A.; HULSHOF, T.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. Aspectos da fisiologia de produção da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Natal, v. 3, n. 3, p. 215-221, 2010.

TORTORA, J.G.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Eucariotos: fungos, algas, protozeários e helmintos. In: _____. **Microbiologia**. 10. ed. Tradução de A.M. Silva et al. Porto Alegre: ARTMED, 2012. p. 329-366.

ULBRICHT, R.J.; NORTHUP, S.J.; THOMAS, J.A. A review of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in parenteral solutions. **Fundamental and Applied Toxicology**, San Diego, v. 4, n. 5, p. 843-853, 1984.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR. **Quebra agrícola e redução da moagem promovem perda de receita superior a R\$ 3 bilhões na safra 2014/2015**. São Paulo, 2014. Disponível em: <<http://www.unicadata.com.br/listagem.php?idMn=80>> Acesso em: 24 fev. 2015.

UNIÃO DOS PRODUTORES DE BIOENERGIA. **O que é pol e brix?** Disponível em: <<http://www.udop.com.br/index.php?item=noticias&cod=26085>> Acesso em: 08 maio 2015.

VALSECHI, O.A. **Efeito da radiação microondas sobre *Lactobacillus fermentum*; linhagens CCT 4143, CCT 4144, CCT 4145 e FT038B**, 2005. 111 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro, 2005.

VAN BOEKEL, M.; FOGLIANO, V.; PELLEGRINI, N.; STANTON, C.; SCHOLZ, G.; LALLJIE, S.; SOMOZA, V.; KNORR, D.; JASTI, P.R.; EISENBRAND, G. A review on the beneficial aspects of food processing. **Molecular Nutrition & Food Research**, Hoboken, v. 54, n. 9, p. 1215-1247, 2010.

VAN DER POEL, P.W.; SCHIWECK, H.; SCHWARTZ, T. **Sugar technology: beet and cane sugar manufacture**. Denver: Verlag Dr. Alberts Bartens KG, 1998. 1118 p.

VERRUMA-BERNARDI, M.R.; BORGES M.T.M.R.; LOPES, C.H.; DELLA-MODESTA, R.C.; CECCATO ANTONINI, S.R. Avaliação microbiológica, físico-química e sensorial de açúcares mascavos comercializados na cidade de São

Carlos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 10, n. 3, p. 205-211, 2007.

VETORAZZI, G.; MACDONALD, I. **Sacarose**: aspectos nutricionais e de segurança no uso de açúcar. São Paulo: Hucitec, 1989. 226 p.

VIDAL, M.F.; SANTOS, J.A.N.; SANTOS, M.A. Setor sucroalcooleiro no nordeste brasileiro: estruturação da cadeia produtiva, produção e mercado. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 44., 2006, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SOBER, 2006. p. 1-18.

WACLAWOVSKY, A.J.; SATO, P.M.; LEMBKE, C.G.; MOORE, P.H.; SOUZA, G.M. Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. **Plant Biotechnology Journal**, Hoboken, v. 8, p. 263-276, 2010.

WANG, T. **Catalytic conversion of glucose to 5-hydroxymethylfurfural as a potential bio renewable platform chemical**. 2014. 206 p. Thesis (PhD) - Iowa State University, Ames, 2014.

WEBER, H.; DAROS, E.; ZAMBON, J.L.C.; IDO, O.T.; BARELA, J.D. Recuperação da produtividade de soqueiras de cana-de-açúcar com adubação NPL. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 2, n. 1/2, p. 73-77, 2001

WOO, K.S.; HWANG, I.G.; LEE, Y.R.; LEE, J.; JEONG, H.S. Characteristics of sucrose thermal degradation with high temperature and high pressure. **Food Science and Biotechnology**, Seoul, v. 18, p. 717-723, 2009.

YU, J.; CHOU, C.C.; SASKA, M. **The behavior of invert sugar in sugar processing**. Montreal: Technical Proceeding of the Sugar Industry Technologists, 2011. 26 p. Disponível em: <http://www.esugartech.com/SIT_2011_Behavior_of_Invert_Sugar_in_Sugar_Processing.pdf>. Acesso em: 03 jul. 2014.

ZHANG, Y.Y.; SONG, Y.; HU, X.S.; LIAO, X.J.; NI, Y.Y.; LI, Q.H. Effects of sugars in batter formula and baking conditions on 5-hydroxymethylfurfural and furfural formation in sponge cake models. **Food Research International**, Amsterdam, v. 49, n. 1, p. 439-445, 2012.