

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

**Efeito da enzima  $\alpha$ -amilase na etapa de clarificação do caldo de  
cana-de-açúcar**

**Iara Luiza Tassim Françoso**

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência e  
Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba  
2013**

Iara Luiza Tassim Françoso  
Bacharel em Ci4ncias dos Alimentos

**Efeito da enzima  $\alpha$ -amilase na etapa de clarificação do caldo de  
cana-de-açúcar**

Orientador:  
Prof. Dr. **ANDRÉ RICARDO ALCARDE**

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestra em Ci4ncias. rea de concentração: Ci4ncia e  
Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba  
2013**

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

Françoso, Iara Luiza Tassim

Efeito da enzima  $\alpha$ -amilase na etapa de clarificação do caldo de cana-de-açúcar / Iara Luiza Tassim Françoso. - - Piracicaba, 2013.  
107 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.  
Bibliografia.

1. Amido 2. Caldo caçado 3. EDTA 4. Clarificação do caldo I. Título

CDD 664.122  
F825e

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

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Elio e Sueli,

**DEDICO.**



## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, por toda força, sabedoria e pela oportunidade de realização deste trabalho.

À minha família, especialmente aos meus pais, Elio e Sueli, pelo grande exemplo, por todos os ensinamentos, incentivo e apoio incondicional; ao meu irmão Carlos Eduardo, à minha cunhada Mirtô e a toda minha família.

Agradeço ao meu namorado Mayco pela paciência, incentivo, compreensão e companheirismo durante todo o período de desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Dr. André Ricardo Alcarde pela oportunidade e orientação.

À professora Dra. Sandra Helena da Cruz pelo incentivo, apoio e grande colaboração;

Ao Prof. Dr. Urgel de Almeida Lima pelo exemplo, generosidade e por todos os ensinamentos.

À Usina Ipiranga de Açúcar e Álcool S.A pelo fornecimento das amostras de caldo de cana e pela oportunidade de realização deste trabalho, em especial aos Srs. Edílson, Ivandir, Tassim, Sérgio, Wagner, João Roberto e a todos os colegas do laboratório de controle de qualidade.

À empresa Prozyn Biosolutions pelo fornecimento das enzimas e pela parceria na realização deste trabalho, em especial ao Rafael, a Carolina e ao Nei.

Aos colegas do Laboratório de Açúcar e Álcool do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, pela amizade, momentos de descontração e auxílio na realização deste trabalho: Lethícia, Aline, Ana Carolina, Patrícia, Diogo, Giovanni, Luís, Cintra e Ellen.

A todos os funcionários e técnicos do setor de Açúcar e Álcool, em especial a Rosemary, ao Silvino e Pedrinho por todo o auxílio concedido.

A todos os amigos pela força, incentivo, compreensão e pela amizade.

Aos membros da banca examinadora pela contribuição.

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

Aos funcionários do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição.

E por fim, a todos os que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.



## EPÍGRAFE

*"Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível e, de repente, você estará fazendo o impossível".*

São Francisco de Assis.



## SUMÁRIO

RESUMO .....	11
ABSTRACT .....	13
LISTA DE FIGURAS .....	15
LISTA DE TABELAS .....	17
1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	21
2.1 CANA-DE-AÇÚCAR .....	21
2.1.1 Composição tecnológica da cana-de-açúcar.....	22
2.1.2 Constituintes do caldo de cana .....	24
2.1.2.1 Açúcares presentes no caldo.....	25
2.1.2.2 Ácidos Orgânicos .....	27
2.1.2.3 Compostos Nitrogenados.....	27
2.1.2.4 Ceras e Lipídeos .....	28
2.1.2.5 Corantes .....	29
2.1.2.6 Compostos inorgânicos.....	29
2.1.2.7 Polissacarídeos .....	30
2.2 ETAPAS DE PRODUÇÃO DO AÇÚCAR .....	31
2.2.1 Operações preliminares .....	32
2.2.2 Recepção, preparo e extração do caldo de cana-de-açúcar .....	33
2.2.3 Sistema de clarificação do caldo de cana-de-açúcar .....	36
2.2.3.1 Calagem ou defecação Simples .....	38
2.2.3.2 Sulfodefecação.....	39
2.2.3.3 Aditivos para auxiliar na clarificação do caldo-de-cana .....	40
2.2.3.4 Adição de enzimas para auxiliar na etapa de clarificação .....	41
2.2.3.5 Aquecimento do caldo .....	41
2.2.3.6 Decantação.....	41
2.2.4 Concentração do caldo .....	43
2.2.5 Centrifugação.....	43
2.2.6 Etapas finais de processo.....	44
2.3 TIPOS DE AÇÚCAR .....	44
2.4 AMIDO NA CANA-DE-AÇÚCAR.....	49
2.4.1 Síntese de amido.....	49
2.4.2 Estrutura do amido .....	51
2.4.3 Problemas causados pelo amido na fabricação do açúcar .....	52
2.4.4 Utilização de enzimas na redução do teor de amido .....	56
2.4.4.1 Alfa amilases .....	57
2.4.4.2 Residual de alfa amilase no açúcar.....	58
2.4.4.3 Estabilidade da enzima .....	59
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	61
3.1 MATERIAIS .....	61
3.2 METODOLOGIA .....	61
3.2.1 Coleta do caldo de cana.....	61
3.2.2 Avaliação dos parâmetros tecnológicos do caldo de cana-de-açúcar.....	64
3.2.3 Análise do teor de sólidos solúveis totais (SST) .....	64

3.2.4 Determinação da polarização (Pol) .....	65
3.2.5 Determinação da acidez .....	66
3.2.6 Determinação do pH .....	66
3.2.7 Determinação da Pureza.....	67
3.2.8 Efeito do tempo de retenção do caldo caleado, na composição de açúcares. ....	67
3.2.9 Análises de açúcares por cromatografia.....	69
3.2.10 Determinação do teor de amido .....	69
3.2.11 Ação da enzima na redução do amido na etapa de clarificação do caldo e do EDTA na estabilidade da enzima. ....	69
3.2.12 Determinação de açúcares redutores .....	71
3.2.13 Determinação de $\alpha$ -amilase no caldo .....	71
3.2.14 Análise estatística.....	71
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	73
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR IN NATURA .....	73
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO CALDO DE CANA CALEADO .....	77
4.3 TEOR DE AÇÚCARES DO CALDO DE CANA CALEADO.....	78
4.4 TEOR DE AMIDO NO CALDO CANA-DE-AÇÚCAR IN NATURA.....	82
4.5 AÇÃO DA ENZIMA NA REDUÇÃO DO AMIDO NA ETAPA DE CLARIFICAÇÃO DO CALDO E DO EDTA NA ESTABILIDADE DA ENZIMA. ....	83
4.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE RESIDUAL DA A-AMILASE NO CALDO DE CANA .....	88
5 CONCLUSÕES .....	91
REFERÊNCIAS .....	93
ANEXO .....	105

## RESUMO

### **Efeito da enzima $\alpha$ -amilase na etapa de clarificação do caldo de cana-de-açúcar**

Um dos grandes desafios para as indústrias sucroenergéticas está relacionado com a presença de polissacarídeos, como o amido e a dextrana, no caldo de cana-de-açúcar. Esses compostos causam diversos problemas durante o processamento da cana afetando a qualidade do produto final. As enzimas amilases e dextranases estão sendo empregadas com o objetivo de diminuir o teor desses polissacarídeos no caldo, entretanto, existem restrições quanto à utilização das enzimas no processo devido a possível atividade residual no produto final. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a utilização da enzima alfa amilase na redução do teor de amido na etapa de clarificação do caldo e o efeito da adição de EDTA na inibição da atividade enzimática. Amostras de caldo de cana caaleado foram submetidas às diferentes condições de tempo de retenção e temperaturas (20, 40 ou 60 minutos a 75°C e por mais 120 minutos a 95°C), para avaliar o efeito dessas condições na composição de açúcares. Não foram observadas diferenças significativas nos teores de sacarose, bem como não houve aumento nos teores de açúcares redutores das amostras que permaneceram durante os períodos de 20 e 40 minutos a temperatura 75°C e por mais 120 minutos a 95°C, em relação ao tratamento controle. A enzima utilizada no experimento foi a Starmax E01, enzima termotolerante que foi dosada na concentração de 2ppm nas condições da etapa de clarificação. No experimento que avaliou o efeito da aplicação da enzima, na redução do teor de amido no caldo e a adição do EDTA para inativação da mesma, foi observado que a Starmax E01 foi eficiente na redução do amido, houve redução de 52 e 36% nas amostras avaliadas. Entretanto o EDTA na concentração de 1% não foi efetivo na inibição da enzima, pois não foram observadas diferenças estatísticas na concentração de amido entre as amostras em que foram adicionados EDTA e a que foi dosada somente a enzima. O teor médio de amido nas amostras analisadas foi de 1141 mg/Kg%Brix. Na análise para determinar a presença de atividade residual das enzimas nas amostras após o término do experimento, foi verificado que as enzimas ainda estavam ativas, podendo permanecer como residual em méis e açúcares. Os resultados obtidos são baseados em experimentos realizados em laboratório, simulando as condições do processo, entretanto, as condições encontradas na rotina da usina, são mais complexas. Novos estudos devem ser realizados para otimização da aplicação da enzima de forma a evitar os problemas causados pelo amido no processo e no açúcar bem como a presença de residuais de enzimas no produto final.

Palavras - chaves: Amido; Caldo caaleado; EDTA; Clarificação do caldo



## ABSTRACT

### Effect of the enzyme $\alpha$ - amylase in clarification of sugarcane juice

A major challenge for sucroenergetic industries is related to the presence of polysaccharides, such as starch and dextran in sugar cane. These compounds cause several problems during the processing of sugar affecting the quality of the final product. The enzymes amylase and dextranases are being employed in order to reduce the level of these polysaccharides in the sugar cane juice; however, there are restrictions on the use of enzymes in the process due to possible residual activity in the final product. This study aimed to evaluate the use of the enzyme alpha amylase in reducing the starch content in the juice clarification step and the effect of addition of EDTA on the inhibition of enzyme activity. Samples of limed sugar cane juice were subjected to different conditions of temperature and retention time (20, 40 or 60 minutes at 75 ° C for a further 120 minutes at 95 °C) to evaluate the effect of these conditions on sugar composition . No significant differences were observed in levels of sucrose , as well as no increase in the reducing sugar content of the samples remained during the period 20 to 40 minutes at temperature 75 ° C and for a further 120 minutes at 95 ° C compared to control treatment . The enzyme used in the experiment was the Starmax E01, thermo tolerant enzyme that was measured at a concentration of 2 ppm in terms of clarification step. In experiment evaluated the effect of the enzyme in the reduction of starch in the juice and addition of EDTA to inactivate the same , it was observed that the Starmax E01 was effective in reducing starch, a reduction of 52 to 36% in samples evaluated . However the EDTA concentration of 1 % was not effective in inhibiting the enzyme , since there were no statistical differences in starch concentration between samples where EDTA were added and it was measured only the enzyme . The average content of starch in the samples was 1.141 mg/ Kg % Brix. In the analysis to determine the presence of residual enzyme activity in the samples after the experiment, it was found that the enzymes were still active and may remain as residual in sugars and honeys. The results are based on experiments conducted in the laboratory, simulating the conditions of the process, however, the conditions found in routine of a plant, are more complex. Further studies should be performed to optimize the application of the enzyme to avoid the problems caused by starch in the sugar production as well as the presence of residual enzyme in the final product.

Keywords: Starch; Limed juice, EDTA; Juice clarification



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Composição Tecnológica da cana-de-açúcar.....	23
Figura 2 - Reação de condensação e formação da sacarose .....	25
Figura 3 - Reação de inversão da sacarose .....	26
Figura 4 – Fluxograma simplificado de produção de açúcar.....	32
Figura 5 - Extração do caldo de cana-de-açúcar por moagem .....	35
Figura 6 - Clarificação do caldo de cana-de-açúcar .....	38
Figura 7 - Tipos de açúcar .....	45
Figura 8 - Polímeros de glicose presentes no amido: amilose (A) e amilopectina (B) .....	51
Figura 9 - Grânulos de amido de cana-de-açúcar (a), amido de batata (b), amido de mandioca (c) e amido de milho (d) (aumento 1000x).....	52
Figura 10 - Solubilização e gelatinização do amido durante o processamento da cana nas usinas.....	53
Figura 11 - Hidrólise do amido com alfa amilase .....	58
Figura 12 - Estrutura do Ácido Etilenodiaminotetra-acético (EDTA) .....	60
Figura 13 – Fluxograma do setor de tratamento do caldo com identificação do ponto de coleta da amostra.....	63
Figura 14 – Ampliação do processo de tratamento do caldo e identificação do ponto de coleta da amostra.....	64
Figura 15 – Esquema dos tratamentos realizados para avaliação do efeito das condições do processo no teor de açúcares no caldo.....	68
Figura 16 – (A) Brix, pol, (B) pureza e (C) acidez sulfúrica do caldo de cana <i>in natura</i> durante a safra 2012/2013 .....	75
Figura 17 – (A) Brix, pol, (B) pureza e (C) acidez sulfúrica do caldo de cana <i>in natura</i> durante a safra 2013/2014 .....	76
Figura 18 – Valores de pH do caldo caado obtidos na safra de 2012 (A) e nos meses de abril a setembro de 2013 (B) .....	78
Figura 19 – Perfil cromatográfico dos açúcares do caldo de cana determinados por Cromatografia de Troca Iônica de Alto Desempenho com detecção por Amperometria Pulsada (HPAE-PAD).....	79
Figura 20 – Teores de amido nos caldos de cana-de-açúcar <i>in natura</i> colhidas mecanicamente (canas picada) e da canas colhidas manualmente (canas inteira) durante o período de maio a junho da safra 2013/2014 .....	83

- Figura 21 – Teor de amido nas amostras de caldo caleado sem tratamento (1) e após tratamento com enzima (2); enzima e EDTA no tempo zero (3); 30 (4) ou 60 minutos (5)..... 85
- Figura 22 – Atividade residual de  $\alpha$ -amilase, avaliada em termos de viscosidade, no caldo caleado sem tratamento (1) e após tratamento com enzima (2); enzima e EDTA, no tempo zero (3); 30 (4) ou 60 minutos (5)..... 88

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação Taxonômica antiga e atual da cana-de-açúcar .....	21
Tabela 2 – Composição de sólidos solúveis no caldo de cana-de-açúcar .....	25
Tabela 3 - Exportação Anual de Açúcar por Estado Brasileiro (Toneladas).....	48
Tabela 4 - Ranking de Exportação de Açúcar por Estado na Safra 2012/2013 (em toneladas) .....	48
Tabela 5 - Comparativo mensal das exportações brasileiras por destino - valores acumulados de abril a março da safra 2012/2013 .....	49
Tabela 6 – Tratamentos utilizados em cada amostra de caldo de cana caçado .....	67
Tabela 7 – Tratamentos utilizados para avaliação da estabilidade da enzima com a aplicação de EDTA.....	70
Tabela 8- Comparação dos resultados analíticos da caracterização do caldo de cana-de-açúcar <i>in natura</i> , obtidos na safra de 2012, no período do experimento e nos meses de abril a setembro da safra de 2013 .....	73
Tabela 9 - Resultados analíticos da caracterização do caldo de cana caçado, obtidos na safra de 2012, no período do experimento e nos meses de abril a setembro da safra de 2013 .....	77
Tabela 10 – Teor de glicose, frutose, AR e sacarose, em g/L, obtidos em caldos submetidos aos diferentes tempos e temperaturas por HPAE-PAD.....	80
Tabela 11 – Resultados obtidos no pré-teste para avaliação do efeito de diferentes concentrações de EDTA na estabilidade da enzima.....	84
Tabela 12 – Concentração de amido, Brix e açúcares redutores (AR) em caldo de cana caçado após tratamento <sup>1</sup> com enzima e EDTA .....	87



## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. Na safra 2012/2013, a área cultivada com cana e destinada à atividade sucroalcooleira foi de 8.485,0 mil hectares enquanto a quantidade de cana processada pelas usinas foi de 653,81 milhões de toneladas (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2013a).

A cultura da cana-de-açúcar é de grande importância econômica e histórica para a agricultura brasileira. Cultivada desde o período colonial, é uma lavoura que continua em expansão. A previsão para a safra 13/14 é de que o Brasil tenha um acréscimo de 408 mil hectares na área plantada (CONAB, 2013b).

Além de maior produtor de cana, o Brasil é o maior produtor mundial de açúcar, (seguido pela Índia, União Européia, China, Tailândia e Estados Unidos) e destaca-se também como o quarto maior consumidor de açúcar no mundo, (em primeiro lugar a Índia, seguida pela União Européia, China e Brasil) (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2013).

Na safra 2012/2013, a produção brasileira de açúcar foi de 38,34 milhões de toneladas (CONAB, 2013a) e estima-se que na safra 2013/2014 serão produzidas cerca de 43 milhões de toneladas (CONAB, 2013b). A estimativa de exportação de açúcar pelo Brasil na safra atual é de 29 milhões de toneladas (USDA, 2013).

Nas últimas décadas tem se observado um aumento nas exigências no processo de fabricação de açúcar, impulsionadas pela maior participação brasileira no mercado internacional e pela necessidade de adequação das usinas aos programas de qualidade (RAVAGNANI, BORGES, ESTELLER, 2011). Além da contribuição nutricional à dieta, o açúcar é utilizado como matéria-prima na indústria de alimentos e bebidas, as quais requerem um produto de qualidade e que esteja dentro das especificações exigidas (LEMOS, 2012).

O processamento do açúcar é uma série complexa de operações unitárias organizadas para extrair a máxima quantidade e melhor qualidade de sacarose da cana (ANDREWS; GODSHALL; MOORE, 2002). A qualidade do açúcar extraído está diretamente ligada à composição química de cana-de-açúcar e as operações unitárias envolvidas (LEMOS, 2012).

Várias pesquisas têm sido realizadas para determinar a influência da composição da cana-de-açúcar na qualidade final do açúcar, com destaque especial para a presença de polissacarídeos, como o amido e a dextrana (MAGRO, 2005; FIQUEIRA, 2009; ALVES; LEMOS, 2012). Esses compostos causam problemas durante o processamento da cana nas indústrias, como aumento da viscosidade do caldo, entupimento de filtros, redução na cristalização do açúcar, recuperação da fábrica, aumento da viscosidade dos méis, deformação

dos cristais e perdas de açúcar (AMORIM; OLIVEIRA, 1982; KOBLITZ, 1998), além de estarem associados a diversos problemas nas indústrias alimentícias, quando permanecem no produto final (LEMOS, 2012).

O amido é um produto primário da fotossíntese e é temporariamente estocado nas folhas da cana-de-açúcar como reserva de energia, podendo ser convertido em açúcar (BOYES,1958). Os teores mais elevados desse polissacarídeo na cana são encontrados especialmente nos ponteiros e nós (STUPIELLO, 2003).

Nos últimos anos, o uso de processos enzimáticos na produção de açúcares tem sido empregado pelas usinas com o objetivo de solucionar os problemas oriundos da presença de amidos e dextranas no caldo de cana-de-açúcar durante o processo de fabricação, almejando um produto final de qualidade, mais competitivo e que cumpra as especificações exigidas pelo mercado (OLIVEIRA, 2005).

Apesar da necessidade de remover o amido presente no caldo de cana, existem restrições quanto à aplicação de enzimas na fabricação de açúcar devido a possível presença dessas enzimas no produto final, resultando em atividade residual em produtos alimentares (EGGLESTON; MONTES, 2009).

Tendo em vista a importância do setor sucroenergético no cenário atual e a importância da produção de açúcar dentro dos parâmetros de qualidade, o objetivo do trabalho foi avaliar a utilização da enzima alfa amilase durante a etapa de clarificação do caldo de cana, na redução do teor de amido durante o processo de fabricação de açúcar, bem como avaliar o efeito da adição de EDTA na inibição da atividade enzimática.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Cana-de-Açúcar

A cana-de-açúcar pertence à família Poaceae e ao gênero *Saccharum*, que abrange várias espécies (FIGUEIREDO, 2010; DIOLA; SANTOS, 2010). Até recentemente, era conhecida como um membro da família das gramíneas, pela classificação taxonômica de Engler, mas novos estudos taxonômicos de Cronquist a classificaram como representante da família Poaceae (Tabela 1) (SCARPARI; BEAUCLAIR, 2010).

É uma planta que possui ciclo fotossintético C<sub>4</sub>; por isso é altamente eficiente na conversão de energia radiante em energia química. A alta taxa de acúmulo de biomassa se deve à intensa atividade fotossintética, ao longo do período vegetativo e ao alto índice de área foliar da planta (DIOLA; SANTOS, 2010).

Tabela 1 - Classificação Taxonômica antiga e atual da cana-de-açúcar

<b>Especificação</b>	<b>Engler (1887)</b>	<b>Cronquist (1981)</b>
Divisão	Angiospermae	Magnoliophyta
Classe	Monocotyledoneae	Liliopsida
Ordem	Glumiflorae	Cyperales
Família	Gramineae	Poacea
Tribo	Andropogoneae	Andropogoneae
Subtribo	Saccharininae	Saccharininae
Gênero	<i>Saccharum</i>	<i>Saccharum</i>
Espécies	<i>Saccharum officinarum</i>	<i>Saccharum officinarum</i>
	<i>Saccharum barberi</i>	<i>Saccharum barberi</i>
	<i>Saccharum robustum</i>	<i>Saccharum robustum</i>
	<i>Saccharum spontaneum</i>	<i>Saccharum spontaneum</i>
	<i>Saccharum sinensis</i>	<i>Saccharum sinensis</i>
	<i>Saccharum edule</i>	<i>Saccharum edule</i>

Fonte: Engler, (1887), Cronquist, (1981) apud Scarpari e Beauclair, (2010)

As principais espécies de cana-de-açúcar surgiram na Oceania (Nova Guiné) e na Ásia (Índia e China) e as variedades cultivadas no Brasil e no mundo, na sua maioria, são híbridos multiespecíficos (DIOLA; SANTOS, 2010).

A cana-de-açúcar, planta perene e própria de climas tropicais e subtropicais, cultura que gera milhares de empregos diretos e indiretos, é importante fonte de renda e desenvolvimento, pois é a principal matéria-prima empregada para a obtenção de açúcar,

etanol e aguardente, além de ser utilizada como forrageira na forma ao natural (DIOLA; SANTOS, 2010).

No Brasil, a cana de açúcar é cultivada desde a época da colonização e, de acordo com a CONAB (2013a) é uma lavoura que continua em expansão no país. Na safra 2012/2013, a área cultivada com cana, que foi colhida e destinada à atividade sucroalcooleira foi de 8.485,0 mil hectares, o que representou um crescimento de 1,5% ou 123 mil hectares em relação à safra anterior (CONAB, 2013a) e, para a safra 2013/2014, a previsão é de que o Brasil tenha um acréscimo de 408 mil hectares na área plantada (CONAB, 2013b).

O Estado de São Paulo é o maior produtor brasileiro de cana-de-açúcar, com 52,1% da área (4.419,48 mil hectares), seguido por Goiás com 8,55% (725,91 mil hectares), Minas Gerais com 8,51% (721,88 mil hectares), Paraná com 7,20% (610,83 mil hectares), Mato Grosso do Sul com 6,34% (542,70 mil hectares), Alagoas com 5,25% (445,71 mil hectares) e Pernambuco com 3,68% (312,09 mil hectares). Nos demais estados produtores as áreas são menores, com representações abaixo de 3% (CONAB, 2013a).

De acordo com a CONAB (2013a), na safra 2012/2013 foram moídas cerca de 589,0 milhões de toneladas de cana, 5,0% maior em relação à safra 2011/12. Para a safra de 2013/2014, a previsão do total de cana a ser moída é de 653,81 milhões de toneladas, com aumento de 11% em relação à safra de 2012/2013 (CONAB, 2013b).

A importância da cultura da cana-de-açúcar no agronegócio brasileiro é evidente e no cenário internacional, o Brasil se destaca pela tecnologia empregada nas etapas de produção, porém a pesquisa científica ainda tem muito a contribuir para a melhoria do processo produtivo, da lavoura à indústria.

### **2.1.1 Composição tecnológica da cana-de-açúcar**

A composição tecnológica da cana-de-açúcar é muito variável, e pode ser influenciada por diversos fatores, tais como variedades, regiões e condições climáticas, tratos culturais empregados, condições de cultivo, estágio de maturação, sanidade, tipo de colheita, condições de transporte e armazenagem, entre outros.

A cana é composta, essencialmente, de duas partes, uma subterrânea, formada pelos rizomas e pelas raízes e outra aérea, constituída pelo colmo, pelas folhas e flores. Para o tecnólogo, a cana-de-açúcar é constituída de fibra e caldo (STUPIELLO et al., 1971; DELGADO, 1975), sendo considerada como composição da matéria-prima para a indústria, a apresentada na Figura 1 (DELGADO, 1975).

O colmo pode ser classificado como a parte mais importante do ponto de vista industrial, porque o caldo contido em suas células armazena a sacarose e demais componentes. O colmo de cana madura contém 12,0% de fibras e 88% de caldo. Possui cerca de 25% de partes duras, representada pelos nós e cascas e 75% de partes moles constituídas pelas partes internas dos internódios (CASTRO; ANDRADE, 2007).

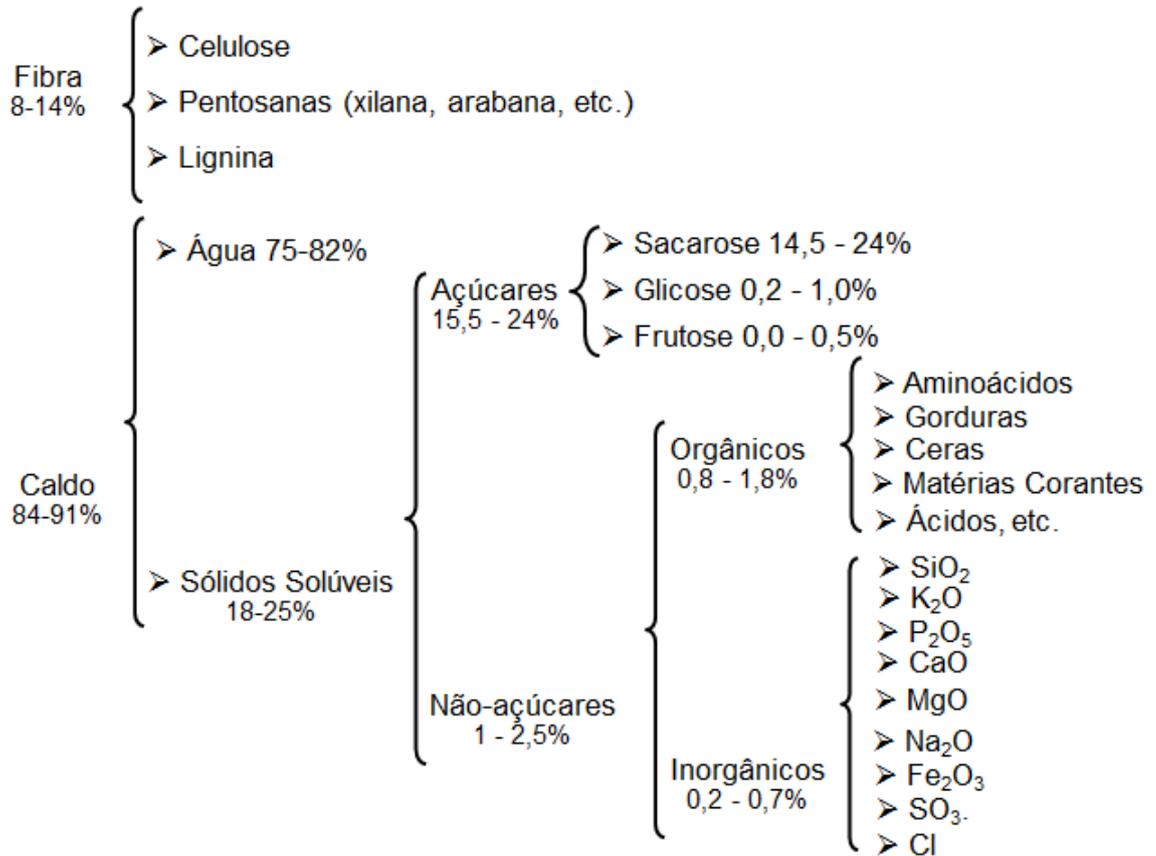


Figura 1- Composição Tecnológica da cana-de-açúcar  
Fonte: Delgado (1975)

A cana-de-açúcar possui em média de 10 a 16% de fibras e de 84 a 90% de caldo; desta composição 75 a 82% representam água e o restante são substâncias sólidas dissolvidas. Os sólidos dissolvidos dividem-se em 14 a 24% de sacarose, 0,2 a 1% de glicose, 0 a 0,5% de frutose e 1 a 2,5% de não açúcares (ALBUQUERQUE, 2011).

De acordo com Lima, Basso e Amorim (2001), a cana-de-açúcar pode conter 74,5% de água, 14% de açúcares (12,5% de sacarose, 0,9 % de glicose e 0,6% de frutose), 10% de fibras e o restante dividido entre matérias minerais, compostos nitrogenados, ceras, pectinas e ácidos.

O açúcar predominante da cana-de-açúcar é a sacarose. Os açúcares redutores, glicose e frutose, se encontram em proporções quase iguais nas canas que ainda não atingiram a maturação completa. À medida que avança o amadurecimento, seus teores diminuem, podendo não ser detectados em canas perfeitamente maduras (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

Os fatores relacionados à qualidade da cana-de-açúcar podem ser divididos em intrínsecos, os relacionados com a composição da cana (teores de sacarose, açúcares redutores, fibras, compostos fenólicos, amido, ácido acotínico e minerais) e extrínsecos, os relacionados com materiais estranhos ao colmo (terra, pedra, restos de cultura, plantas invasoras) ou compostos que são produzidos por microrganismos em ação sobre os açúcares do colmo (gomas e ácidos orgânicos) (RIPOLI; RIPOLI, 2004).

Os principais indicadores da qualidade da cana são: Pol (sacarose aparente), pureza (Pol % de sólidos solúveis), ART (açúcares redutores totais), teor de açúcares redutores, percentagem de fibra da cana, tempo de queima e corte (RIPOLI; RIPOLI, 2004).

A matéria-prima desejável para a indústria pode ser definida como colmos em estágio adiantado de maturação, sadios, recém-cortados, normalmente despontados e livres de matérias estranhas (STUPIELLO, 1987; MAGALHÃES; BRAUNBECK, 2008).

### **2.1.2 Constituintes do caldo de cana**

O caldo de cana-de-açúcar é um líquido viscoso, opaco, de cor amarelo esverdeada e de composição complexa e variável (PAYNE, 1989). O pH do caldo varia entre 4,9 e 5,6 (DELGADO; CESAR, 1977).

A composição química do caldo varia amplamente segundo uma série de fatores, tais como variedade, grau de maturação da cana, condições ambientais, tipo de solo, tratamentos culturais, tipo de colheita, se a cana é crua ou queimada e tempo entre o corte e o seu processamento (ALBUQUERQUE, 2011). A composição dos sólidos solúveis do caldo de cana está apresentada na Tabela 2.

O caldo de cana-de-açúcar é uma solução que contém os constituintes solúveis como sacarose, açúcares redutores, amido, sais orgânicos e inorgânicos, ácidos orgânicos, e matérias nitrogenadas como proteínas e aminoácidos, além de pentosanas e pectinas e, em suspensão os compostos insolúveis leves e pesados, como bagacilho, fibras, principalmente celulose e lignina, corantes, ceras e areia (SOUZA, 1988). Uma breve descrição dos principais componentes presentes no caldo de cana será apresentada a seguir.

Tabela 2 – Composição de sólidos solúveis no caldo de cana-de-açúcar

Componentes	Sólidos Solúveis (%)
<b>Açúcares</b>	75-92%
Sacarose	70-88
Glicose	2-4
Frutose	2-4
<b>Sais</b>	3,0 - 4,5
Inorgânicos	1,5-4,5
Orgânicos	1,0-3,0
<b>Ácidos Orgânicos</b>	1,5 - 5,5
Ácidos Carboxílicos	1,1 - 3,0
Aminoácidos	0,5 - 2,5
<b>Outros Orgânicos Não Açúcares</b>	
Proteínas	0,5 - 0,6
Amido	0,001 - 0,100
Gomas	0,30 - 0,60
Ceras, Gorduras, Fosfolipídeos	0,05 - 0,15
<b>Outros</b>	3,0 - 5,0

Fonte: Chen e Chou (1993)

### 2.1.2.1 Açúcares presentes no caldo

A sacarose, o componente encontrado em maior quantidade no caldo de cana-de-açúcar (Tabela 2), é um dissacarídeo formado por dois monossacarídeos, a glicose e a frutose, que se condensam através de uma ligação glicosídica, formando a molécula de sacarose e uma molécula de água (Figura 2) (ALBUQUERQUE, 2011).

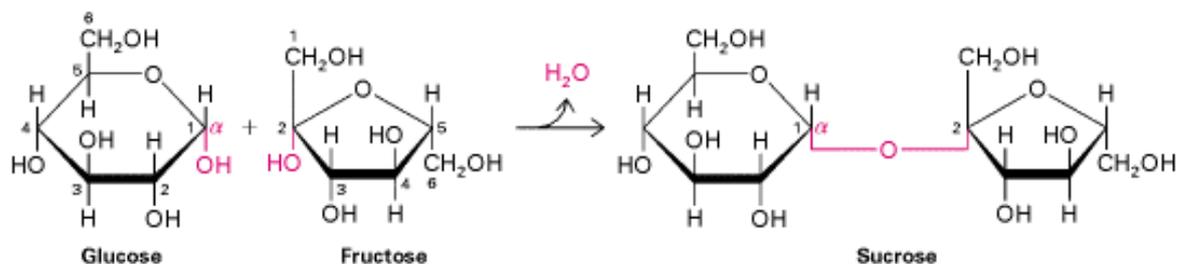


Figura 2 - Reação de condensação e formação da sacarose  
 Fonte: <http://ibhumanbiochemistry.wikispaces.com/C.3.3>

Em meio ácido, a sacarose sofre reação de inversão, resultando em açúcares redutores: glicose e frutose (CHEN; CHOU, 1993; MANTELATTO, 2005). No sentido químico, o termo inversão refere-se à mudança que se observa no poder rotatório da solução, de dextrógira para levógira, na mistura resultante da hidrólise da sacarose em glicose e frutose (ALBUQUERQUE, 2011).

A inversão ocorre em condições ácidas ( $\text{pH} < 7,0$ ), e o grau de inversão da sacarose em um determinado pH é favorecido por altas temperaturas, longos tempos de exposição e baixa concentração de sacarose na solução (CHEN; CHOU, 1993). Solução de sacarose aquecida em presença de íons  $\text{OH}^-$ , pode formar furfural, acetona, ácido acético, ácido fórmico, ácido láctico, dióxido de carbono e outras substâncias (ALBUQUERQUE, 2011).

Além das condições de pH e temperatura, numerosos agentes bioquímicos podem degradar a sacarose presente no caldo, principalmente enzimas e microrganismos (MANTELATTO, 2005).

A hidrólise ácida ou enzimática da sacarose resulta na formação de quantidades iguais de glicose e frutose (Figura 3) (ALBUQUERQUE, 2011).

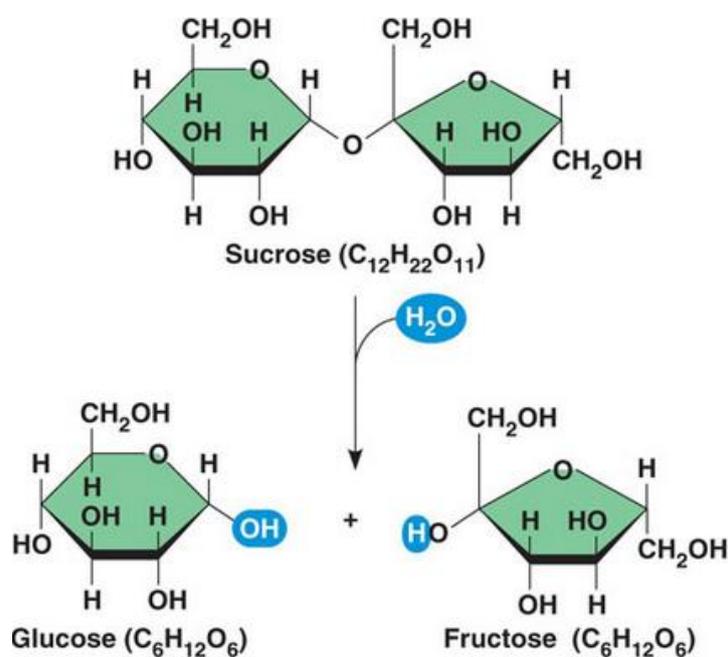


Figura 3 - Reação de inversão da sacarose  
Fonte: <http://www.tokresource.org>

A degradação da sacarose em altas temperaturas no processamento industrial é de grande importância para a indústria do açúcar, não só do ponto de vista de perdas valiosas de açúcar, mas também devido à redução na eficiência industrial das unidades de processo e na

qualidade do produto final (FAVERO, 2011). A presença de açúcar invertido é indesejável no processamento do açúcar, pois influi na cor do açúcar obtido e dificulta a recuperação da sacarose (ZURITA, 2008).

Os açúcares redutores são monossacarídeos que possuem a capacidade de reduzir o óxido de cobre (HAMERSKI, 2009). A glicose e a frutose são os principais monossacarídeos encontrados no caldo de cana-de-açúcar (OETTERER; REGITANO-D'ARCE; SPOTO, 2006). A fórmula molecular de ambos é  $C_6H_{12}O_6$ , mas diferem em sua conformação estrutural; enquanto a glicose possui um anel contendo 6 átomos de carbono (piranose), a frutose possui anel contendo apenas 5 átomos de carbono (furanose) (NELSON; COX, 2011).

Os açúcares redutores afetam diretamente a pureza do caldo e refletem em uma menor eficiência na recuperação da sacarose pela indústria. Os valores de açúcares redutores recomendados devem ficar abaixo de 0,8% (RIPOLI; RIPOLI, 2004).

A principal influência dos açúcares redutores no processamento do caldo de cana-de-açúcar é devida aos efeitos dos produtos de sua decomposição que se unem e formam compostos precursores de cor (ALBUQUERQUE, 2011).

#### **2.1.2.2 Ácidos Orgânicos**

Os ácidos orgânicos estão naturalmente presentes na cana-de-açúcar, especialmente como intermediários metabólicos. Também podem ser formados nas reações de decomposição da sacarose em soluções alcalinas ou pela ação de microrganismos; como exemplo, os ácidos acético e láctico (ALBUQUERQUE, 2011).

Os ácidos orgânicos da cana de açúcar podem ser divididos em ácidos orgânicos não nitrogenados e nitrogenados. Embora presentes em pequena proporção no caldo de cana, os ácidos orgânicos não-nitrogenados são responsáveis pelo valor do pH do caldo, bem como pela sua capacidade tamponante. De acordo com Chen e Chou (2003), o pH do caldo de cana pode variar de 5,2 a 5,4.

O ácido aconítico é o de maior importância e encontra-se de duas a três vezes mais concentrado do que todos os outros ácidos combinados (cítrico, málico, glicólico, mesacônico, tartárico, succínico, fumárico e siringico) (WALFORD, 1996; ALBUQUERQUE, 2011).

#### **2.1.2.3 Compostos Nitrogenados**

O nitrogênio é encontrado no caldo de cana-de-açúcar principalmente sob a forma de aminoácidos (30,5% do total de N) e amidas (24,1% do total de N), existindo em menores

quantidades sob a forma de proteínas e outros compostos, como nitratos (17,8% do total de N) (PRATI; CAMARGO, 2008). As proteínas presentes no caldo são: albuminas, nucleínas e peptonas, sendo as albuminas as mais abundantes (ALBUQUERQUE, 2011).

Do ponto de vista tecnológico, a presença dos compostos nitrogenados, exerce influência na clarificação, na formação de compostos coloridos, na centrifugação, na formação do cristal e na quantidade de açúcar recuperável (MANTELATTO, 2005). Na calagem e aquecimento do caldo, parte das proteínas presentes é coagulada e removida juntamente com o lodo; entretanto, parte delas ainda permanece no caldo na forma coloidal, funcionando como núcleos indesejáveis de formação de cristais (nucleação), afetando a velocidade de cristalização e prejudicando o processo de recuperação de cristais na centrifugação (MANTELATTO, 2005; ALBUQUERQUE, 2011).

Os aminoácidos presentes no caldo de cana se combinam com os açúcares redutores formando compostos de cor escura, de alto peso molecular, chamados melanoidinas (reação de *Maillard*), que contribuem significativamente para a coloração da massa cozida, (ALBUQUERQUE, 2011).

A reação de *Maillard* é uma das mais importantes reações de formação de cor no processamento dos alimentos. É constituída por um conjunto de reações específicas, que ocorrem na presença de amins ou aminoácidos e açúcares redutores, resultando em uma mistura complexa de compostos escuros (HAMERSKI, 2009).

#### **2.1.2.4 Ceras e Lipídeos**

Na cana-de-açúcar, ceras, lipídeos e fosfolipídeos que estão presentes na forma de uma fina camada recobrimo toda a superfície da cana, em maior quantidade na casca dos colmos, são incorporados ao caldo de cana durante o processo de extração, em maior ou menor quantidade, dependendo da temperatura da água. Estes compostos constituem aproximadamente 0,1% em relação ao teor de sólidos solúveis (HONIG, 1953; WALFORD, 1996).

As ceras e lipídeos da cana-de-açúcar são constituintes indesejáveis no caldo, pois quando não são eliminados na clarificação, interferem no processo de fabricação de açúcar. A clarificação utilizando a cal separa cerca de 90% dos lipídeos do caldo na operação de filtração (ALBUQUERQUE, 2011). Lipídeos remanescentes no caldo clarificado causam efeitos negativos na fase de filtração do açúcar bruto durante as operações de refino (DELGADO; CESAR, 1977).

### **2.1.2.5 Corantes**

No caldo de cana-de-açúcar estes compostos são de origens diversas, alguns derivam da planta, como os pigmentos e outros são resultantes das reações que ocorrem durante o processo. Os pigmentos da planta são principalmente os compostos fenólicos e os flavonoides, os quais são responsáveis por cerca de dois terços da cor do açúcar bruto. Os compostos fenólicos são geralmente incolores, mas são oxidados ou reagem com aminas ou ferro, formando compostos coloridos durante o processamento. Os flavonoides são polifenóis que existem na planta e estão envolvidos em reações de escurecimento enzimático (DAVIS, 2001).

Nas partes verdes da cana-de-açúcar encontram-se os pigmentos, tais como as clorofilas, os carotenos e as xantofilas (ALBUQUERQUE, 2011). Além dos pigmentos naturalmente presentes, há também substâncias orgânicas originalmente encontradas na cana-de-açúcar que são incolores, mas que por consequente reação e combinação com outras substâncias, formam compostos coloridos, sendo os polifenóis e os aminocompostos os de maior importância (HONIG, 1953).

No processo de fabricação, tanto os açúcares como os não açúcares estão sujeitos a ação do calor, do pH, de metais, do ar e dos reagentes químicos adicionados. Todos estes fatores causam efeito diferente no que diz respeito à formação de compostos coloridos (FAVERO, 2011).

De acordo com Albuquerque (2011), os compostos responsáveis pela cor do açúcar são divididos em quatro grupos principais. No primeiro grupo estão os compostos derivados da própria cana: compostos fenólicos, polifenólicos e flavonoides, os principais contribuintes da cor do açúcar; no segundo grupo estão os compostos formados pela decomposição da sacarose e do açúcar invertido por ação do calor; no terceiro os compostos formados por reações dos açúcares com aminoácidos e o quarto grupo está formado por compostos resultantes principalmente da decomposição térmica da frutose e da glicose, em menores quantidades, em condições alcalinas.

### **2.1.2.6 Compostos inorgânicos**

De acordo com Chen e Chou (1993), os constituintes inorgânicos da cana-de-açúcar ocorrem na forma de íons, sais, integrantes de complexos moleculares orgânicos ou como compostos insolúveis. Os fosfatos, a sílica e o magnésio são parcialmente removidos na clarificação; entretanto o potássio, os cloretos, o sódio e baixas concentrações de sulfato não são removidos e são concentrados durante o processamento.

O conteúdo mineral do caldo depende da variedade da cana-de-açúcar e do solo (WALFORD, 1996) e tende a aumentar com a idade da cana. O potássio é o mineral mais abundante no caldo, constituindo cerca de 60% do total presente nas cinzas e encontra-se em maior quantidade em partes jovens da planta, como folhas e o topo do caule, e em menor concentração na base do caule (CHEN; CHOU, 1993).

Os compostos inorgânicos exercem forte influência no processo de clarificação do açúcar, na medida em que participam de várias reações durante o tratamento químico alterando o ponto isoelétrico do caldo, removendo ou formando compostos coloridos e nas etapas posteriores, exercendo influência na solubilidade da sacarose, na velocidade de crescimento dos cristais e esgotamento dos méis (VAN DER POEL; SCHIWECK; SCHWARTS, 1998).

#### **2.1.2.7 Polissacarídeos**

Os polissacarídeos são compostos de alto peso molecular que exercem efeito direto na qualidade do açúcar. Aqueles encontrados no caldo de cana-de-açúcar incluem os que podem ser naturalmente encontrados na cana, como resultado de atividades metabólicas durante o crescimento da planta, como o amido e, os que são formados pela ação de microrganismos nos processos de deterioração da cana, como a dextrana (CUDDIHY; PORRO; RAUH, 2001).

De acordo com o mesmo autor, o teor de polissacarídeos encontrados durante o processamento da cana-de-açúcar, incluindo os endógenos, diferem de acordo com a variedade, condições climáticas, processos de deterioração durante armazenamento e manipulação.

O amido é um polímero de glicose de elevado peso molecular composto por uma mistura de dois polímeros: um polissacarídeo essencialmente linear denominado amilose, no qual as unidades de glicose estão unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4 e, um polissacarídeo altamente ramificado denominado, amilopectina (ALBUQUERQUE, 2011). A presença do amido na cana, os problemas ocasionados por ele no processo de fabricação do açúcar, bem como as formas de eliminação desse polissacarídeo no caldo, serão discutidos no item 2.4.

A dextrana é um produto da degradação microbiológica da cana-de-açúcar, resultante da deterioração da sacarose pela ação do microrganismo contaminante *Leuconostoc mesenteroides*. Este polissacarídeo forma uma massa gelatinosa que pode bloquear as peneiras, juntamente com o bagacilho, assim como, retardar a cristalização da sacarose e tornar os méis mais viscosos (DELGADO; CESAR, 1977). O método aplicável na indústria de açúcar para a eliminação da dextrana é a hidrólise enzimática utilizando a dextranase,

enzima que hidrolisa as ligações  $\alpha$ -1,6 da molécula de dextrana, formando moléculas menores de oligossacarídeos (JIMÉNEZ, 2009).

De acordo com Johnson (1989), a presença de amido, independente da origem, combinada ou não com altas concentrações de dextrana, exerce um efeito negativo no processamento do açúcar, podendo resultar em aumento sinérgico de problemas com a viscosidade.

Cuddihy, Porro e Rauh (2001), sugerem que o amido e a dextrana presentes no caldo de cana interferem nas etapas de clarificação, filtração e cristalização. A extensão da presença destes polissacarídeos no caldo depende da variedade da cana, do período de maturação, das condições de colheita, transporte, e outros. Caldos de cana com altos teores de amido e dextrana apresentam baixas velocidades de filtração e de cristalização. Eles também podem contribuir para as distorções de polarização.

Embora os esforços para deter os efeitos dos polissacarídeos tenham sido focados principalmente no amido e dextrana, existem vários outros polissacarídeos que contribuem para as ineficiências e perdas no processo produtivo. Uma ampla gama de polissacarídeos é encontrada na natureza e muitos destes estão presentes na cana-de-açúcar e nos produtos dela derivados (IMRIE; TILBURY, 1972).

A celulose e a hemicelulose são componentes da parede celular da planta e estão presentes no caule e nas folhas. O amido e as glucanas fazem parte da cadeia de armazenamento de energia e de síntese da planta (HAMERSKI, 2009).

Os polissacarídeos, em virtude das suas propriedades físicas, exercem efeitos adversos sobre o processamento da cana-de-açúcar, como perdas em termos de sacarose e atrasos no processamento, devido à viscosidade (IMRIE; TILBURY, 1972).

## **2.2 Etapas de produção do açúcar**

O processo de fabricação de açúcar visa a extração do açúcar contido na cana a partir do preparo e concentração do caldo, para obtenção dos vários tipos desse produto disponíveis no mercado, como os açúcares demerara, mascavo, cristal, refinado, líquido, VVHP e VHP (BEM; KOIKE; PASSARINI, 2006).

As etapas de fabricação de açúcar nas unidades industriais brasileiras não apresentam grandes diferenças e obedecem a um processo geral (Figura 4), utilizado por praticamente todas as usinas e apresentado a seguir.

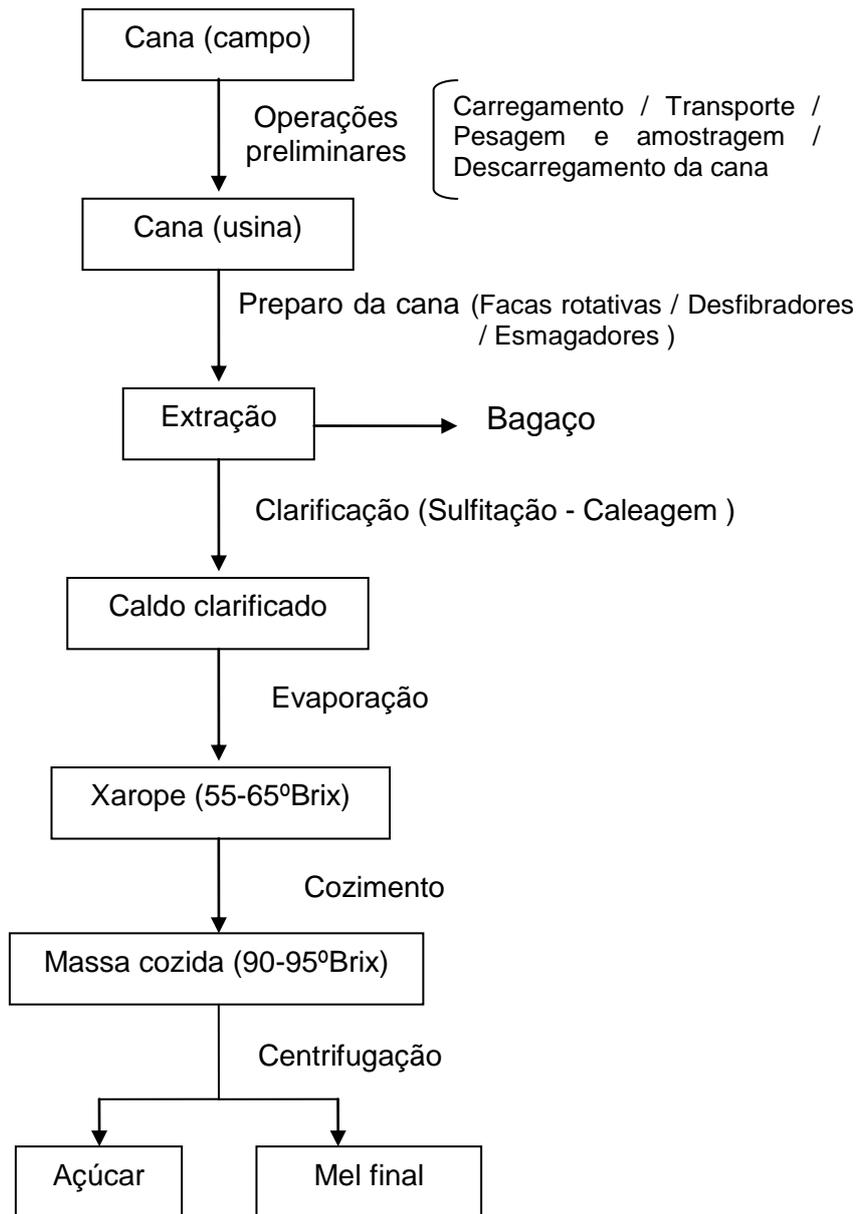


Figura 4 – Fluxograma simplificado de produção de açúcar  
 Fonte: Cruz, 2010

### 2.2.1 Operações preliminares

Considerando a cana-de-açúcar no estado ótimo de maturação, a primeira etapa para a produção do açúcar é a colheita da cana (TFOUNI, 2005).

A cana pode ser colhida verde ou queimada, manualmente ou mecanicamente, inteira ou picada. De acordo com a União da Indústria de Cana-de-Açúcar - UNICA (2013b), o corte mecanizado já é responsável por 85% da colheita de cana da região Centro-Sul.

O tempo entre a queima da cana, a colheita (manual) e sua moagem na indústria, ou o tempo entre o corte mecanizado e a moagem, afetam a qualidade da cana. Quanto menor o tempo entre a queima/corte da cana e a moagem, menor será o efeito de atividades

microbianas nos colmos e melhor será a qualidade da matéria-prima entregue à indústria (RIPOLI; RIPOLI, 2004). Dessa forma, a quantidade de cana cortada não deve ser muito maior do que a capacidade de processamento da usina, uma vez que logo após o corte começa o processo de inversão da sacarose (TFOUNI, 2005).

A cana-de-açúcar é transportada do campo para a indústria de acordo com a peculiaridade de cada região produtora (em lombo de animal, ferrovia, hidrovia e rodovia) (TFOUNI, 2005). No Brasil, o transporte de cana de açúcar é baseado predominantemente no modal rodoviário (SILVA, 2006; CARREIRA, 2010). Estima-se que mais de 95% de toda cana-de-açúcar colhida no país circula pela malha rodoviária (RIPOLI; RIPOLI, 2010; ROSSETO, 2005).

Na chegada à usina, a primeira operação realizada é a pesagem dos caminhões, que é realizada em balança de plataforma com o objetivo de quantificar a matéria prima que entra no processo, primordial, dentre outras informações, para os cálculos dos rendimentos industriais.

Após a pesagem, parte dos caminhões segue diretamente para a descarga e parte segue para a amostragem da matéria prima. Nessa etapa, amostras da carga são retiradas por sondas para análises tecnológicas (Pol, Brix, impurezas minerais e vegetais, dentre outras), que fornecem dados posteriormente utilizados para calcular rendimentos e para efeito de pagamento de cana quando a matéria prima é proveniente de terceiros. Os procedimentos analíticos e as regras para o sorteio do material a ser analisado são regulamentados pelo CONSECAN (Conselho dos Produtores de Cana, Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo). Após a amostragem, os veículos seguem para os pontos de descarga (SILVA, 2006).

O descarregamento é realizado por um sistema fixo de guincho hidráulico, denominado *Hilo*, o qual, por meio de cabos de aço, tomba lateralmente a carga do transporte jogando-a sobre a mesa de recepção (RIPOLI; RIPOLI, 2010).

A unidade de transporte estaciona entre o *hilo* e a mesa de recepção e cabos de aço são acoplados entre a carga e a base da carroceria, sendo presos, por uma das extremidades, no dispositivo de engate do *hilo* e, pelas outras extremidades, ao parapeito da mesa de recepção. Com o acionamento do êmbolo do guincho, a carga é descarregada lateralmente caindo sobre a mesa (RIPOLI; RIPOLI, 2010).

### **2.2.2 Recepção, preparo e extração do caldo de cana-de-açúcar**

Na indústria, a recepção da matéria-prima é realizada em mesas laterais de alimentação da esteira, na qual ocorre a etapa de limpeza, que pode ser a seco, por corrente de

ar, ou por lavagem com água; a seguir, a cana passa para a fase de preparo por meio de uma esteira metálica,

O preparo consiste em picar e desintegrar a cana rompendo as células que contêm o caldo rico em açúcar. Essa operação facilita a extração do caldo pela moagem, aumentando a capacidade das moendas e produzindo um bagaço de maior aceitação à embebição. Para o preparo da cana pode ser utilizado um conjunto de facas rotativas ou um desfibrador, ou ainda, ambos trabalhando em conjunto (TFOUNI, 2005). Ao fim do preparo, a cana segue para a etapa de extração do caldo.

A extração do caldo da cana consiste no processo físico de separação da fibra (bagaço), sendo realizado, fundamentalmente, por dois processos: moagem ou difusão (ALCARDE, 2013).

Nas usinas brasileiras em sua maioria, a extração do caldo e, obviamente da sacarose da cana-de-açúcar, realiza-se por moagem com embebição. O outro sistema, a difusão, é amplamente empregado na Europa em usinas que processam beterraba açucareira (HAMERSKI, 2009).

A moagem se faz em um conjunto de quatro a seis unidades esmagadoras, constituídas por 3 rolos horizontais dispostos em dois planos superpostos de forma que o centro de seus eixos formem um triângulo e permitam distinguir um rolo superior, um de entrada e um terceiro, de saída, que se movimentam pela ação do superior sobre os inferiores por meio de engrenagens.

A cana é alimentada entre o rolo inferior de entrada e o superior e passa ao rolo de saída por meio de uma peça denominada bagaceira. Como tal, a cana sofre duas pressões em cada unidade esmagadora, uma entre o rolo superior e o de entrada e o superior e de saída (CASTRO; ANDRADE, 2007; ROCHA, 2010), conforme ilustrado na Figura 5. É comum a instalação de um quarto rolo (de pressão) para auxiliar a alimentação (ROCHA, 2010).

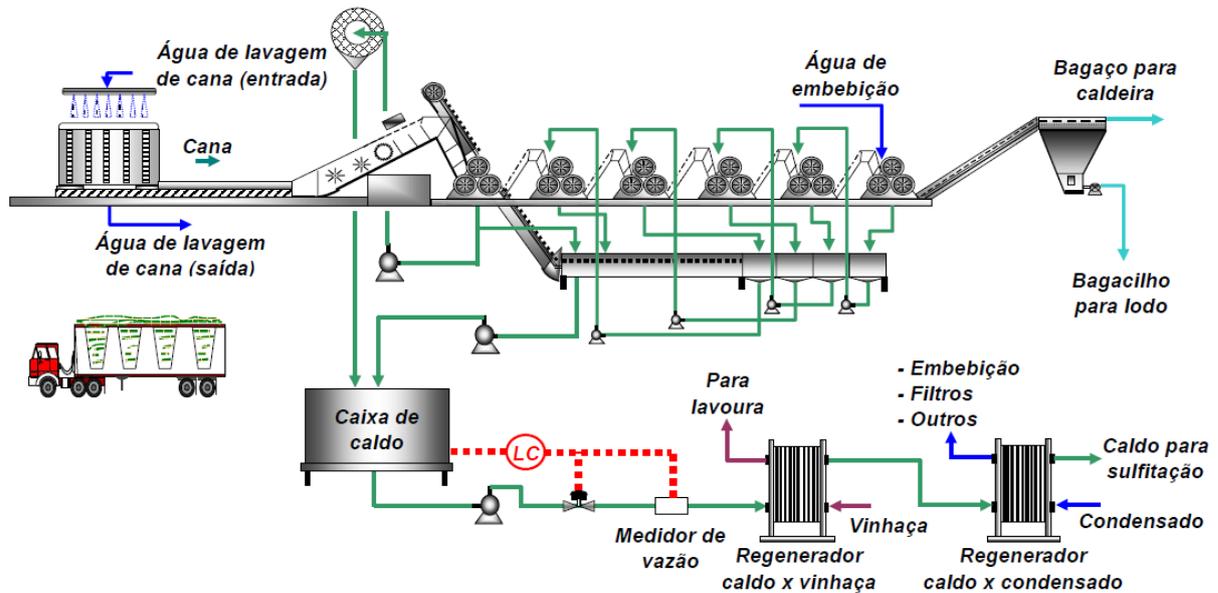


Figura 5 - Extração do caldo de cana-de-açúcar por moagem  
 Fonte: Ribeiro (2008)

Somente com a pressão é impossível extrair mais do que 90% do caldo contido nas fibras, tornando-se necessário fazer a embebição da cana moída para maior extração de sacarose (MARQUES; MARQUES; TASSO JÚNIOR, 2001; MARQUES et al., 2006; ALBUQUERQUE, 2011).

A difusão consiste na condução da cana através de aparelhos conhecidos como difusores, nos quais a sacarose é extraída exclusivamente por um processo de lavagem repetitiva com água, do caldo retido na cana moída. Este procedimento exige excelente preparo da cana, para possibilitar ótimo contato da água com o maior número de células abertas e alcançar elevados índices de extração (ROCHA, 2010).

A extração do caldo de cana pelos difusores é realizada pelo efeito combinado da osmose e da lixiviação, embora a participação da osmose seja considerada pequena e restrita aos tecidos fechados (STUPIELLO et al., 1971).

Com a utilização de difusores, obtém-se eficiência de extração da ordem de 98%, contra os 96% conseguidos com a extração por moendas (ALCARDE, 2013).

O caldo de cana extraído (caldo misto) contém impurezas grosseiras, tais como: bagaço, pedaços de cana que são removidos por peneiras, areia e terra, também eliminadas por sedimentação. A remoção destas impurezas faz-se necessária antes que se passe a fase de clarificação, pois elas promovem frequentes entupimentos de tubulações e bombas, e propiciam a formação incrustações em canalizações e em tubulações dos corpos aquecedores e evaporadores. Vários são os tipos de peneiras utilizadas na prática da remoção de impurezas

grosseiras presentes no caldo e podem ser reunidas em três tipos básicos: fixas (Cush-Cush e DSM), vibratórias e rotativas. As utilizadas com maior frequência e as primeiras a remover as impurezas do caldo misto, são as do tipo Cush-Cush. O caldo peneirado é coletado na parte inferior em um tanque de recepção (DELGADO; CESAR, 1977).

### **2.2.3 Sistema de clarificação do caldo de cana-de-açúcar**

A qualidade do açúcar está associada diretamente à eficiência do processo de clarificação do caldo, sendo que a falta de um tratamento eficaz traduz-se em um açúcar de menor qualidade, de cor mais intensa, impurezas e pontos pretos.

A complexidade da etapa de clarificação do caldo depende da qualidade inerente do caldo de cana e do tipo de açúcar que será produzido. Cada um dos diferentes tipos de açúcar demanda um tipo de tratamento diferente (DAVIES, 1938). A etapa de clarificação afeta a filtrabilidade do caldo de cana, o coeficiente de transferência de calor dos evaporadores, a cristalização da sacarose, a qualidade e a quantidade de açúcar bruto produzido, assim como afeta a cor, a morfologia do cristal, o conteúdo dos cristais, o teor de cinza e de polissacarídeo no açúcar bruto (DOHERTY, 2011).

O foco principal da clarificação é a remoção dos não açúcares, impurezas presentes no caldo misto, as quais se encontram na forma solúvel, coloidal e insolúvel em suspensão. Deve ser conduzida de maneira que as perdas de sacarose por inversão e destruição dos açúcares redutores permaneçam em teor mínimo durante o processo subsequente de recuperação do açúcar, maximize a taxa de sedimentação e obtenha um volume de lodo mínimo (SOUZA, 1988).

O processo consiste em promover a coagulação máxima de seus coloides e formar um precipitado insolúvel que adsorva e arraste as impurezas responsáveis por sua aparência turva, separando a matéria suspensa por sedimentação (DELGADO, 1975; CHEN; CHOU, 1993).

De acordo com Doherty (2011), a eficiência do processo de clarificação está intimamente vinculada com a composição do caldo de cana (incluindo impurezas suspensas ou insolúveis), o conteúdo de fosfato inorgânico, a condição e o tipo de calagem e as interações entre os componentes do caldo.

Quando a clarificação é deficiente, o caldo retém impurezas que vão se acumulando à medida que ele é concentrado e incorporando-se ao açúcar, prejudicando sua qualidade. Essas impurezas, além de diminuir o rendimento em açúcar, são higroscópicas, levando à inversão de sacarose no produto final, já estocado, desclassificando-o completamente (FAVERO,

2011). Dessa forma, o desempenho da clarificação e a qualidade do caldo clarificado afetam o rendimento industrial, a pureza do melaço e a qualidade do açúcar bruto (DOHERTY, 2011).

As altas temperaturas dos processos de clarificação e evaporação são propícias para as perdas de sacarose na fabricação de açúcar. Essas perdas contribuem para a redução da eficiência do processo, levam ao aumento indesejável da cor do açúcar e reduzem a qualidade do produto final (EGGLESTON et al., 2004).

Várias substâncias orgânicas e inorgânicas têm sido utilizadas com o objetivo de clarificar o caldo; entretanto, a escolha do produto químico nessa operação tecnológica é determinada de acordo com diversos fatores, tais como, custo, resultados obtidos com a utilização em larga escala, efeito sobre a obtenção do açúcar, impacto na sua qualidade e influência nas demais operações do processo. É importante ressaltar que os agentes utilizados na fabricação do açúcar não devem permanecer no produto final e caso sejam encontrados residuais, suas quantidades deverão ser inferiores aos limites estabelecidos (KULKARNI, 2009). Diversos produtos foram avaliados para purificar os caldos, entretanto, apenas cinco possuem importância industrial e são eles, a cal,  $\text{Ca(OH)}_2$ , o ácido sulfuroso,  $(\text{SO}_2)$ , o ácido fosfórico  $(\text{P}_2\text{O}_5)$ , o ácido carbônico  $(\text{CO}_2)$  e a magnésia  $(\text{MgO})$  (HUGOT, 1977).

No Brasil predominam basicamente dois modelos de clarificação, a calagem, ou defecação simples e a sulfo-defecação (STUPIELLO et al., 1971; DELGADO, 1975). A calagem é muito utilizada na produção do açúcar bruto destinado à exportação e a sulfitação, é mais empregada na fabricação de açúcar cristal branco (MARQUES; MARQUES; TASSO JÚNIOR, 2001).

A Figura 6 ilustra um fluxograma geral do processo de clarificação do caldo para fabricação de açúcar.

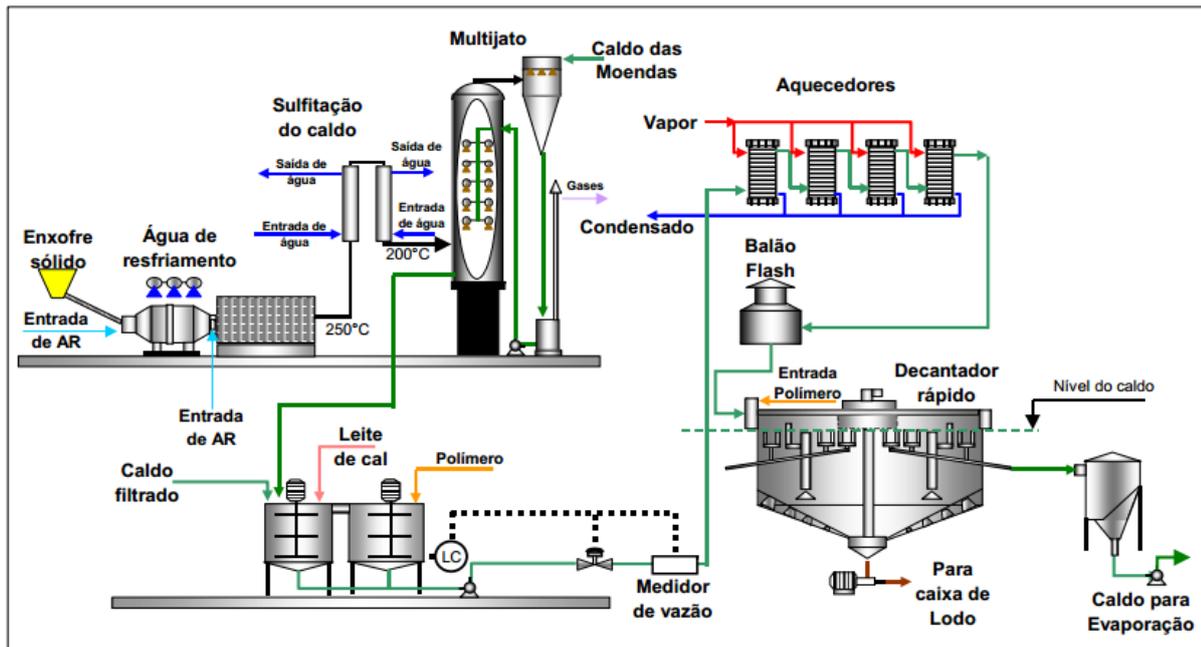


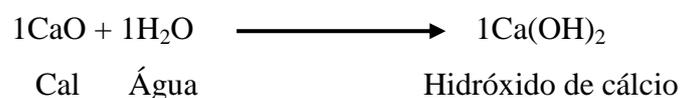
Figura 6 - Clarificação do caldo de cana-de-açúcar  
Fonte: Ribeiro (2008)

### 2.2.3.1 Calagem ou defecação Simples

O processo de clarificação utilizando o hidróxido de cálcio e temperatura elevada é conhecido como Processo de defecação simples e, é o mais antigo dos processos existentes para purificar o caldo de cana-de-açúcar. Este consiste na adição de cal hidratada (leite de cal) ao caldo previamente aquecido a temperatura de 75-80°C, na quantidade suficiente para neutralizar os ácidos orgânicos presentes no caldo (HONIG, 1953; ALBUQUERQUE, 2011). Em geral, são utilizadas 500 a 800 g de cal por tonelada de cana, de modo a obter o pH do caldo entre 7,0 e 7,5. Na sequência, o caldo caleado é aquecido a 90-105°C (HONIG, 1953). Na usina, a faixa de pH do caldo caleado é de 6,8 a 7,2.

Na etapa de calagem, é de extrema importância um bom sistema de preparo e diluição do leite de cal e o controle rigoroso do pH para evitar a inversão da sacarose quando o caldo é submetido a uma alta temperatura em meio ácido. A taxa de inversão, para um mesmo pH do caldo aumenta com a elevação da temperatura (ALBUQUERQUE, 2011).

O leite de cal é obtido pela hidratação da cal, de acordo com a reação que se segue (MARQUES; MARQUES; TASSO JÚNIOR, 2001).



A presença de cal ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) e o aumento da temperatura levam à formação de um precipitado flocoso de composição complexa, no qual se encontram partículas de fosfato de cálcio, sais de ácidos orgânicos, proteínas desnaturadas (albumina), gorduras, ceras e gomas. Esse precipitado adsorve e arrasta grande parte do material suspenso no caldo, sendo posteriormente separado por decantação (HUGOT, 1977).

A operação correta de calagem requer um tempo de reação entre o caldo e a cal. Nessa etapa ocorrem numerosas reações químicas entre os constituintes do caldo e da cal, precipitando as impurezas que serão removidas nas etapas subsequentes. Muitas dessas reações não são instantâneas e necessitam de um período para se completar, exigindo um tempo de residência mínimo para se obter os resultados esperados. Na prática, o que se utiliza é a chamada “alcalinização retardada” na qual entre a aplicação da cal e o aquecimento do caldo decorrem de 10 a 15 minutos (ALBUQUERQUE, 2011).

De acordo com Bezerra (2005), o tempo de reação entre o caldo e a cal é o desafio da calagem, sendo recomendado o tempo de 15 a 20 minutos. Entretanto, o que se observa na prática são os tempos de residência reduzidos a menos de um minuto ou até dosagens diretas na linha, o que certamente afeta negativamente a qualidade de clarificação do caldo.

As indústrias esperam, geralmente, em torno de 15 minutos para a reação entre a cal e o caldo. Entretanto, na unidade em que foram realizados os experimentos, existe um tanque pulmão, denominado de tanque de caldo dosado, onde o caldo permanece a temperatura de 75-80°C durante aproximadamente 30 minutos antes de entrar no decantador. Esse tanque é de grande importância, pois possibilita a continuidade dos processos na usina, mesmo em situações de paradas rápidas, que de outra forma, poderiam interromper a produção de açúcar.

### **2.2.3.2 Sulfodefecação**

A defecação é um método universal e indispensável, já a sulfitação é um processo que não é utilizado em todas as usinas (HUGOT, 1977).

A sulfodefecação fundamenta-se na utilização de anidrido sulfuroso ( $\text{SO}_2$ ) e leite de cal na forma de  $\text{Ca(OH)}_2$ , como agente de neutralização (MARQUES; MARQUES; TASSO JÚNIOR, 2001). Constitui o principal processo de clarificação do caldo de cana empregado nas usinas brasileiras que produzem açúcar cristal branco e consiste, basicamente, na adição de dióxido de enxofre gasoso ( $\text{SO}_2$ ) ao caldo misto, pré-aquecido à temperatura de 60°C, até atingir o valor de pH entre 3,8 e 4,2 (aproximadamente 150 a 300 g de enxofre por tonelada de cana) e posterior alcalinização com leite de cal até pH 7,0-7,2. A neutralização do caldo sulfitado, conduz à formação do precipitado pouco solúvel de sulfito de cálcio, que atua na

adsorção dos compostos coloridos e outras impurezas. Em seguida, o caldo é aquecido à temperatura entre 100-105°C e enviado aos sedimentadores para a remoção dos compostos precipitados (HONIG, 1953; DELGADO; CESAR, 1977).

A ação do dióxido de enxofre, SO<sub>2</sub>, ao caldo, tem duas principais funções: a primeira é a eliminação de materiais corantes, propriedade comum a todos os ácidos, e a segunda, a possível transformação dos sais férricos, resultantes do contato direto com equipamentos como tanques, tubulações e moendas, em compostos ferrosos incolores (HUGOT, 1977).

A etapa de sulfitação pode ocorrer tanto antes como depois da calagem, entretanto, de maneira geral, o método de sulfitação antes da calagem é preferível (HUGOT, 1977). Na unidade em que foi realizado o experimento, a sulfitação segue a etapa de calagem.

### **2.2.3.3 Aditivos para auxiliar na clarificação do caldo-de-cana**

Certas variedades de cana fornecem um caldo pobre em ácido fosfórico, tornando o seu tratamento difícil; são as chamadas canas refratárias (HUGOT, 1977). A clarificação de caldos deficientes em fosfato natural é comumente auxiliada pela adição de fosfatos (PAYNE, 1990).

Geralmente, realiza-se a adição de ácido fosfórico antes da calagem para que o ácido precipite parte dos coloides, enquanto que, a cal neutraliza o meio e permite a formação dos flocos de fosfato de cálcio, os quais agregam as impurezas coloidais e adsorvem os compostos coloridos. O precipitado é então separado por sedimentação ou por flotação (HUGOT, 1977; TFOUNI, 2005).

O processo de carbonatação consiste em adicionar leite de cal e gás carbônico (CO<sub>2</sub>) ao caldo de cana, sob condições controladas, formando um precipitado cristalino, o carbonato de cálcio. Este, por sua vez, adsorve e incorpora grande parte da matéria coloidal e insolúvel, os não açúcares inorgânicos e as substâncias que conferem cor ao caldo. Na sequência, o precipitado é separado do caldo clarificado por filtração (CHEN; CHOU, 1993).

Embora diversos não açúcares sejam precipitados com a calagem, este processo é deficiente quanto à remoção dos polissacarídeos e compostos coloridos. Para melhorar a eficiência deste tratamento, podem ser adicionados polieletrólitos, copolímeros de acrilamida e acrilato de sódio com longas cadeias, parcialmente hidrolisadas (25 a 30%) e alta massa molecular (> 15 milhões) que agrupam os coágulos em flocos maiores favorecendo a decantação (SOUZA, 1988).

O óxido de magnésio pode ser utilizado como substituto parcial da cal (30-70%), uma vez que auxilia na redução das incrustações nos evaporadores (DELGADO, 1975). As

incrustações na evaporação são compostas principalmente de sulfato de cálcio e sílica. Dessa forma, sendo o sulfato de magnésio solúvel, uma menor quantidade desse se depositará nos tubos, quando comparada com a utilização da cal.

#### **2.2.3.4 Adição de enzimas para auxiliar na etapa de clarificação**

As enzimas dextranase e alfa amilase são utilizadas para auxiliar a clarificação do caldo de cana.

A dextranase hidrolisa as ligações  $\alpha$ -1,6 glicosídicas da dextrana e é utilizada em caldo de cana-de-açúcar nas épocas chuvosas devido ao aumento da contaminação da cana-de-açúcar por microorganismos produtores de polissacarídeos, como *Leuconostoc mesenteroides* (FIGUEIRA, 2009; RAVAGNANI, 2010).

A remoção da dextrana de caldos contaminados por métodos enzimáticos tem sido, nas últimas décadas, de grande importância para o setor sucroalcooleiro (SOUZA, OLIVEIRA, 1998). A aplicação da dextranase é o método mais eficiente para hidrolisar as dextranas nas usinas (JIMÉNEZ, 2009). De acordo com Stupiello (2010b), a dextranase deve ser aplicada no caldo misto.

A alfa amilase, por sua vez, é utilizada durante toda a safra para hidrolisar o amido e facilitar a filtração e cristalização da sacarose (FIGUEIRA, 2009).

A utilização e a forma de atuação dessa enzima no processo de produção do açúcar serão discutidas no tópico 2.5.4.

#### **2.2.3.5 Aquecimento do caldo**

O caldo, após a caleagem, deve ser aquecido em torno de 100°- 105°C, a fim de que a floculação dos seus coloides se processe com maior eficiência e rapidez, visto ser o calor o fator complementar da operação de clarificação do caldo, após o tratamento (DELGADO, 1975).

Os objetivos do aquecimento do caldo são: eliminar microrganismos pela esterilização, completar as reações químicas com o agente alcalinizante, flocular as impurezas insolúveis e remover os gases. A eliminação eficiente dos gases é obtida após a passagem do caldo pelo balão de flash, antes de entrar do decantador (PAYNE, 1990).

#### **2.2.3.6 Decantação**

A decantação consiste na remoção de impurezas que foram floculadas pela ação de agentes clarificantes e pelo aquecimento. Nessa fase eliminam-se as impurezas de maior

densidade que o caldo, as quais se separam por sedimentação e por emersão. A decantação pode ser intermitente ou contínua, sendo a última a mais utilizada atualmente (DELGADO, 1975).

Os decantadores contínuos devem receber continuamente o fluxo de caldo tratado, que, devido à forma de construção de tais equipamentos, permitem a separação em duas frações: caldo clarificado e as borras, ou lodo. O caldo clarificado sai pela parte superior e as impurezas pela parte inferior (DELGADO, 1975; MARQUES; MARQUES; TASSO JÚNIOR, 2001). Ou seja, nos decantadores ocorre apenas a separação física entre o caldo e os flocos formados, sendo a qualidade do caldo clarificado dependente mais dos tratamentos químicos e térmicos efetuados antes, do que da própria decantação (ALBUQUERQUE, 2011).

A capacidade de um decantador é determinada pelo tempo de retenção necessário para permitir a sedimentação do lodo. O tempo de retenção ótimo do caldo no decantador é o mínimo que se necessita para conseguir um caldo limpo e claro (ALBUQUERQUE, 2011).

Os decantadores utilizados no processo podem ser do tipo convencional ou rápido. O tempo de retenção no decantador convencional é de aproximadamente três horas e uma hora no decantador rápido, (ALBUQUERQUE, 2011). O tipo de decantador utilizado na usina onde parte do trabalho foi desenvolvida é do tipo semi-rápido e o tempo de retenção do caldo caado de aproximadamente duas horas.

De acordo com Chen e Chou (1993), uma boa decantação, além de ser eficiente na clarificação do caldo, deve também ter um curto período de retenção e grande eficiência na remoção do lodo, a fim de reduzir as perdas por inversão causadas por acúmulo de lodo.

Durante o período de decantação, o pH do caldo modifica-se e cai de cerca de 0,8 a 1,0 ponto. Essa queda é mais acentuada no compartimento inferior dos decantadores que no superior, ou superiores. Apesar das precauções tomadas, ocorrem perdas de sacarose por inversão nessa etapa, porque o lodo deteriora-se mais rapidamente que o caldo clarificado.

De acordo com Hugot (1977), a acidez ou alcalinidade do caldo caado entrando na evaporação, não é indiferente. Quando se deseja obter um açúcar branco, é necessário um caldo defecado ácido com manutenção do seu pH entre 6,4 e 6,6. Já para a produção do açúcar demerara, o pH do caldo caado pode ser um pouco alcalino, com um pH entre 7,1 e 7,5. Assim evita-se qualquer risco de perda por inversão, que pode ocorrer no caso do caldo com pH 6,9. Na usina o pH do caldo clarificado, na saída do decantador, é mantido na faixa de 6,4 a 6,8.

Parte do amido presente no caldo de cana é eliminada na etapa de decantação, juntamente com o precipitado flocoso que se forma nessa etapa (HUGOT, 1977). De acordo a empresa fabricante da Starmax E01, além da enzima auxiliar na redução do teor de amido no caldo, quando esta é aplicada na etapa de clarificação ela auxilia na melhoria da eficiência na etapa de decantação.

#### **2.2.4 Concentração do caldo**

O caldo de cana purificado é uma solução diluída de sacarose e de outras substâncias e, para que ocorra a cristalização da sacarose, é necessário que grande parte da água seja removida (STUPIELLO et al.,1971). A concentração do caldo, contendo em torno de 15% de açúcares, ocorre em duas etapas: a evaporação, com obtenção do xarope (65° Brix) e o cozimento deste dando origem a massa cozida.

A evaporação do caldo é realizada em evaporadores a vácuo, aquecidos a vapor, para que a concentração do xarope fique entre 60 e 70° Brix, sendo recomendado 65° Brix. A quantidade de água removida na evaporação é cerca de 80% em massa do caldo, ou aproximadamente 70 - 80% da massa de cana (FERREIRA JÚNIOR et al., 2013). O xarope, antes de seguir para o cozimento, passa por uma etapa de flotação. Nessa etapa são adicionados compostos poliméricos que auxiliam na limpeza do xarope, eliminando parte dos não açúcares restantes (TFOUNI, 2005).

O xarope resultante dos evaporadores passa para os cozedores, também chamados de vácuos, vasos muito semelhantes aos evaporadores, que trabalham em simples efeito, ou seja, independentemente. Cada cozedor recebe uma carga de xarope e é aquecido até que atinja supersaturação (85 a 95° Brix), habilitando a formação de cristais de sacarose. Ao final, tem-se uma massa densa denominada massa cozida, que é uma mistura de cristais de sacarose e “licor mãe”. O cozimento se processa de diversas formas, com técnicas que visam a controlar o tamanho e a homogeneidade dos cristais. O principal objetivo do cozimento é produzir a maior percentagem possível de cristais e produzir um açúcar uniforme com cristais do tamanho desejado (TFOUNI, 2005; FERREIRA JÚNIOR et al., 2013).

Após o crescimento dos cristais de açúcar, a massa é descarregada nos cristalizadores, equipamento onde se completa a cristalização do açúcar.

#### **2.2.5 Centrifugação**

O objetivo da centrifugação consiste basicamente na separação do mel (fase líquida) que envolve os cristais de açúcar de forma a obter um produto mais claro e de polarização

mais alta. Sob a força centrífuga o mel escoia através das perfurações da cesta das centrífugas ou turbinas, para a caixa dos méis (DELGADO; CESAR, 1977; PAYNE, 1989).

A centrifugação do açúcar é uma etapa fundamental para obtenção de um produto de qualidade e o conhecimento das máquinas, equipamentos e técnicas corretas envolvidas é de extrema importância para obter o máximo de qualidade, de segurança e de eficácia dessa operação, (PAYNE, 1989).

### **2.2.6 Etapas finais de processo**

As etapas finais de obtenção do açúcar envolvem a secagem, resfriamento e o acondicionamento do açúcar.

Os cristais são secos em evaporadores que utilizam ar quente em contracorrente. Na saída, o ar quente resfriado carrega pó de açúcar, que é lavado com água e dissolvido, sendo essa água usada na lavagem das turbinas (TFOUNI, 2005).

Após a secagem, o açúcar é resfriado e acondicionado em sacos de 50 kg ou em *big bags* de 1 200kg para armazenamento e posterior distribuição (TFOUNI, 2005).

## **2.3 Tipos de açúcar**

No Brasil são produzidos diversos tipos de açúcar, sendo os principais (BOSCARIOL, 2005): VHP (*Very High Polarization*), o qual é totalmente exportado, sendo a principal matéria-prima para as refinarias na Europa, Ásia e outros; os diversos tipos de açúcar cristal branco, com cor ICUMSA variando de 100 a 300UI; o refinado amorfo, que é o açúcar de consumo doméstico no Brasil e o refinado granulado que é exportado, em sua maior parte (Figura 7).



Figura 7 - Tipos de açúcar

Fonte: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAAQ0oAE/alcool-acucar-unidade-ii-fabricacao-acucar>

Os principais parâmetros utilizados para a classificação dos tipos de açúcar são: cor, granulometria, Pol (teor de sacarose), teores de sulfito, amido, dextrana, cinzas, entre outros. A cor ICUMSA é dada pelo valor numérico da cor de uma solução açucarada, medida pelo método da International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis – ICUMSA (CRUZ; SARTI, 2013).

Os principais tipos de açúcares comercializados no Brasil são discutidos, brevemente, a seguir (FAVERO, 2011; MACHADO, 2012; CRUZ; SARTI, 2013).

Açúcar VHP (*Very High Polarization*): é utilizado como matéria-prima para outros processos, sendo em sua maior parte exportado e destinado ao refino devido a sua alta polarização. Trata-se de um açúcar bruto, de coloração mais intensa, que permite aos clientes transformá-lo em diferentes tipos de açúcar para o consumo, principalmente em açúcar refinado.

Açúcar VVHP (*Very Very High Polarization*): assim como o VHP, o açúcar VVHP é destinado ao refino devido a sua alta polarização, possui uma cor menos intensa, polarização mais alta e maior filtrabilidade.

**Açúcar Cristal:** é a denominação dada ao açúcar obtido por cristalização controlada do caldo de cana tratado. Para a sua obtenção é necessário um processo mais exigente de clarificação, utilizando sulfitação e caleagem. São cristais finos, regulares, com alto brilho e pureza de 99,5%. É ideal para produção de bebidas carbonatadas, licores, sucos, sorvetes e doces em geral. Suas principais características são: baixo teor de sólidos solúveis não açúcares e coloração mais clara (tendendo ao branco).

**Açúcar Refinado:** pode ser obtido por um processo de refino do açúcar cristal dissolvido, através de cristalização controlada. Este processo resulta em dois tipos de açúcar: refinado granulado e refinado amorfo.

- **Açúcar Refinado Granulado:** apresenta coloração clara, baixo teor de umidade ou empedramento, cristais bem definidos e granulometria homogênea. É indicado para processos que exijam alta pureza e produtos que exijam transparência quando acabados. Devido sua alta pureza, composição de 99,8% de sacarose, ele não interfere no sabor final dos produtos; é utilizado para produção de bebidas lácteas e achocolatados, doces, em panificação, refrescos em pó, aditivos especiais para carnes e derivados e xaropes farmacêuticos.

- **Açúcar Refinado Amorfo:** possui granulometria muito fina e irregular, baixa cor e alta higroscopicidade, sendo ideal para processos que exijam dissolução rápida. Ele se homogeneiza com facilidade com outros produtos.

**Açúcar de Confeiteiro:** é obtido juntamente com a produção do açúcar refinado amorfo, apresentando-se na forma de um pó fino, de baixa cor, extremamente higroscópico, razão pela qual é adicionado de um agente antiumedante como o amido, sendo indicado especialmente para aplicação em coberturas de doces, bolos e confeitos de um modo geral.

**Açúcar Líquido (sacarose):** é límpido, claro, isento de odor e aroma, com concentração aproximada de 65% a 68% de sólidos, sendo obtido por dissolução do açúcar cristal em água isenta de cloro. É muito utilizado na indústria alimentícia para a produção de bebidas carbonatadas ou não, licores, sucos de frutas, sorvetes, alimentos matinais, balas achocolatadas, biscoitos, confeitos e cervejas especiais adoçadas. Como já vem dissolvido, não apresenta custos de dissolução para o processo em que será utilizado.

**Açúcar Líquido Invertido:** é a denominação dada ao açúcar obtido por hidrólise ácida controlada de solução de sacarose, resultando em uma mistura de glicose, frutose e sacarose. O produto obtido é um xarope transparente isento de odores e aromas, com poder edulcorante maior que o da sacarose. Encerra perto de 76% de sólidos solúveis, constituídos por 34% de sacarose e 66% de açúcar invertido em água. Este tipo de açúcar também pode ser obtido por hidrólise enzimática utilizando-se a invertase.

Açúcar Mascavo: é o açúcar proveniente da cana e obtido por um processo mais simples. De coloração entre caramelo e marrom, é um açúcar praticamente bruto, extraído do cozimento e cristalização do caldo de cana sem passar pelos processos de branqueamento, cristalização e refino. Seu sabor é mais pronunciado e lembra o caldo da cana por seu grande teor de melaço. É utilizado para a produção de pães, bolos, biscoitos integrais e granolas.

Açúcar orgânico: açúcar de granulação uniforme, obtido seguindo parâmetros similares de produção, entretanto deve ser produzido sem qualquer aditivo químico tanto na fase agrícola como na industrial. Segue padrões internacionais e certificação por órgãos competentes.

Açúcar Demerara: Produto de cor escura, que não passou pelo refino. Os cristais contêm melaço e mel residual da própria cana-de-açúcar. Com textura firme, não se dissolve facilmente.

A produção brasileira de açúcar na safra 2012/2013 foi de 38,34 milhões de toneladas, 0,17% a mais que na safra anterior (CONAB, 2013a). De acordo com estimativas, na safra 2013/2014, ocorrerá um crescimento de 13,61% chegando a 43,53 milhões de toneladas (CONAB, 2013b).

No período de janeiro a agosto de 2012, o açúcar bruto foi o produto mais vendido, em valor (com vendas de US\$ 502,5 milhões, representando 13,6% do total exportado pelas cooperativas), seguido por soja em grãos (US\$ 465,3 milhões, 12,6%); açúcar refinado (US\$ 413,3 milhões, 11,2%); café em grãos (US\$ 412 milhões, 11,2%); e carne de frango (US\$ 399,4 milhões, 10,8%) (BRASIL, 2013a).

De acordo com dados do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, no primeiro quadrimestre de 2013, o açúcar refinado esteve entre os principais produtos exportados pelas cooperativas, com vendas de US\$ 469,5 milhões, representando 25,5% do total exportado pelas cooperativas (BRASIL, 2013b). Por outro lado, a produção mundial de açúcar na safra 2013/2014 está estimada em 170 milhões de toneladas (USDA, 2013).

Além de maior produtor, o Brasil consagra-se também como o maior exportador mundial de açúcar, seguido pela Tailândia e Austrália. A estimativa de exportação de açúcar pelo Brasil na safra 2013/2014 é de 29 milhões de toneladas, apesar da provável expansão na produção de etanol das usinas (USDA, 2013). Nas Tabelas 3 e 4 estão apresentados os dados de exportação anual de açúcar por Estado brasileiro e o ranking de exportação de açúcar na safra 2012/2013.

Tabela 3 - Exportação Anual de Açúcar por Estado Brasileiro (Toneladas)

Estados	Safr				
	2008/2009	2009/2010	2010/2011	2011/2012	2012/2013
São Paulo	13.797.420	16.460.462	18.264.427	15.026.669	16.337.433
Paraná	2.132.825	2.035.474	2.721.486	2.755.990	2.782.530
Minas Gerais	1.365.841	1.782.071	1.779.368	2.373.199	2.639.601
Alagoas	2.092.658	1.846.540	1.877.355	1.896.855	1.719.511
Mato Grosso Do Sul	210.945	521.785	1.030.736	1.293.809	1.514.941
Pernambuco	874.182	921.411	849.353	754.447	598.019
Goiás	98.513	309.029	456.881	584.830	929.368
Paraíba	26.592	42.969	86.104	125.571	113.644
Santa Catarina	0	0	328.837	0	12
Espírito Santo	28.227	30.158	39.432	60.580	83.767
Rio Grande Do Norte	93.375	50.990	33.410	23.897	8.689
Mato Grosso	12.549	57.836	16.642	21.685	18.540
Sergipe	17.389	16.052	27.834	25.564	36.865
Rio De Janeiro	44.320	13.558	1.496	2.540	69
Rio Grande Do Sul	27	64	27	0	4.080
Maranhão	0	0	0	0	2.744
Rondônia	10	0	329	63	0
Acre	38	17	37	0	0
Pará	5	4	8	0	0
Ceará	0	5	1	0	0
<b>Centro-Sul</b>	17.690.698	21.210.440	24.639.751	22.119.305	24.312.258
<b>Norte-Nordeste</b>	3.104.249	2.877.987	2.874.701	2.826.396	2.479.520
<b>Total</b>	20.794.946	24.088.426	27.514.452	24.945.701	26.791.778

Fonte: UNICA (2013a)

Tabela 4 - Ranking de Exportação de Açúcar por Estado na Safra 2012/2013 (em toneladas)

Ranking	Estados	Quantidade	Participação (%)
1	São Paulo	16.337.433	60,98%
2	Paraná	2.782.530	10,39%
3	Minas Gerais	2.639.601	9,85%
4	Alagoas	1.719.511	6,42%
5	Mato Grosso Do Sul	1.514.941	5,65%
6	Outros	1.797.762	6,71%
	<b>Total</b>	<b>26.791.778</b>	<b>100,00%</b>

Fonte: UNICA (2013a)

Na safra 12/13 a China foi o país com maior participação na importação de açúcar brasileiro, seguido pelos Emirados Árabes e Indonésia, como pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5 - Comparativo mensal das exportações brasileiras por destino - valores acumulados de abril a março da safra 2012/2013

	<b>Países</b>	<b>Quantidade (t.)</b>	<b>Participação (%)</b>
1	China	2.426.621	9,06%
2	Emirados Árabes Unidos	1.875.447	7,00%
3	Indonésia	1.652.388	6,17%
4	Argélia	1.638.013	6,11%
5	Rússia	1.590.816	5,94%
6	Egito	1.331.386	4,97%
7	Índia	1.315.212	4,91%
8	Malásia	1.240.366	4,63%
9	Bangladesh	1.195.333	4,46%
10	Arábia Saudita	1.163.011	4,34%
	Outros	11.363.184	42,41%
	<b>TOTAL</b>	<b>26.791.777</b>	<b>100,00%</b>

Fonte: UNICA (2013a)

## 2.4 Amido na cana-de-açúcar

### 2.4.1 Síntese de amido

O processo de maturação da cana-de-açúcar envolve um sistema metabólico complexo, que se inicia com a atividade fotossintética nos cloroplastos das células das folhas, culminando com o acúmulo de carboidratos fotossintetizados, principalmente sacarose, nos colmos (RODRIGUES, 1995).

Durante a fotossíntese, parte da sacarose produzida é exportada para as folhas, principalmente nos vacúolos. Parte do carbono assimilado na fotossíntese é transformada em amido, no cloroplasto (RODRIGUES, 1995).

A sacarose é a principal forma de carboidrato translocado através da planta pelo floema. O amido é uma reserva estável e insolúvel de carboidratos, sendo a forma mais compacta de conservação de energia. Tanto o amido como a sacarose são sintetizados a partir da triose fosfato gerada pelo ciclo de Calvin. Nas plantas, o sítio de síntese do amido é o cloroplasto (DIOLA; SANTOS, 2010).

O amido é sintetizado a partir da triose fosfato via frutose 1,6 – bifosfato. A glicose-1-fosfato intermediária é convertida a ADP-glicose via uma ADP-glicose pirofosforilase em uma reação que requer ATP e produz pirofosfato (PPi ou  $H_2P_2O_7^{2-}$ ). Assim como em muitas reações biosintéticas, o pirofosfato é hidrolisado em duas moléculas de ortofosfato (Pi) por meio de uma pirofosfatase inorgânica específica, acionando, desse modo, a reação na direção da síntese de ADP-glicose. Por fim, a porção de glicose da ADP-glicose é transferida para a extremidade não redutora (carbono 4) da glicose terminal de uma cadeia de amido em crescimento, completando assim, a sequencia de reações (DIOLA; SANTOS, 2010).

A conversão das trioses fosfato em glicose-1-fosfato nas rotas que levam à síntese do amido e da sacarose possuem varias etapas em comum, entretanto essas rotas utilizam enzimas isoformas (diferentes formas de enzimas que catalisam a mesma reação) que são específicas do cloroplasto ou citosol (LEITE, 2005; DIOLA; SANTOS, 2010).

A síntese de sacarose que ocorre no citosol e a síntese de amido que se verifica no cloroplasto são processos competitivos que se estabelecem nas folhas da cana-de-açúcar. O excesso de triose fosfato pode ser utilizado tanto para síntese de sacarose no citosol, como para a síntese de amido no cloroplasto, sendo que as condições que promove um deles inibe o outro. A comunicação entre os compartimentos é feita através do transportador fosfato/triose fosfato, que catalisa o movimento em direções opostas. Quando a concentração de ortofosfato citosólico é alta, a triose fosfato do cloroplasto é exportada para o citosol por meio de um transportador de ortofosfato, em troca de ortofosfato, e a sacarose é sintetizada. Quando a concentração citosólica de ortofosfato é baixa, a triose fosfato é retida dentro do cloroplasto e o amido é sintetizado (LEITE, 2005; DIOLA; SANTOS, 2010).

A síntese de sacarose é de fundamental importância para o enriquecimento dos entrenós do colmo, enquanto a síntese de amido revela imaturidade da cana-de-açúcar. Plantas jovens e a região apical do colmo são ricas em amido (LEITE, 2005).

De acordo com Diola e Santos (2010), o amido é um composto essencial à vida da planta, funcionando como um potencial tampão de reservas que pode ser convertido em açúcares.

O amido é produzido na cana-de-açúcar como polissacarídeo de reserva utilizado durante períodos de rápido crescimento, tais como surgimento de raízes e brotos e germinação das sementes (IMRIE; TILBURY, 1972). Normalmente os teores mais elevados de amido em cana-de-açúcar são encontrados nos ponteiros e nós (STUPIELLO, 2003).

Segundo Eggleston, Legendre e Tew (2004), o teor de amido é maior na cana-de-açúcar imatura do que na cana madura, sendo observado que durante a safra houve

decréscimo no teor de amido em todas as amostras e sistemas de clarificação do açúcar, e atribuído ao aumento da maturidade da cana-de-açúcar.

Godshall et al. (1996), determinaram o teor de polissacarídeos, de sólidos totais e o amido em 6 variedades de cana-de-açúcar cultivadas em Louisiana (EUA), durante os anos de 1990, 1991 e 1992. As variedades de cana-de-açúcar CP72-370, CP79-318, LCP82-89, CP65-357, CP74-383 e CP70-321 apresentaram teores médios de amido iguais a 1625 ppm, 1021 ppm, 602 ppm, 603 ppm, 612 ppm, 245 ppm baseados em sólidos. Estes valores correspondem a mg/kg.%Brix.

#### 2.4.2 Estrutura do amido

O amido é um polímero de elevada massa molecular e pode variar 300.000 a 2.000.000 Da (CUDDIHY; PORRO; RAIH, 2001), formado basicamente por glicose, consistindo em cadeias lineares (amilose) e cadeias ramificadas (amilopectina) (Figura 8). A composição do amido na cana-de-açúcar consiste em 20% de amilose e de 80% de amilopectinas (ALBUQUERQUE, 2011).

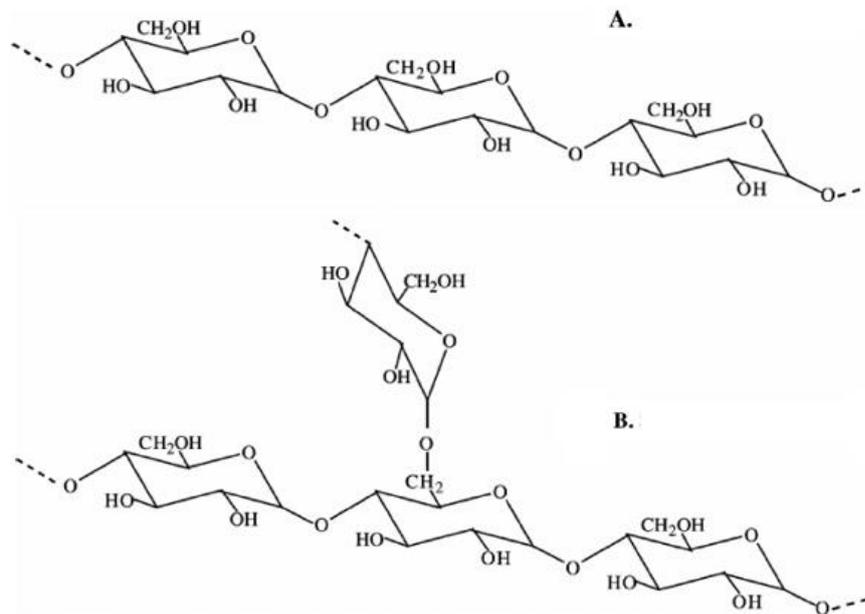


Figura 8 - Polímeros de glicose presentes no amido: amilose (A) e amilopectina (B)  
Fonte: Souza e Magalhães (2010)

A molécula do amido é insolúvel em baixas temperaturas, mas quando atinge temperaturas em torno de 60°C, pode gelatinizar, resultando em inchaço nos grânulos, que passam a ocupar volumes maiores (JOHNSON, 1989).

De acordo com Imrie e Tilbury (1972), o amido da cana-de-açúcar existe como grânulos semicristalinos que possuem tamanho de 1 a 10 $\mu$ m.

Figueira (2009) comparou o tamanho dos grânulos de amido de cana-de-açúcar com os de amido de batata, milho e mandioca e observou que são consideravelmente menores. Os grânulos de amido de batata, milho e mandioca apresentaram tamanho aproximado de 20 - 50  $\mu$ m, 10 - 15  $\mu$ m e 8 - 20  $\mu$ m, respectivamente (Figura 9).

A cana-de-açúcar contém quantidades variáveis de amido, dependendo da região da planta. O amido está presente no caule, mas é mais abundante nas folhas e no ápice do caule. Os grânulos são depositados principalmente nos nós e desaparecem durante o crescimento rápido (IMRIE; TILBURY, 1972).

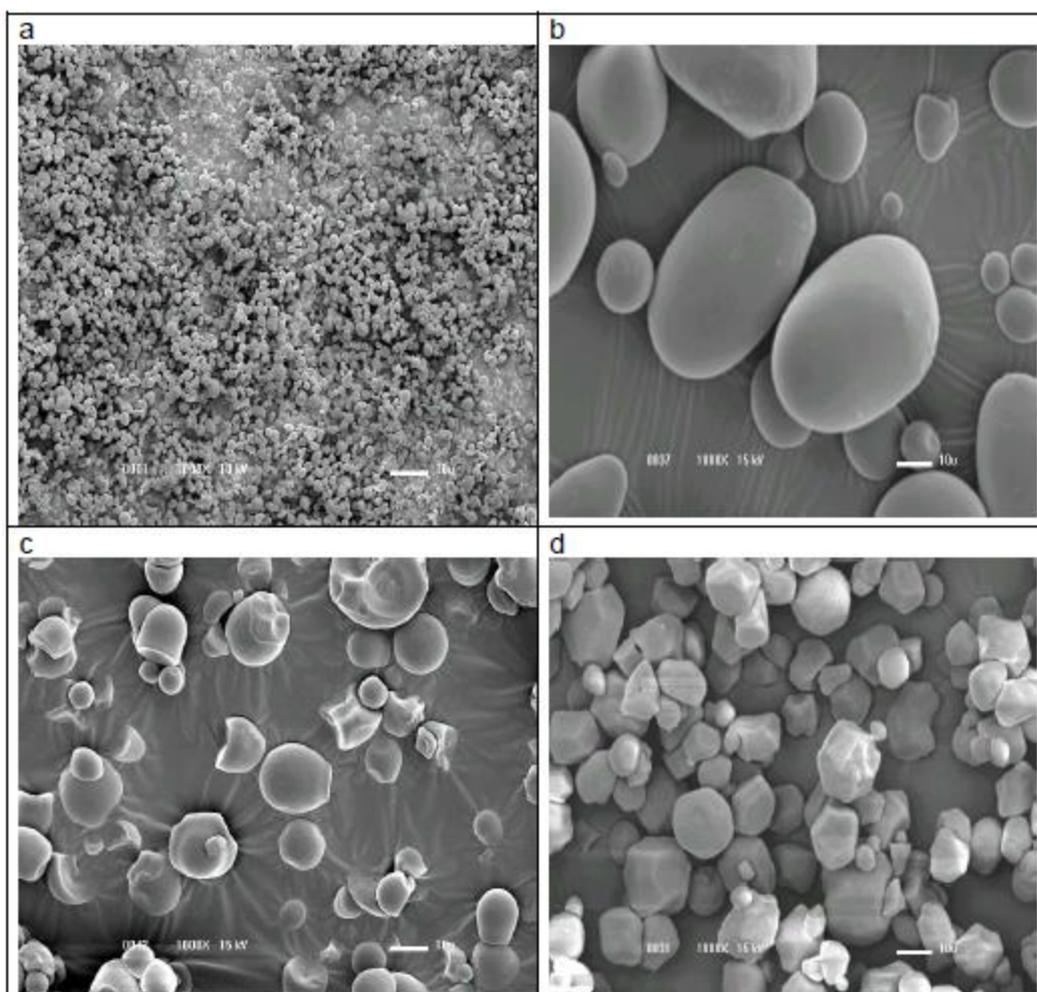


Figura 9 - Grânulos de amido de cana-de-açúcar (a), amido de batata (b), amido de mandioca (c) e amido de milho (d) (aumento 1000x)

Fonte: Figueira (2009)

#### 2.4.3 Problemas causados pelo amido na fabricação do açúcar

Técnicas de colheita ineficientes aumentam drasticamente o teor de matérias estranhas entregues às usinas (VIATOR et al., 2006). Com a proibição da prática da queima da cana no

campo, crescimento da mecanização do corte da cana-de-açúcar e aumento na entrega de cana crua (não queimada), tem se observado um aumento significativo no percentual de amido nas canas (ZHOU et al., 2008). Quanto maiores esses percentuais, maiores os impactos nas indústrias alimentícias, além disso, a experiência tem mostrado que a presença de amido e dextrana também está diretamente relacionada com outros parâmetros de qualidade do açúcar, tais como filtrabilidade, turbidez, flocos e cor (RAVAGNANI; BORGES; ESTELLER, 2011).

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

Durante o processamento do caldo de cana nas usinas, a solubilização e gelatinização dos grânulos de amido são completadas nas etapas de clarificação e evaporação. Durante essas etapas, os grânulos são aquecidos, expandem progressivamente e rompem com a liberação de amilose e amilopectina, transformando-se numa solução viscosa amorfa (EGGLESTON et al., 2006) (Figura 10).

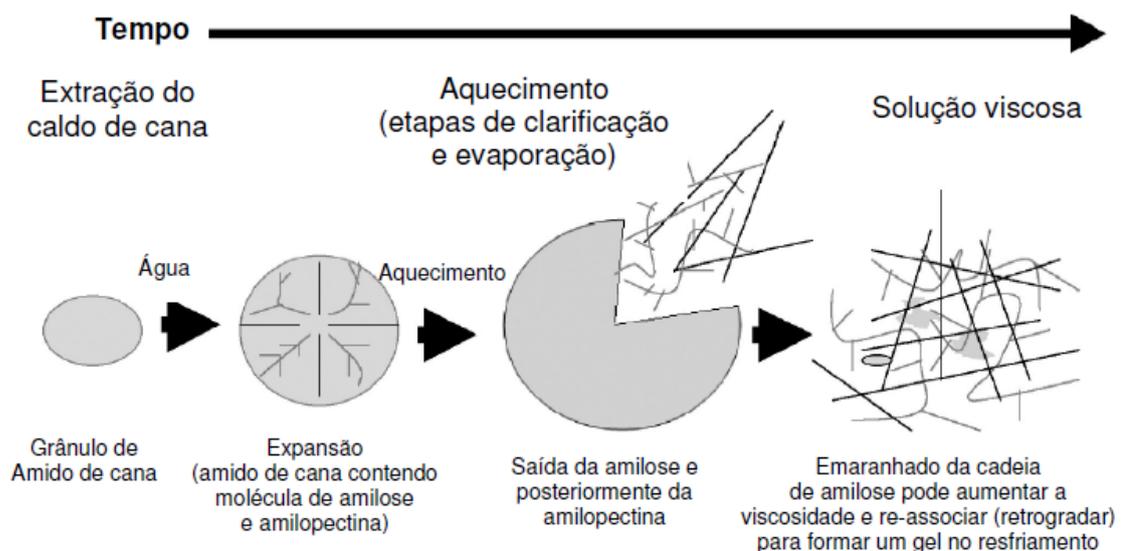


Figura 10 - Solubilização e gelatinização do amido durante o processamento da cana nas usinas  
Fonte: Alves (2012)

As variedades da cana diferem amplamente quanto ao conteúdo de amido e, as que possuem alto teor, tem sido a causa de problemas no processo de fabricação de açúcar (ALBUQUERQUE, 2011).

De acordo com Chen e Chou (1993), concentrações de aproximadamente 0,05% de amido na cana podem causar problemas operacionais na obtenção de açúcar.

O amido é indesejável no processo, pois reduz a velocidade de cristalização e dificulta a centrifugação, oclui o cristal de sacarose, aumenta a produção de melaço, reduz a filtrabilidade e afinação dos açúcares e impede os processos de descoloração nas refinarias (ZHOU et al., 2008).

O principal prejuízo do amido está no aumento da viscosidade das massas, dificultando a cristalização e a filtrabilidade do açúcar (GODOY, 2004).

De acordo com Martim (1959), mesmo em pequenas quantidades na cana, o amido pode alcançar concentrações suficientemente altas, aumentando a viscosidade e exercendo alto poder melassigênico no processo de concentração do açúcar.

O amido é uma impureza do caldo de cana que afeta negativamente os processos de produção e refinação e, posteriormente, a quantidade e qualidade do açúcar produzido. Ele pode ser encontrado em todas as fábricas e refinarias, em açúcares brutos e refinados e sua concentração em um determinado produto varia de acordo com o local de plantio, época, variedade, ciclo diurno, ocorrência de doenças, maturidade da cana-de-açúcar, condições do processo, eficácia das técnicas de remoção do amido, entre outras (ZHOU et. al., 2008).

De acordo com Johnson (1989), altas concentrações de amido em conjunção com teores médios de dextrana podem resultar num aumento sinérgico dos problemas de viscosidade. A combinação desses polissacarídeos dificulta o processamento do açúcar.

Os problemas causados pelo amido no processo podem ser evitados mediante a seleção de variedades de cana e a redução da moagem de canas verdes ou não perfeitamente maduras (ALBUQUERQUE, 2011).

O amido, além de causar problemas nos processos industriais, pode não ser eliminado durante o processamento e acabar incorporado ao açúcar cristal bruto. Estudos têm mostrado que concentrações de 200-250 ppm de amido em açúcar bruto na refinaria podem causar problemas durante as etapas produtivas (CUDDIHY; PORRO; RAIHH, 2006).

A qualidade do açúcar está diretamente relacionada com a composição química da cana-de-açúcar e com as operações que constituem seu processamento. Nos últimos 30 anos diversos estudos foram realizados para determinar a influência da composição da cana-de-açúcar na qualidade final do açúcar processado, com particular atenção na presença de

polissacarídeos, compostos que causam problemas durante o processamento para obtenção do açúcar na usina (CUDDIHY; PORRO; RAIH, 2001).

O amido, produzido pela cana e presente nas folhas, internódios e pontas da cana, é somente parcialmente removido no processo de fabricação do açúcar, e parte dele se deposita no interior dos cristais de açúcar, processo que se agrava no caso da moagem de cana crua (sem queimar) (OLIVEIRA; ESQUEVIATO; SILVA JÚNIOR, 2007).

Cuddihy, Porro e Raih (2001), estudando a presença do amido em quatro variedades de cana-de-açúcar da Austrália concluíram que o seu teor é uma característica da variedade. Observaram que o teor de amido não sofreu mudança significativa durante os últimos três meses de maturação e que o açúcar bruto produzido no começo da safra pode apresentar altos conteúdos de amido. Também verificaram que após o processo de extração do açúcar, cerca de 30 a 40% do amido presente no caldo ainda permaneceu no açúcar cristal branco.

A quantidade de amido em açúcar é um dos parâmetros mais importantes na avaliação do produto para a exportação. É um importante fator de qualidade na produção de açúcar bruto e açúcar refinado (RONALDSON; SCHOONEES, 2004).

Quantidades elevadas de amido resultam em produtos de baixa qualidade e de baixo valor de mercado sujeitos a penalidades (RONALDSON; SCHOONEES, 2004). Nas indústrias de bebidas, açúcares contendo amido acarretam problemas de qualidade como turbidez, pelo fato de ser insolúvel na presença de etanol (KOBBLITZ, 1998).

O teor de amido no açúcar é um item de especificação e possui valores máximos aceitáveis para cada tipo de açúcar. No caso do açúcar VVHP, o teor máximo de amido aceitável é de 80 mg/kg. Caso sejam produzidos açúcares com quantidades superiores aos limites estabelecidos, as usinas são penalizadas, e o açúcar desclassificado.

Para a redução do teor de amido no açúcar podem ser adotadas medidas como evitar a moagem de canas jovens, bem como de suas folhas (CHEN; CHOU, 1993), utilização de meios mecânicos, como a floculação a frio, adsorção por carvão vegetal, ou ainda, pela hidrólise enzimática (CHEN; CHOU, 1993, ALBUQUERQUE, 2011). O tratamento com a enzima  $\alpha$ -amilase é utilizado em vários países, geralmente pela sua adição no segundo estágio do evaporador (CHEN; CHOU, 1993).

A aplicação de enzimas alfa amilases tem sido utilizada para remoção do amido no caldo de cana, levando ao aumento nos rendimentos do processo e da qualidade do açúcar produzido.

#### 2.4.4 Utilização de enzimas na redução do teor de amido

As enzimas, amilase e dextranase, são utilizadas respectivamente, para a remoção do amido e da dextrana no caldo de cana-de-açúcar. Elas hidrolisam os polímeros em compostos de menor peso molecular e eliminam seus impactos negativos no processo e no produto final, reduzindo a viscosidade e aumentando o rendimento e a qualidade do açúcar produzido (FIGUEIRA, 2009; RAVAGNANI; BORGES; ESTELLER, 2011). De acordo com Anyangwa, Kapseu e Musonge (1993), a remoção do amido no processamento de cana-de-açúcar aumenta a capacidade, o volume e a qualidade de produção.

O uso de enzimas na indústria sucroalcooleira vem de encontro aos anseios de um setor que busca modernização e desenvolvimento de melhorias de processos que agreguem valor ao produto final, satisfaçam a demanda dos mercados nacional e internacional e promovam diferenciação, em um mercado cada vez mais competitivo. Nas usinas, as enzimas são basicamente utilizadas para solucionar os problemas causados pela presença de amidos e dextranas (OLIVEIRA, 2005).

De acordo com Ronaldson e Schoonees (2004), o ponto recomendado para a aplicação da enzima  $\alpha$ -amilase, prática realizada na África do Sul há aproximadamente 30 anos, seria o terceiro ou quarto evaporador de série de cinco, onde a temperatura é suficientemente alta para gelatinizar o amido, mas não causa a inativação da enzima.

Concentrações de 1000 ppm de  $\alpha$ -amilase em relação a amido (base seca) são suficientes para a remoção desse polissacarídeo, o que corresponde a 2,5 ppm de  $\alpha$ -amilase no caldo misto (KAMPEN, 2006 apud FIGUEIRA, 2009).

A dosagem ótima de Starmax E01 no processo de liquefação depende do tipo de matéria prima, tempo de processamento, pH, temperatura e quantidade de substância seca. Com base nos resultados de desempenho da enzima, o fabricante da Starmax E01 recomenda a dosagem de 2 ppm sobre a quantidade de amido em base seca. Para substituição de outras alfa-amilases termo resistentes, sua dose recomendada é 10 a 30% menor. Ainda, para o uso de Starmax E01 recomenda-se uma faixa de pH de 5,0 a 7,5 e uma faixa de temperatura de 80°C a 110°C (ANEXO A).

A maior parte das  $\alpha$ -amilases utilizadas pela indústria de açúcar nos Estados Unidos para controlar o teor de amido no caldo de cana-de-açúcar possuem temperatura de estabilidade intermediária (acima de 85°C, temperatura ótima próxima a 70°C), e são produzidas por *Bacillus subtilis* (FIGUEIRA, 2009).

Nos Estados Unidos e em muitos outros países, as  $\alpha$ -amilases são geralmente aplicadas no caldo nos últimos evaporadores, em que o amido está gelatinizado e dissolvido sob condições de temperatura entre 60 e 65°C (EGGLESTON et al., 2010).

A  $\alpha$ -amilase bacteriana termoestável Termamyl, utilizada em algumas unidades industriais do Brasil é obtida de *Bacillus licheniformis* e apresenta atividade ótima em pH de 6,0 e 7,0 e temperatura de 90°C (FIGUEIRA, 2009).

A enzima Starmax E01 apresenta maior estabilidade térmica e pode ser utilizada em temperaturas de 80 a 110°C, nas condições encontradas na etapa de clarificação do caldo nas usinas, sem que sejam inativadas.

Na usina onde foi desenvolvida parte dos experimentos deste trabalho, a aplicação da alfa amilase é realizada diariamente assim como o monitoramento do teor de amido no caldo e no açúcar. A dosagem da enzima ocorre na entrada do decantador.

Vários testes foram anteriormente realizados no processo com o objetivo de se determinar o melhor ponto de dosagem da enzima, entretanto, de acordo com os envolvidos, os resultados obtidos não foram satisfatórios.

#### **2.4.4.1 Alfa amilases**

As  $\alpha$ -amilases (EC 3.2.1.1) são enzimas distribuídas amplamente na natureza, podendo ser encontradas em animais, plantas fungos e bactérias. São endo-carboidrases capazes de hidrolisar ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4 existentes na amilose e amilopectina de forma aleatória (Figura 11) (KOBLOITZ, 2010). Elas estão entre as enzimas mais importantes, utilizadas em diversas aplicações biotecnológicas, particularmente nas empregadas em indústrias processadoras de amido para sua decomposição em açúcares simples (FIGUEIRA, 2009).

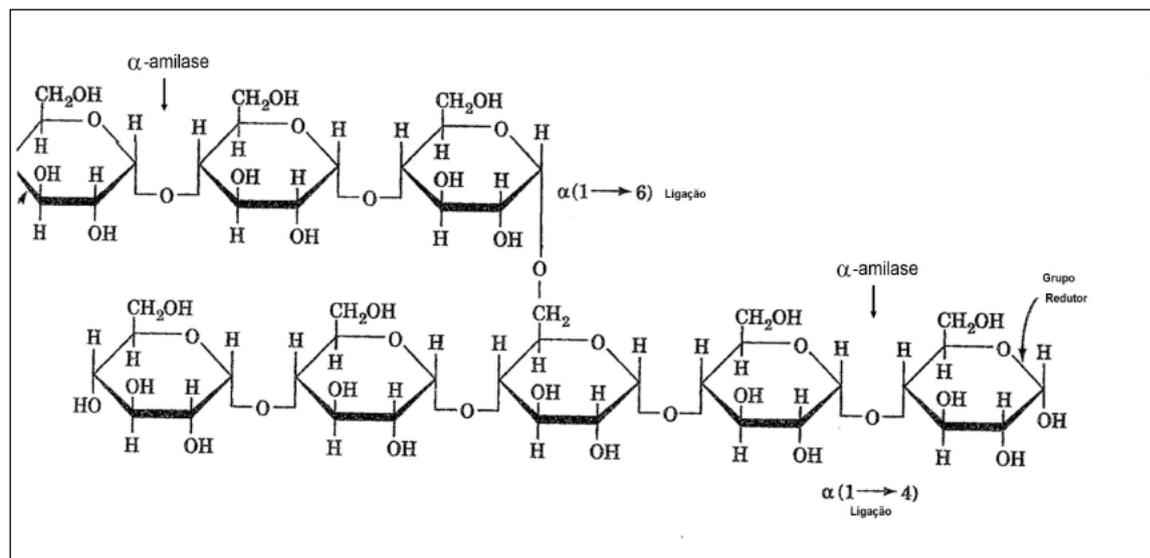


Figura 11 - Hidrólise do amido com alfa amilase  
Fonte: Figueira (2009)

As  $\alpha$ -amilases mais aplicadas em processos na indústria de alimentos são as obtidas de bactérias do gênero *Bacillus* (*B. licheniformes* e *B. subtilis*, que agem em pH de 6,0 a 7,0 e temperatura de 60 a 85°C) e as produzidas por fungos, do gênero *Aspergillus* (*A. oryzae* e *A. niger*; pH de 5,0 e temperatura de 50°C).

#### 2.4.4.2 Residual de alfa amilase no açúcar

Apesar da necessidade de remover o amido em açúcar, há restrições quanto ao uso de enzimas para essa finalidade, sobretudo no açúcar destinado às indústrias de alimentos. É possível que resíduos da enzima permaneçam no açúcar e causem efeitos negativos em determinados tipos de industrialização. Há estudos que comprovam a ocorrência de alfa amilase residual em açúcares purificados com uso de enzimas e sua ação negativa em formulações, causando prejuízos no processamento, incluindo a liquefação do amido e desestabilização de produtos (FIGUEIRA, 2009).

Nas usinas de açúcar há a preocupação quanto à utilização  $\alpha$ -amilases de *Bacillus licheniformis* e *B. stearothermophilus*, enzimas especificamente desenvolvidas para serem estáveis em altas temperaturas (até 115°C). Essas enzimas, se utilizadas na produção de açúcar, podem não ser inativadas/desnaturadas no processo, resultando em atividade residual no açúcar bruto, no melaço e, eventualmente no açúcar refinado e em produtos alimentares (EGGLESTON; MONTES, 2009).

Lemos et al. (2013), avaliaram a influência da utilização de açúcar cristalizado contendo altos níveis de dextrana e amido na produção de bebidas alcoólicas destiladas e de

bebidas ácidas carbonatadas e, de acordo com resultados, teores de  $228.00 \pm 0.87$  mg/kg de dextrana e  $168.98 \pm 1.67$  mg/kg de amido no açúcar foram suficientes para a formação de flocos em solução alcoólica a 89% de etanol em volume depois de 15 horas de armazenamento, fator considerado um dos maiores problemas nesse tipo de bebida.

Estudos envolvendo o amido e a dextrana são relevantes, pois, no Brasil, são parâmetros de qualidade em vários tipos de açúcares produzidos (LEMOS et al., 2013).

O *Bacillus stearothermophilus* produz uma  $\alpha$ -amilase estável em elevadas temperaturas (acima de  $105^{\circ}\text{C}$ ) e baixa quantidade de cálcio. Porém esta enzima não foi desenvolvida especialmente para a indústria açucareira e como é estável em elevadas temperaturas pode não ser desnaturada durante o processamento, resultando em transferência de atividade para o açúcar bruto e melaço, e conseqüentemente ao açúcar refinado e produtos alimentícios. Nos Estados Unidos houve dois casos de usinas que venderam o melaço final contendo atividade residual de  $\alpha$ -amilase para indústrias fabricantes de molho de churrasco, o que causou a liquefação do molho de churrasco. Com o objetivo de se evitar novas ocorrências em produtos alimentícios, os clientes das refinarias estão solicitando que não sejam utilizadas  $\alpha$ -amilases estáveis em elevadas temperaturas para produção de açúcar bruto (EGGLESTON et al., 2007).

#### **2.4.4.3 Estabilidade da enzima**

Várias substâncias podem alterar a atividade de uma enzima combinando-se de maneira que influenciem a ligação dela com o substrato. Essas substâncias podem ser chamadas como efetores, sendo ativadoras ou inibidoras de enzimas. Os metais são bons exemplos, pois possuem diferentes comportamentos em sua habilidade para agir como efetores. A alfa amilase é conhecida por ser uma enzima dependente de íons metálicos (PRAKASH et al., 2001). São enzimas que possuem o  $\text{Ca}^{2+}$  como parte integrante de sua molécula, são ativadas por esse íon e sofrem inibição por reagentes quelantes (PRAKASH et al., 2001; HAGIHARA et al., 2001). Os íons cálcio não aumentam a velocidade de reação das enzimas, mas aumentam sua estabilidade reduzindo a desnaturação e garantindo maior vida útil (KOBLOITZ, 2010).

Os quelantes orgânicos são compostos com pares de elétrons disponíveis que podem complexar ou sequestrar íons metálicos. Os agentes quelantes têm a capacidade de remover íons metálicos por sua solubilização. O EDTA (Figura 11) é um composto quelante bastante versátil, sendo amplamente usado na indústria, pois forma complexos muito estáveis com a

maioria dos metais, incluindo metais alcalino-terrosos, como o cálcio e o magnésio (RAPOSO, 2012).

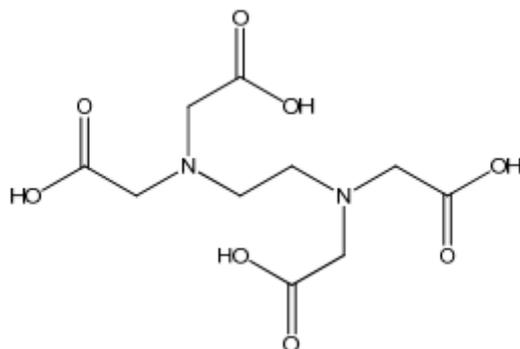


Figura 12 - Estrutura do Ácido Etilenodiaminotetra-acético (EDTA)  
Fonte: Raposo (2012)

Vallee et al. (1959) demonstraram que a adição de excesso de EDTA em amilase de *B. subtilis* durante 2 horas em temperatura 25°C, reduziu em 40% a atividade da enzima.

Prakash, Jaiswal e Pandey (2001), estudaram o efeito do sódio, cádmio e níquel e, de acordo com os resultados obtidos, concluíram que eles não influenciaram na atividade da enzima, que apresentaram atividade maior que 65%, mesmo na presença de íons metálicos na concentração de 5 mM.

De acordo com Spier (2005), o cálcio não participa diretamente na formação do complexo enzima-substrato, mas mantém a molécula da enzima na conformação ótima para a máximas atividade e estabilidade. Na prática, é importante a presença de cálcio para garantir que a enzima permaneça completamente ativa.

A atividade de  $\alpha$ -amilase pode ser determinada por métodos colorimétricos, viscosimétricos, nefelométricos, fluorométricos, difusão em gel, cromatográficos e imunológicos (ASP, 1990 apud Figueira, 2009).

De acordo com Gupta (2003), os métodos para avaliação da atividade da alfa amilase descritos na literatura são baseados na diminuição da intensidade da cor do complexo amido-iodo, aumento de açúcares redutores, determinação de compostos coloridos liberados de substratos complexados e redução da viscosidade em suspensões de amido.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no laboratório de Açúcar e Álcool do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ-USP, no laboratório de Controle de Qualidade da Usina Ipiranga de Açúcar e Álcool e no laboratório da empresa PROZYN Biosolutions.

#### 3.1 Materiais

As amostras de caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum L.*) foram coletadas na Usina Ipiranga de Açúcar e Álcool S.A, situada no município de Descalvado- S.P.

A enzima utilizada para redução do teor de amido no caldo de cana foi a  $\alpha$ -amilase Starmax E01, composta de uma mistura de enzimas amilolíticas, cedida pela empresa PROZYN Biosolutions. A ficha técnica da Starmax E01 encontra-se no Anexo A.

Para efeito de comparação dos resultados obtidos no período do experimento em relação a outros períodos e anos de safra, foram utilizados os dados analíticos obtidos na usina durante os meses de maio a dezembro de 2012 (safra 2012/2013) e de abril a setembro de 2013 (safra 2013/2014), definido neste trabalho como caldo *in natura*.

#### 3.2 Metodologia

##### 3.2.1 Coleta do caldo de cana

O caldo de cana-de-açúcar caleado, utilizado nos experimentos foi coletado semanalmente no período de outubro a dezembro de 2012.

As coletas foram realizadas na saída do tanque de dosagem de cal, antes de o caldo passar pelo tanque de caldo dosado, tanque pulmão em que o caldo após a calagem permanece por um período de aproximadamente 30 minutos para que ocorra a reação com a cal. Nesse ponto onde foi coletado, indicado no fluxograma (Figura 13), o caldo já passou pelos processos de sulfitação e calagem, sendo denominado de caldo caleado. Para melhor visualização do ponto de coleta da amostra, a figura foi ampliada (Figura 14).

Imediatamente após a coleta do caldo caleado, o mesmo era levado ao laboratório de Controle de Qualidade da Usina Ipiranga, homogeneizado e avaliado quanto aos parâmetros de °Brix, Pol, e pH. Uma parte do caldo de cana era armazenada em recipientes plásticos (capacidade de 250 mL) em freezer e após o congelamento era transportada dentro de recipientes de isopor para o laboratório de açúcar e álcool da ESALQ para ensaios de avaliação da influência dos tempos de retenção de 20, 40 ou 60 minutos a temperatura de 75-

80°C (condição do tanque de caldo dosado) e posteriormente durante 120 minutos a temperatura de 95°C (condição do decantador), no teor de açúcares.

O caldo utilizado para os ensaios de avaliação da ação da enzima na redução do teor de amido e do EDTA na estabilidade da enzima, foi coletado na usina, congelado em freezer, transportado em recipiente de isopor até o laboratório da empresa Prozyn, onde permaneceu armazenado em freezer até o momento da análise.

Para a realização dos ensaios, as amostras foram previamente descongeladas em refrigerador a 4°C, homogeneizadas e analisadas de acordo com os parâmetros a serem avaliados.

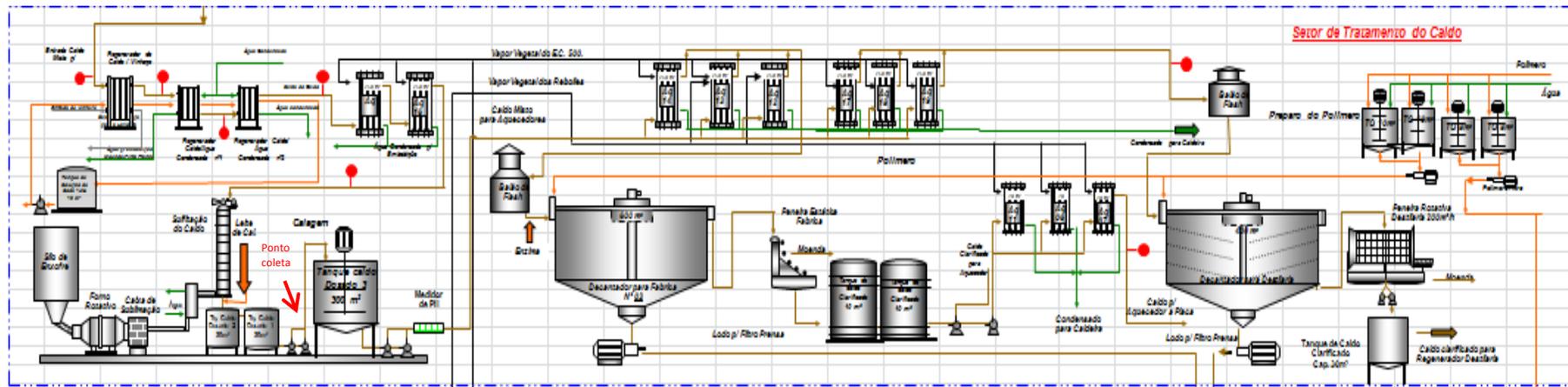


Figura 13 – Fluxograma do setor de tratamento do caldo com identificação do ponto de coleta da amostra  
 Fonte: Usina Ipiranga

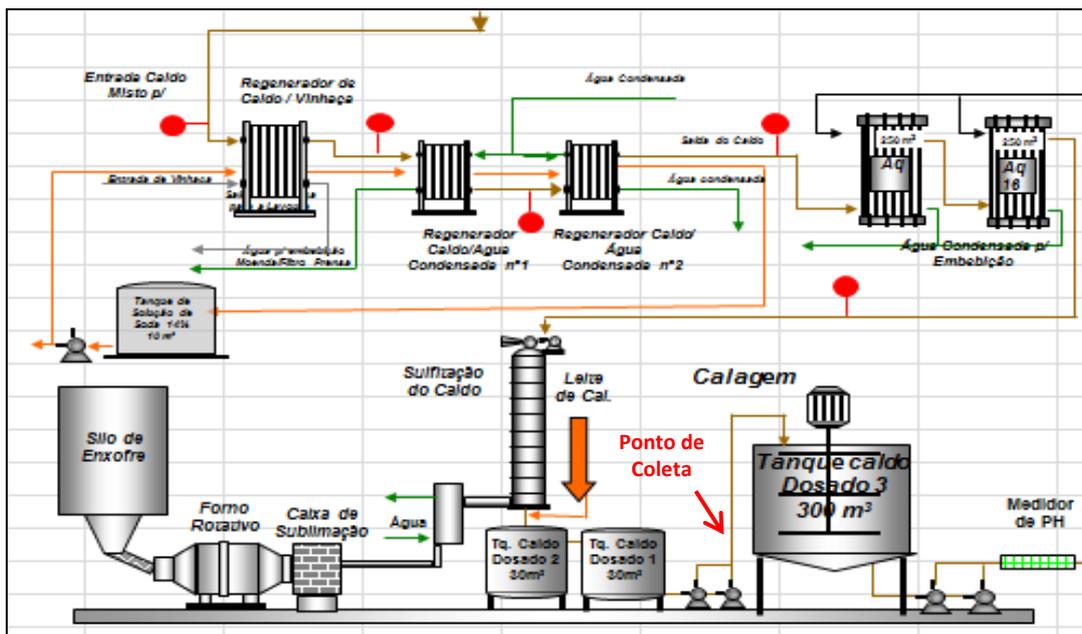


Figura 14 – Ampliação do processo de tratamento do caldo e identificação do ponto de coleta da amostra  
Fonte: Usina Ipiranga

### 3.2.2 Avaliação dos parâmetros tecnológicos do caldo de cana-de-açúcar

As características tecnológicas do caldo de cana foram avaliadas e para maior confiabilidade dos dados experimentais, todas as análises foram realizadas em triplicata, conforme as metodologias descritas abaixo.

Os resultados analíticos de Brix, Pol, pureza, acidez e amido do caldo de cana-de-açúcar *in natura* coletados no laboratório de Controle de Qualidade da usina Ipiranga durante as safras de 2012 e 2013, foram obtidos seguindo as mesmas metodologias utilizadas para o caldo caleado. Antes das análises, as amostras foram previamente filtradas em algodão hidrófilo para evitar a interferência dos sólidos suspensos.

Os dados analíticos obtidos na usina durante a safra de 2012 (período de maio a dezembro) e na safra atual, 2013 (período de abril a setembro), são resultados de médias diárias dos parâmetros avaliados de acordo com frequência analítica estabelecida pela usina.

### 3.2.3 Análise do teor de sólidos solúveis totais (SST)

A medida do teor de sólidos solúveis totais (SST) permite verificar a diluição ou concentração dos caldos após processamento. Expresso em °Brix tem-se o percentual, em peso, de sólidos totais (açúcares, polissacarídeos, proteínas, minerais) dissolvidos no caldo. Além disso, esta análise é essencial para expressar os resultados, pois, permite que

comparações sejam feitas, sem a influência de diluição ou concentração que possam ocorrer (HAMERSKI, 2009).

A determinação do teor de sólidos solúveis por cento de caldo foi realizada em refratômetro digital de bancada ATAGO modelo SMART-1 de leitura automática, com correção de temperatura e resolução máxima de 0,1° Brix. O valor final foi expresso a 20°C (CONSELHO DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE S. PAULO - CONSECANA, 2006).

O equipamento foi calibrado com água destilada, sendo a leitura ajustada, quando necessário, ao valor zero na escala Brix.

Para a análise dos caldos, após calibrar o aparelho, as amostras foram filtradas em papel de filtro qualitativo para eliminação das impurezas, desprezando-se as primeiras gotas de caldo clarificado. As amostras filtradas foram colocadas sobre o prisma limpo e seco e, então, após alguns segundos, foi realizada a leitura do °Brix refratométrico.

### 3.2.4 Determinação da polarização (Pol)

A Pol representa a porcentagem em massa de sacarose aparente contida em uma solução açucarada de peso normal e é determinada pelo desvio provocado pela solução no plano de vibração da luz polarizada (UNIÃO DOS PRODUTORES DE BIOENERGIA - UDOP, 2013).

Para a determinação da Pol, amostras de 200 mL de caldo foram clarificadas utilizando uma mistura clarificante à base de alumínio (14 a 16 gramas), e, posteriormente filtradas em papel de filtro, desprezando-se os primeiros 10 mL do filtrado. Após a clarificação, foi realizada a leitura sacarimétrica do caldo (LA1), em sacarímetro Anton Paar, modelo MCP200, provido de tubo polarimétrico de fluxo contínuo e com correção de temperatura para 20°C.

A Pol do caldo (S) (teor de sacarose aparente por cento, em peso de caldo) foi calculada através da Equação 1 (CONSECANA, 2006):

$$S = LPb (0,2605 - 0,0009882 \times B) \quad (1)$$

A transformação da leitura sacarimétrica com a mistura clarificante, à base de alumínio, para a leitura equivalente em subacetato de chumbo, foi realizada pela equação Equação 2:

$$LPb = 1,00621 \times Lal + 0,05117 \quad (2)$$

onde:

LPb = leitura sacarimétrica equivalente a de subacetato de chumbo;

Lal = leitura sacarimétrica obtida com a mistura clarificante à base de alumínio.

Assim sendo, a equação completa para o cálculo da pol da cana (S) passa a ser Equação 3.

$$S = (1,00621 \times Lal + 0,05117) \times (0,2605 - 0,0009882 \times B) \quad (3)$$

onde:

B = Brix do caldo.

### 3.2.5 Determinação da acidez

Esta análise foi realizada no caldo de cana-de-açúcar *in natura*, para verificar as condições de sanidade da matéria-prima. Valores elevados de acidez são indícios de deterioração da cana-de-açúcar, o que dificulta e até inviabiliza o seu processamento.

A determinação da acidez do caldo foi realizada de acordo com metodologia descrita por Caldas (1998). Os resultados foram obtidos através da Equação 4.

$$\text{Acidez Sulfúrica (g/L H}_2\text{SO}_4\text{): } Vg * 0,245 * F \quad (4)$$

Onde:

Vg – volume gasto de NaOH 0,1N

F – fator de correção da solução de NaOH

### 3.2.6 Determinação do pH

Para a determinação do pH das amostras foi utilizado método de leitura direta (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1980), em pHmetro digital TECNAL, modelo TEC 3MP, com eletrodo de vidro combinado e sonda de temperatura, que permite a correção automática do pH em relação a temperatura. O equipamento foi calibrado com tampões de pH 7,0 e 4,0.

### 3.2.7 Determinação da Pureza

A pureza reflete a porcentagem de sacarose contida nos sólidos solúveis, sendo denominada “pureza real”, entretanto quando esta determinação é realizada numa solução açucarada impura, diz-se “pureza aparente”. A pureza expressa quantos por cento dos sólidos (brix) são representados pela sacarose (pol) (FERNANDES, 2003).

A pureza aparente do caldo (Q) definida como a porcentagem de pol em relação ao brix, será calculada pela Equação 5 (CONSECANA, 2006):

$$Q = 100 \times S \div B \quad (5)$$

onde:

S = Pol do caldo;

B = Brix do caldo.

### 3.2.8 Efeito do tempo de retenção do caldo caleado, na composição de açúcares.

O interesse na aplicação da enzima termoestável Starmax E01 na etapa de clarificação é permitir que essa permaneça durante um maior período em contato com o caldo, de forma a reduzir o teor de amido. Entretanto, não é desejável que esse tempo de retenção seja responsável por perdas de sacarose.

As amostras de caldo de cana caleado foram submetidas a diferentes tratamentos, envolvendo tempos de retenção e temperaturas diferentes, para avaliação da influencia dessas condições do processo na composição de açúcares no caldo. Os tratamentos utilizados podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6 – Tratamentos utilizados em cada amostra de caldo de cana caleado

AMOSTRAS	TRATAMENTOS
<b>A</b>	Controle
<b>B</b>	20 minutos a 75°C
<b>C</b>	40 minutos a 75°C
<b>D</b>	60 minutos a 75°C
<b>B1</b>	20 minutos a 75°C + 120 minutos a 95°C
<b>C1</b>	40 minutos a 75°C + 120 minutos a 95°C
<b>D1</b>	60 minutos a 75°C + 120 minutos a 95°C

Os frascos contendo o caldo de cana caleado, após o descongelamento, sob refrigeração, e homogeneização, foram mantidos em banho maria com circulação Marconi, durante 20, 40 ou 60 minutos a temperatura entre 75-80°C (condição do tanque de caldo dosado). Após o término de cada período, os frascos foram retirados do banho e, transcorridos os 60 minutos do experimento, as amostras que ficaram por 20, 40 e 60 minutos a temperatura de 75-80°C, foram mantidas em banho de ebulição durante 120 minutos à temperatura de aproximadamente 95°C (condição do decantador), conforme observado na Figura 15. A amostra controle não foi submetida às condições avaliadas, para efeito de comparação desta com as que foram submetidas às condições do processo.

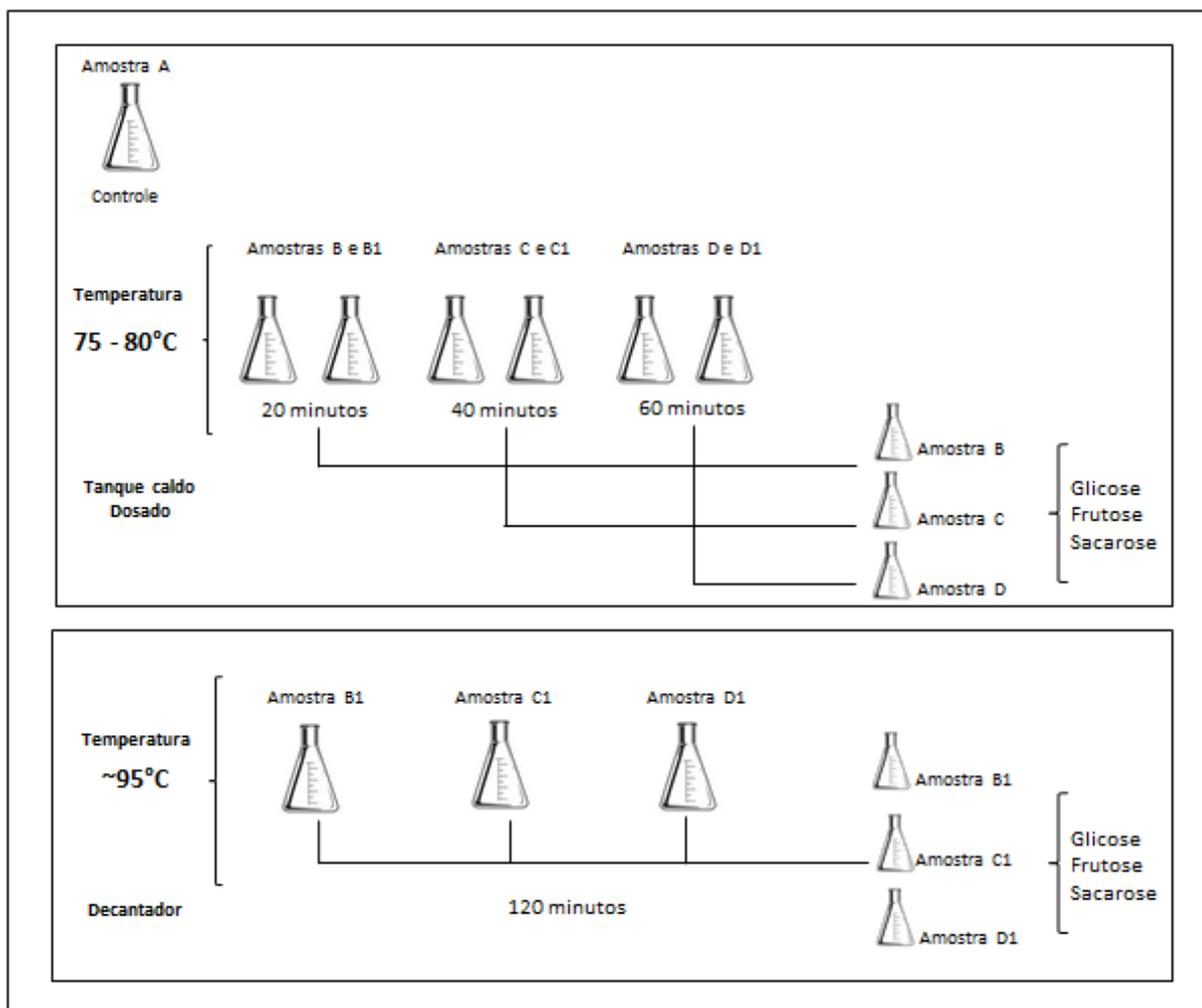


Figura 15 – Esquema dos tratamentos realizados para avaliação do efeito das condições do processo no teor de açúcares no caldo

Transcorridos os tempos de cada etapa, as amostras foram transferidas para banho de gelo, filtradas em algodão e armazenadas para posterior análise do teor de glicose, sacarose e frutose.

### **3.2.9 Análises de açúcares por cromatografia**

Para a realização das análises de açúcares nos caldos submetidos aos diferentes tratamentos, as amostras foram previamente descongeladas, homogeneizadas, diluídas e filtradas em membrana de 0,22 µm. O descongelamento ocorreu sob refrigeração.

A determinação de glicose, frutose e sacarose foi realizada por Cromatografia de Troca Iônica de Alto Desempenho com detecção por Amperometria Pulsada (HPAE-PAD).

As análises foram realizadas no Laboratório Max Feffer, localizado no Departamento de Genética na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em Cromatógrafo Dionex, modelo ICS-2500 e separadas isocraticamente utilizando coluna analítica CarboPac (PA1 4x250mm) e NaOH 72Mm como eluente. Os padrões empregados foram procedentes da Sigma-Aldrich: Glicose G-5250 Beta-D(+)Glucose, pureza  $\geq 97\%$ ; Frutose F-0127 D(-) Fructose, pureza  $\geq 99\%$  e Sacarose S-9378 com pureza  $\geq 99,5\%$ . A velocidade de fluxo foi de 1,0 ml por minuto.

### **3.2.10 Determinação do teor de amido**

Na determinação do teor de amido em caldo de cana-de-açúcar foi utilizada metodologia adotada oficialmente pela indústria açucareira da Austrália e pelo Centro de Tecnologia Canavieira – CTC (2011). Na metodologia, uma alíquota de caldo de cana é digerida com ácido acético e cloreto de cálcio, sob aquecimento, para solubilizar o amido presente. Adiciona-se solução de iodeto/iodato de potássio para formar um complexo azul de amido-iodo. A absorvância deste complexo foi medida em espectrofotômetro Spekol 1300 a 700 nm.

As análises de amido foram realizadas nas amostras de caldo caleado para avaliação da estabilidade da enzima após a dosagem de EDTA em diferentes pontos do processo. A mesma metodologia foi utilizada pela usina na determinação diária de amido nas amostras de caldo de cana *in natura*, provenientes de canas inteiras e picadas durante o período de Maio a Agosto de 2013.

### **3.2.11 Ação da enzima na redução do amido na etapa de clarificação do caldo e do EDTA na estabilidade da enzima.**

Inicialmente foi realizado um teste preliminar para determinar a concentração de EDTA necessária para inativação da enzima Starmax E01.

As concentrações de EDTA Sal Dissódico ( $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2H_2O$ ) adicionadas na amostra contendo a Starmax E01 foram de 1, 2,5 e 5% em relação a quantidade de enzima adicionada e, na amostra controle, não foi adicionado EDTA.

Após a adição do EDTA, as amostras foram incubadas a temperatura de 100°C (condição aproximada de temperatura do decantador) durante o período de 1 hora e 30 minutos. Ao final deste período foram realizadas as leituras da atividade enzimática.

Na determinação da atividade enzimática (BAPU/g), foi utilizada metodologia interna, da empresa Prozyn Biosolutions, baseada na hidrólise do amido em dextrinas pela enzima. As dextrinas desenvolvem uma reação colorimétrica com o Iodo e a atividade enzimática é obtida através de uma comparação visual da coloração resultante com a coloração padrão.

Após a avaliação dos resultados obtidos no teste para a verificação da influência dos diferentes tempos de retenção na composição dos açúcares das amostras e, levando em consideração o tempo utilizado rotineiramente na usina, em que foi desenvolvida parte do experimento, determinou-se que o tempo de retenção a ser utilizado na etapa de avaliação do efeito da dosagem da enzima e EDTA nas condições do tanque de caldo dosado, seria de 30 minutos. Em relação ao tempo de retenção no decantador, esse foi mantido em aproximadamente 120 minutos.

As amostras de caldo de cana caleado foram previamente filtradas, adicionadas em quantidades iguais em frascos e identificadas de acordo com o tratamento (Tabela 7).

Tabela 7 – Tratamentos utilizados para avaliação da estabilidade da enzima com a aplicação de EDTA

TRATAMENTOS	
1	Branco (sem enzima ou EDTA)
2	Starmax E01 (apenas com enzima)
3	EDTA 0 (dosagem simultânea de enzima e EDTA no tempo zero)
4	EDTA 30 (dosagem de enzima no início e EDTA após 30 min. no decantador).
5	EDTA 90 (dosagem de enzima no início e EDTA após 90 min. no decantador).

Com exceção do tratamento 1, identificado como branco, em todos os tratamentos foram adicionados 2 ppm da enzima alfa amilase Starmax E01. Nos tratamentos 3, 4 e 5 houve adição de 1% de EDTA em relação à quantidade de enzima, dosagem determinada de acordo com os resultados obtidos no pré-teste.

Todos os tratamentos foram submetidos à temperatura de 75-80°C em banho Tecnal, modelo TE-148-E1 durante o período de 30 minutos (condição tanque de caldo dosado

utilizada na unidade industrial) e posteriormente foram colocados em banho de glicerina Ultra termostático Marconi MA-184, modelo 184/B24 a temperatura de 105°C por 120 minutos (condição decantador). Ao final deste período, todas as amostras foram retiradas do banho de glicerina, deixadas em banho de gelo para inativação da enzima e posteriormente foram congeladas e armazenadas em freezer até o momento das análises.

### **3.2.12 Determinação de açúcares redutores**

Para a determinação dos açúcares redutores nas amostras de caldo caleado, após a ação da enzima e do EDTA, foi utilizado o método descrito por Miller (1959). Este método é baseado na redução, em meio alcalino, do ácido 3,5-dinitrossalicílico em ácido 3-amino-5-nitrossalicílico, por ação dos açúcares redutores, originando um complexo acastanhado que por sua vez é dosado espectrofotometricamente a 540 nm. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro FEMTO, modelo *600 plus*. A concentração de AR foi calculada com base na curva de calibração elaborada a partir de uma solução padrão de glicose na concentração de 1 mg/mL.

### **3.2.13 Determinação de $\alpha$ -amilase no caldo**

Para a determinação de  $\alpha$ -amilase residual no caldo de cana caleado, após a ação da enzima e do EDTA, foi utilizada metodologia interna da empresa Prozyn Biosolutions, que se encontra em fase de patenteamento, não sendo possível sua divulgação. Essa metodologia é baseada na alteração da viscosidade do meio, de acordo com a ação da enzima.

### **3.2.14 Análise estatística**

Os dados experimentais coletados foram analisados estatisticamente através da Análise de Variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância. Esta análise envolve a comparação das médias dos tratamentos pelo teste de Tukey (5% de significância) quando houver diferença entre as médias.

Os dados foram avaliados pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), para determinar a diferença estatística entre as médias, usando pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System) versão 9.3. Todos os resultados foram expressos como a média de, no mínimo, três repetições e expressos como a média  $\pm$  desvio padrão.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A enzima alfa amilase foi adicionada durante a etapa de clarificação do caldo de cana, visando a redução do teor de amido durante o processo de fabricação de açúcar. Para esta etapa do trabalho foram caracterizados o caldo de cana *in natura* e o caldo caledado, . Um estudo para avaliar o efeito da adição de EDTA na inibição da atividade enzimática foi realizado sendo apresentado a seguir.

As amostras de caldo de cana foram coletadas em diferentes semanas de safra, portanto, apresentam características e perfis diferentes para os parâmetros avaliados, devido às alterações na composição da matéria-prima.

### 4.1 Caracterização do caldo de cana-de-açúcar *in natura*

Os resultados de Brix, acidez sulfúrica, Pol e pureza, que compreendem o perfil químico composicional do caldo de cana-de-açúcar, foram utilizados para a caracterização do caldo *in natura*.

Os valores obtidos durante os três períodos avaliados estão apresentados na Tabela 8. A análise dos resultados de Brix, Pol e pureza mostra que as médias obtidas no período do experimento (meses de outubro a dezembro de 2012) são maiores, em relação as obtidas nas safras 2012 e 2013, devido ao fato das amostras terem sido coletadas no período em que as canas apresentavam maiores índices de maturação.

Tabela 8- Comparação dos resultados analíticos da caracterização do caldo de cana-de-açúcar *in natura*, obtidos na safra de 2012, no período do experimento e nos meses de abril a setembro da safra de 2013

PERÍODO	CARACTERÍSTICAS			
	BRUX (%) <sup>1</sup>	POL (%)	PUREZA (%)	ACIDEZ (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
SAFRA 2012	18,7 ± 0,52	16,2 ± 0,51	86,3 ± 0,36	0,73 ± 0,12
SAFRA 2013	17,6 ± 0,33	15,1 ± 0,38	85,9 ± 0,64	0,66 ± 0,13
EXPERIMENTO <sup>2</sup>	19,4 ± 0,06	16,8 ± 0,07	86,7 ± 0,07	0,74 ± 0,10

<sup>1</sup>Foram considerados os valores obtidos em cada período ± os desvios padrões

<sup>2</sup>Outubro a dezembro de 2012

De acordo com Albuquerque (2011), as características tecnológicas do caldo de cana podem variar amplamente segundo uma série de fatores, tais como variedade, grau de maturação da cana, época de colheita, condições ambientais, tipo de solo, tratamentos culturais, tipo de colheita, tempo entre o corte e o seu processamento, entre outros.

Os valores de Brix, Pol e pureza obtidos nas safras de 2012 e 2013 (Figuras 16 e 17) apresentaram aumento com o passar do tempo, o que é esperado, uma vez que para o início de safra é aceito uma cana com um índice de maturação inferior e a mesma vai amadurecendo durante o ano.

A concentração de sacarose (Pol) em cultivares de cana de açúcar varia naturalmente durante a safra, tendendo a ser menor durante períodos quentes e úmidos (favoráveis ao desenvolvimento vegetativo) e maiores quando ocorrem baixas temperaturas ou déficit hídrico, os quais inibem o crescimento (LINGLE; IRVINE, 1994). De acordo com Ripoli e Ripoli (2004), a cana-de-açúcar está apta à industrialização, em termos de qualidade, quando apresentar valores de Pol superiores a 14%.

Os valores de acidez são indicadores das condições de sanidade do caldo de cana, sendo que, valores elevados, são indícios de deterioração da cana-de-açúcar, o que dificulta e até inviabiliza o seu processamento (HAMERSKI, 2009). Segundo Ripoli e Ripoli (2004), a acidez é uma característica que pode ser atribuída para estabelecer o padrão de qualidade do caldo de cana e deve apresentar valor inferior a 0,8 de acidez sulfúrica. Portanto, valores elevados de acidez estão relacionados a fatores prejudiciais a qualidade da cana-de-açúcar. A deterioração da cana é um fator que diminui a qualidade da matéria-prima.

Os valores médios de acidez observados durante a safra 2012, 2013 e no período dos experimentos (Tabela 8) demonstram que a matéria-prima processada encontrava-se em condições apropriadas para o processamento, sem apresentar indícios de deterioração. Embora, em alguns dias a acidez tenha atingido valores superiores a 1,0 (Figuras 16 e 17).

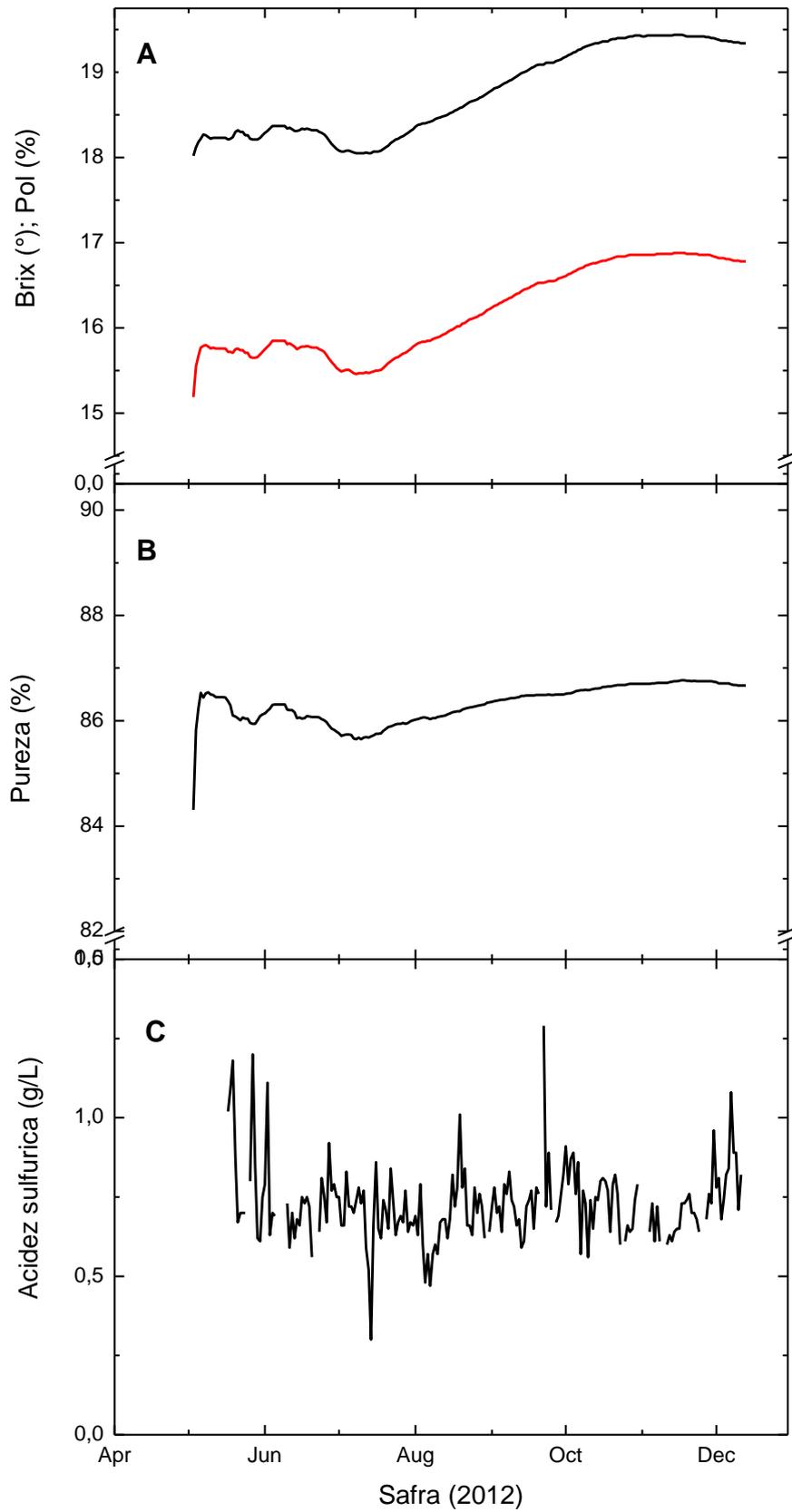


Figura 16 – (A) Brix ( - - ), Pol ( - - ), (B) pureza e (C) acidez sulfúrica do caldo de cana *in natura* durante a safra 2012/2013

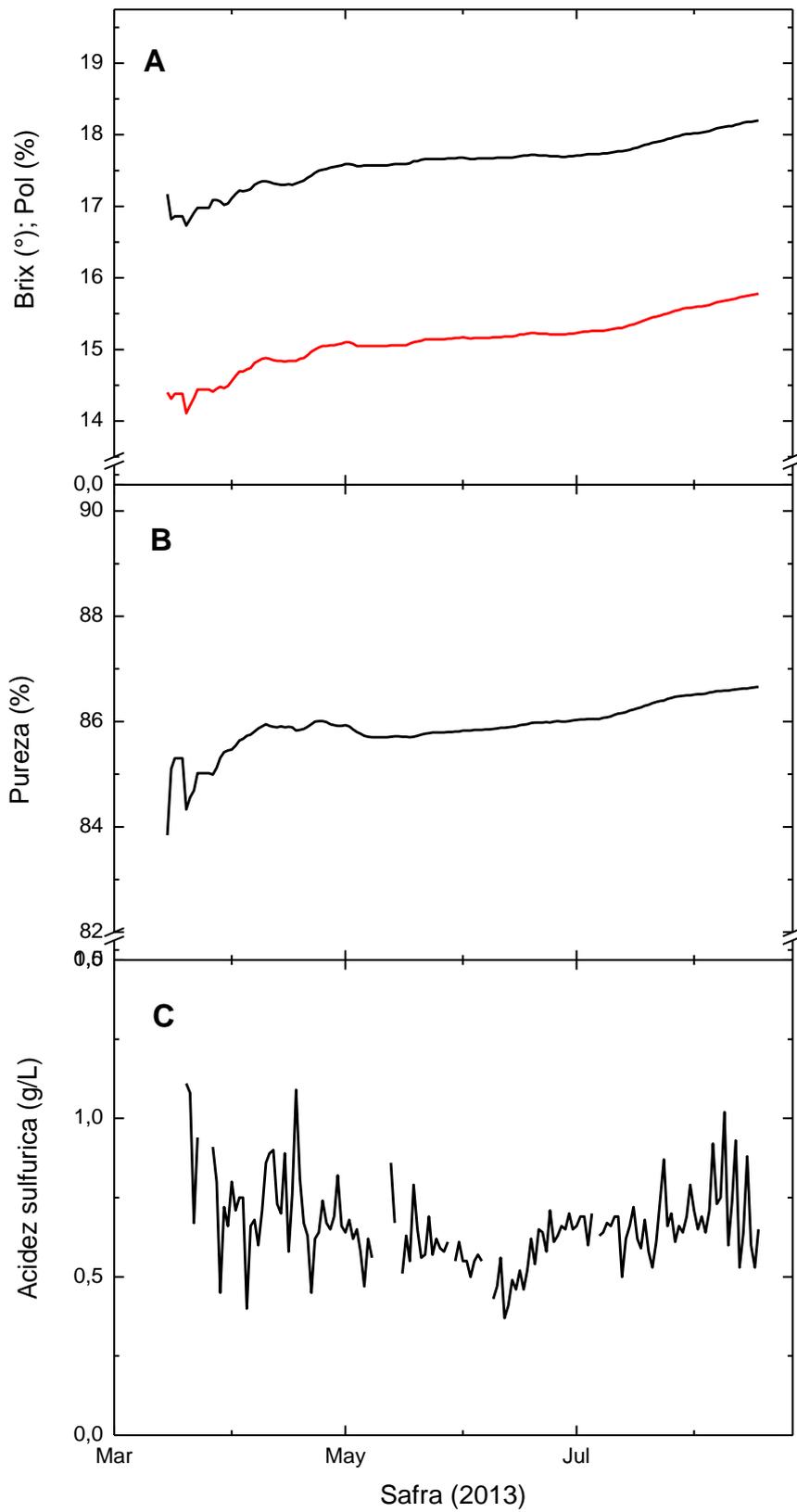


Figura 17 – (A) Brix (—), Pol (—), (B) pureza e (C) acidez sulfúrica do caldo de cana *in natura* durante a safra 2013/2014

#### 4.2 Caracterização do caldo de cana caleadado

O caldo caleadado (coletado na saída do tanque de dosagem de cal, após as etapas de sulfitação e calagem) foi analisado quanto aos parâmetros pH, Brix e Pol (Tabela 9).

Tabela 9 - Resultados analíticos da caracterização do caldo de cana caleadado, obtidos na safra de 2012, no período do experimento e nos meses de abril a setembro da safra de 2013

PERÍODO	PARAMETROS		
	pH	°BRIX	POL (%)
SAFRA 2012	6,99 ± 0,04*	ND**	ND
SAFRA 2013	7,04 ± 0,09	ND	ND
EXPERIMENTO	7,04 ± 0,36	15,09 ± 1,56	13,01 ± 1,34

\*Foram considerados os valores obtidos em cada período ± os desvios padrões

\*\*Valores não determinados

As análises de Brix e Pol do caldo caleadado não são análises realizadas rotineiramente nas usinas, entretanto, foram realizadas neste trabalho para a caracterização das amostras, não sendo possível realizar uma comparação com os outros períodos avaliados.

O acompanhamento do pH do caldo caleadado é uma atividade rotineira nas usinas, de grande importância para o processo de fabricação do açúcar e este deve estar em um nível em que as perdas por inversão de sacarose e degradação alcalina permaneçam baixas. Para minimizar essas perdas, as condições de trabalho durante o processamento do caldo de cana-de-açúcar são monitoradas, de maneira que o pH permaneça o maior tempo possível próximo da neutralidade (pH 7,0) (HAMERSKI, 2009).

De acordo com Simpson (1996), o controle do pH do caldo durante as etapas de clarificação deve ser realizado cuidadosamente, uma vez que valores inferiores a sete resultam em perdas devido à inversão da sacarose, enquanto que valores acima de oito favorecem a degradação dos açúcares redutores, resultando na formação de compostos responsáveis pela formação de cor. Na usina em questão, a faixa de trabalho de pH utilizada foi de 6,8 a 7,2 (Figura 18).

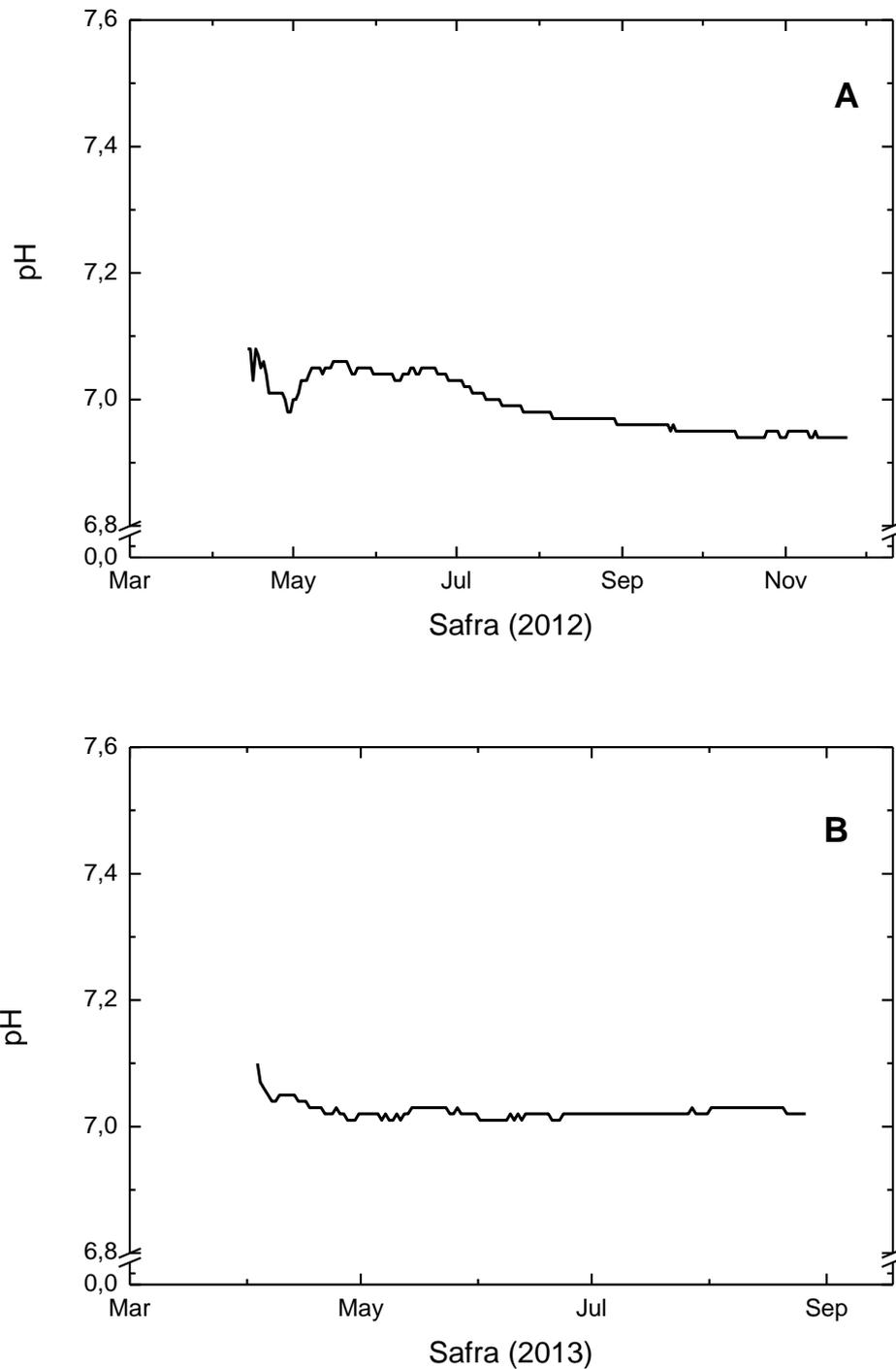


Figura 18 – Valores de pH do caldo caaleado obtidos na safrã de 2012 (A) e nos meses de abril a setembro de 2013 (B)

#### 4.3 Teor de açúcares do caldo de cana caaleado

As alterações na composição dos açúcares do caldo de cana caaleado, submetido às diferentes condições de tempo de retenção e temperaturas, foram avaliadas utilizando

amostras provenientes de diferentes períodos de coletas, classificadas como caldo 1 e 2. O perfil cromatográfico dos açúcares presentes no caldo está apresentado na Figura 19 e as concentrações de glicose, frutose, açúcares redutores (glicose + frutose) e sacarose obtidos no experimento estão apresentados na Tabela 10.

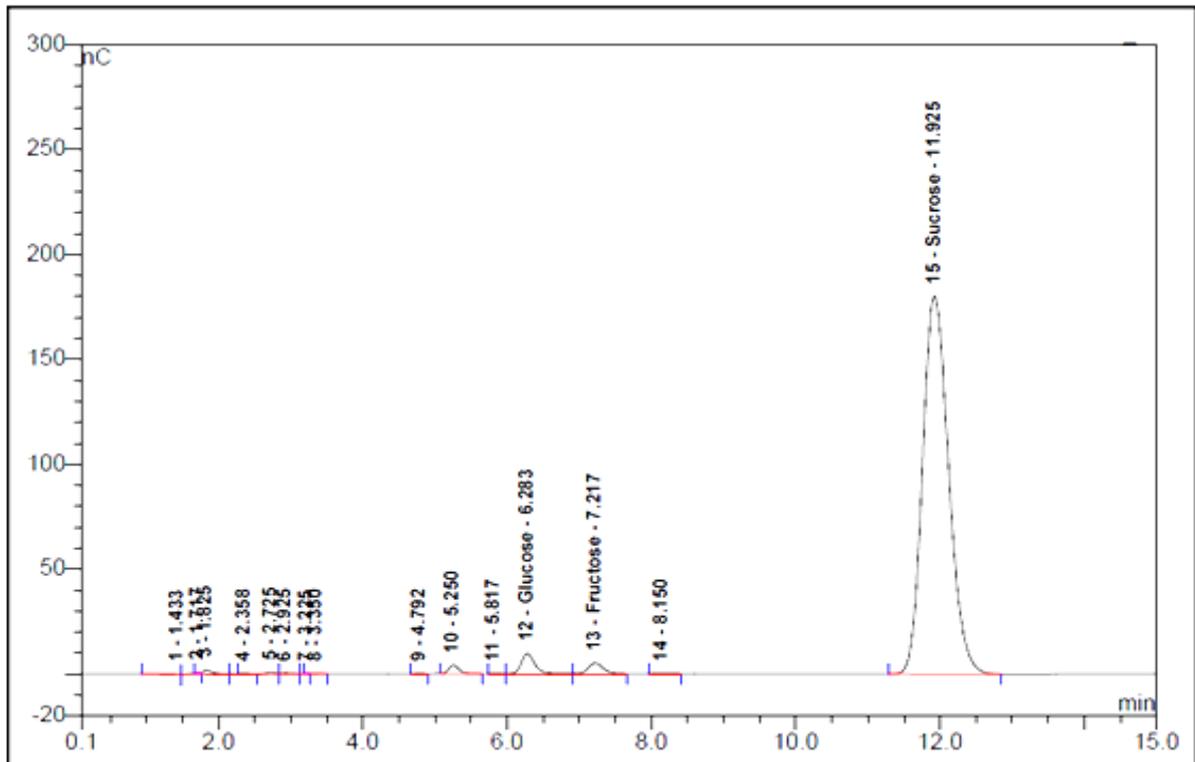


Figura 19 – Perfil cromatográfico dos açúcares do caldo de cana determinados por Cromatografia de Troca Iônica de Alto Desempenho com detecção por Amperometria Pulsada (HPAE-PAD)

A sacarose é o açúcar presente em maior quantidade na cana-de-açúcar, seguida pela glicose e em menor quantidade pela frutose (Figura 19).

O teor médio de sacarose obtido nas amostras de caldo de cana 1 e 2, foi de 150 g/L, o que está em acordo com o valor de sólidos solúveis, de 15,09°Brix (Tabela 09) e que representa o teor médio dos sólidos contido nas amostras de caldo caído coletadas no período do experimento.

De acordo com Delgado (1975), o caldo de cana é composto por 18 a 25% de sólidos solúveis, desse total, de 15,5 a 24% é representado pelos açúcares e de 1 a 2,5% pelos não açúcares. Da composição dos açúcares, 14,5 a 24% correspondem a sacarose, 0,2 a 1% a glicose e, em menor quantidade, de 0 a 0,5% a frutose.

Tabela 10 – Teor de glicose, frutose, AR e sacarose, em g/L, obtidos em caldos submetidos aos diferentes tempos e temperaturas por HPAE-PAD

AMOSTRAS	Caldo 1				Caldo 2			
	GLICOSE	FRUTOSE	AR	SACAROSE	GLICOSE	FRUTOSE	AR	SACAROSE
<b>A</b>	1,99 ± 0,04	1,69 ± 0,11	3,68 ± 0,13 ab	158,0 ± 0,33 bc	2,62 ± 0,02	2,38 ± 0,02	4,99 ± 0,03 a	135,9 ± 0,54 b
<b>B</b>	2,14 ± 0,05	1,74 ± 0,03	3,88 ± 0,07 ab	164,7 ± 0,82 a	2,69 ± 0,03	2,40 ± 0,03	5,09 ± 0,06 a	135,6 ± 0,77 b
<b>C</b>	2,14 ± 0,06	1,79 ± 0,04	3,92 ± 0,10 a	160,4 ± 2,83 ba	2,77 ± 0,12	2,42 ± 0,14	5,19 ± 0,21 a	131,9 ± 0,40 bc
<b>D</b>	1,95 ± 0,03	1,62 ± 0,03	3,57 ± 0,04 b	153,1 ± 0,68 c	2,68 ± 0,06	2,35 ± 0,05	5,04 ± 0,03 a	133,7 ± 0,25 bc
<b>B1</b>	2,01 ± 0,09	1,66 ± 0,08	3,67 ± 0,16 ab	152,9 ± 4,40 c	2,87 ± 0,31	2,76 ± 0,57	5,63 ± 0,88 a	131,6 ± 2,36 c
<b>C1</b>	2,08 ± 0,04	1,74 ± 0,02	3,82 ± 0,06 ab	158,4 ± 0,09 bc	2,93 ± 0,12	2,85 ± 0,17	5,78 ± 0,24 a	147,1 ± 1,31 a
<b>D1</b>	2,08 ± 0,02	1,76 ± 0,04	3,84 ± 0,05 b	157,3 ± 0,41 bc	3,07 ± 0,01	2,88 ± 0,20	5,95 ± 0,19 a	145,5 ± 1,29 a

NOTA: Médias ± desvio padrão, seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente, segundo o teste de Tukey, a 5% de probabilidade

De acordo com Panpae et al. (2008), o monitoramento do total de açúcares redutores é muito importante nas usinas, uma vez que pode fornecer informações para a avaliação da matéria-prima e para o controle de qualidade do processo de fabricação de açúcar.

A principal influência dos açúcares redutores no processamento do caldo de cana-de-açúcar é devido aos efeitos dos produtos de sua decomposição, que se unem facilmente resultando em compostos precursores de cor (SIMPSON, 1996; ALBUQUERQUE, 2011).

Durante a permanência do caldo no decantador a alta temperatura, ocorre certa decomposição dos açúcares redutores. Avalia-se em cerca de 1% dos açúcares redutores por hora, a 100°C e com pH próximo a 7,0, porém essa destruição pode ser superior a 3% por hora, se o pH se elevar as proximidades de 8,0 (HUGOT, 1977).

Em relação ao teor de açúcares redutores (AR), pode ser observado que ocorreram diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância entre os valores obtidos para o caldo 1. No entanto, para o caldo 2 não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos.

O tempo de retenção poderia ter influenciado a inversão da sacarose com aumento da concentração dos açúcares redutores (AR), o que não foi evidenciado com estes resultados. Pois, nas amostras em que ocorreram reduções nos teores de sacarose, não foram verificados aumento no teor de açúcares redutores, o que evidenciaria a ocorrência de inversão, com exceção da amostra B1, do caldo 2, em relação a amostra B.

Panpae et al. (2008) avaliando o efeito da temperatura e pH em uma solução de sacarose a 16°Brix, usada como amostra modelo, não observaram alterações na quantidade de açúcares redutores (AR) e sacarose na faixa de trabalho de pH de 5-11, a temperatura ambiente (34°C). Entretanto, quando utilizaram um pH de 3,0, foi observado que a quantidade de açúcares redutores aumentou e a de sacarose diminuiu com o aumento do tempo, o que indica que o processo de inversão da sacarose ocorre em soluções mais ácidas e, ainda, que o aumento da temperatura favorece a reação de inversão, o que foi evidenciado por altos valores % AR e baixos valores de % Pol conforme a temperatura foi elevada. Resultados semelhantes foram observados quando utilizaram amostras de caldo de cana no experimento.

Farine et al. (2000) estudaram a decomposição da sacarose em solução aquosa (65° Brix) considerando diferentes valores iniciais de pH (4, 5, 6, 7, 8 e 9), temperatura (65, 75 e 85°C) e tempo máximo de incubação (96 horas). Foram observadas taxas significativas de hidrólise da sacarose e formação de açúcar invertido quando a temperatura foi elevada para 75°C, nos valores de pH 4, 5 e 6 e após 48 horas de incubação. As perdas de sacarose foram completas, na temperatura de 85°C, após 24 horas de incubação em pH 4 e 5 e após 48 e 96

horas em pH 6 e 7, respectivamente. Entretanto, as taxas de hidrólise de sacarose foram baixas e lentas em xaropes com altos valores de pH (8 e 9).

De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que nas condições de processo verificadas na usina, tempo de retenção do caldo caledado de aproximadamente 30 minutos a temperatura de 75-80°C e pH na faixa de 6,8 a 7,2, não ocorreram reações de inversão da sacarose. Não foram observadas diferenças estatísticas, ao nível de 5% de probabilidade na composição dos açúcares redutores entre as amostras que permaneceram durante 20 e 40 minutos a temperatura de 75°C (amostras B e C); as que permaneceram nestas mesmas condições e, posteriormente, por mais 120 minutos a temperatura de 95°C (amostras B1e C1) e as amostra controle, A, tanto para o caldo 1 como para o 2 (Tabela 10).

#### **4.4 Teor de amido no caldo cana-de-açúcar *in natura***

Os resultados dos teores de amido em caldos provenientes de canas inteiras (colhidas manualmente) e de canas picadas (colhidas mecanicamente), obtidos na usina, estão apresentados na Figura 20.

Os teores médios de amido encontrados nos caldos de cana *in natura* no período de maio a junho foram de 1319 mg/Kg %Brix, para os caldos provenientes de cana picada e de 969 mg/Kg %Brix para os provenientes de cana inteira. Esses teores obtidos justificam a necessidade de utilização de enzimas. Ronaldson e Schoonees (2004) relatam que caldo de cana-de-açúcar com teores de amido de aproximadamente 400 mg/Kg%Brix tendem a resultar em açúcares bruto com teor de amido de aproximadamente 150 mg/Kg afetando a etapa de refino.

Como pode ser observado, os teores de amido em canas picadas são superiores aos encontrados em canas inteiras. De acordo com Púglia (2006), com a crescente utilização de cana colhida sem queima prévia, manual ou mecanicamente, tem se observado incremento dos teores de impurezas vegetais (folhas e pontas da cana), comprometendo a qualidade da matéria-prima e aumentando os custos de produção, não só devido à necessidade de processos auxiliares para a sua redução, mas devido também aos problemas que pode causar, como aumento da viscosidade das massas, redução das taxas de cristalização e centrifugação, oclusão do amido no interior do cristal de sacarose, aumento da produção de mel, redução da filtrabilidade e afinação do açúcar bruto, entre outros (EGGLESTON et al., 2006).

De acordo com Chen e Chou (1993) concentrações de aproximadamente 0,05% de amido na cana podem causar problemas operacionais na obtenção de açúcar.

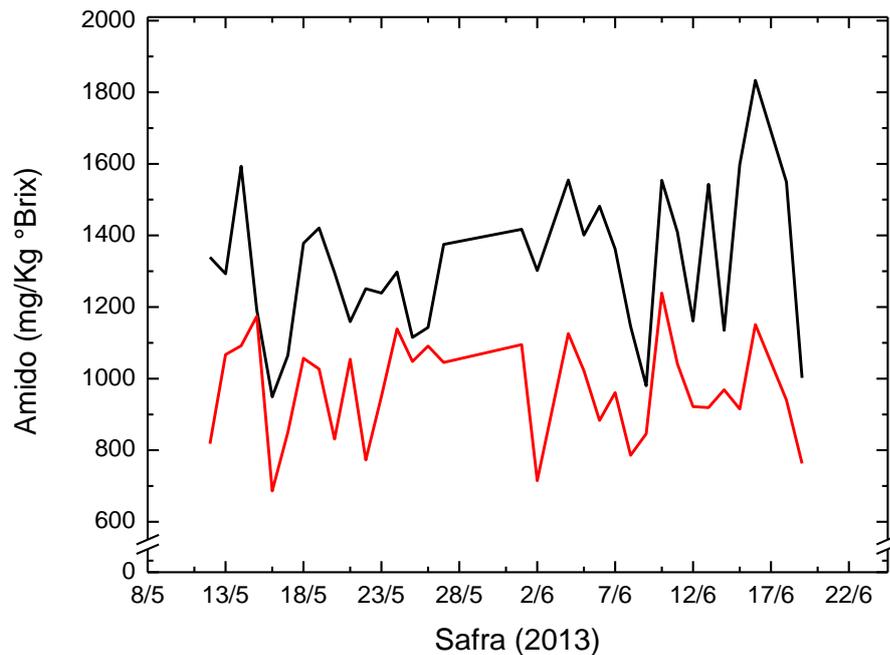


Figura 20 – Teores de amido nos caldos de cana-de-açúcar *in natura* colhidas mecanicamente (canas picada --) e da canas colhidas manualmente (canas inteira --) durante o período de maio a junho da safra 2013/2014

Figueira (2009) avaliou o teor de amido em cinco variedades de cana de açúcar no período de maio a novembro de 2007 e encontrou valores médios na faixa de 1658 a 2581 mg/Kg%°Brix entre as variedades de cana-de-açúcar estudadas.

Eggleston et al. (2007) avaliaram o teor de amido em cana-de-açúcar processadas em três usinas de Louisiana e as concentrações de amido encontradas nos caldos foram aproximadamente 1850, 1600 e 800 ppm/°Brix. Godshall et al. (1996), encontraram concentrações médias de amido em caldo de cana-de-açúcar na faixa de 275 até 1867 mg/Kg %Brix.

#### **4.5 Ação da enzima na redução do amido na etapa de clarificação do caldo e do EDTA na estabilidade da enzima.**

Os resultados obtidos no pré-teste, que avaliou as concentrações de 1,0, 2,5 e 5% de EDTA na estabilidade da enzima alfa amilase, a concentração de 1,0% foi a que apresentou melhores resultados, reduzindo a atividade da enzima em aproximadamente 78%, quando comparada com a amostra controle (Tabela 11). As concentrações de 2,5 e 5,0% de EDTA foram responsáveis pela completa inativação da enzima, entretanto a escolha pela dosagem de 1% levou em consideração os resultados favoráveis obtidos e, ainda, a preocupação em reduzir custos do processo, com dosagens menores de insumos.

Tabela 11 – Resultados obtidos no pré-teste para avaliação do efeito de diferentes concentrações de EDTA na estabilidade da enzima

TRATAMENTOS	ATIVIDADE (BAPU/g)
0,0% EDTA (Controle)	127,84 ± 6,4
1,0% EDTA	28,00 ± 1,4
2,5% EDTA	0,00 ± 0,05
5,0% EDTA	0,00 ± 0,05

Os ensaios subsequentes foram realizados com a concentração de 1% de EDTA em relação à quantidade de enzima adicionada.

Os resultados obtidos nos ensaios para avaliação da ação da Starmax E01 na redução do teor de amido no caldo e do efeito do EDTA na inativação da enzima, adicionados na etapa de clarificação do caldo, estão apresentados na Figura 21. Os ensaios foram realizados em duas amostras de caldo, representadas pelas cores vermelha (repetição A) e azul (repetição B) na mesma figura e, em cada amostra, as determinações de amido, Brix e AR foram realizadas em triplicata. As condições em que a enzima Starmax E01 foi aplicada no caldo, pH na faixa de 6,8 a 7,2 e temperatura entre 75 e 105°C, estão de acordo com as condições recomendadas na ficha técnica da enzima, no Anexo A.

O teor médio de amido encontrado nas amostras de caldo caleado utilizadas para o experimento, foi de 1141 mg/kg%Brix, resultado condizente com o que foi observado no caldo de cana *in natura*.

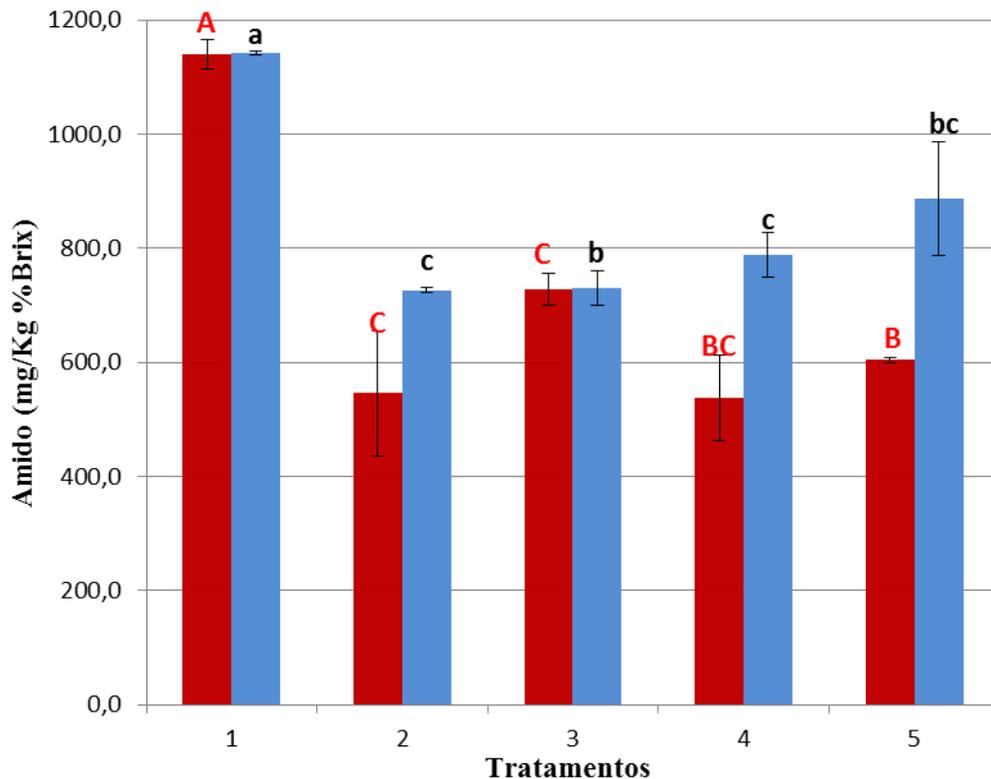


Figura 21 – Teor de amido nas amostras de caldo caaleado sem tratamento (1) e após tratamento com enzima (2); enzima e EDTA no tempo zero (3); 30 (4) ou 60 minutos (5)  
 Nota: As barras vermelhas representam os resultados da repetição A e as azuis representam os resultados da repetição B. Médias  $\pm$  desvio padrão seguidas com letras maiúsculas iguais ou com letras minúsculas iguais, não diferem estatisticamente, segundo o teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Como pode ser observado, o teor de amido encontrado nas amostras do tratamento 1, ou seja, tratamento controle, sem adição de enzima, é superior aos obtidos nos demais tratamentos, demonstrando que a alfa amilase foi eficiente na redução do amido no caldo de cana em todos os tratamentos avaliados. A redução observada foi de aproximadamente 52 e 36% para as repetições A e B, respectivamente, em relação à amostra controle.

Eggleston et al. (2007) estudando a otimização da aplicação da  $\alpha$ -amilase em três usinas de cana-de-açúcar em Louisiana (EUA), avaliaram a influência de diversos parâmetros como as propriedades das enzimas comerciais, ponto de aplicação, formas de aplicação e concentração, na atividade da  $\alpha$ -amilase. A usina 1 possuía capacidade para processar 10.000 toneladas de cana/ dia e a  $\alpha$ -amilase de *Bacillus subtilis* (59 KNU/L) foi adicionada sem diluição primária no último evaporador com um tempo de retenção de aproximadamente 18 minutos, pH 6,3 – 6,4, temperatura do caldo em torno de 60°C e temperatura de saída 65°C. A usina 2 possuía capacidade para processar 13.000 toneladas de cana/ dia e a  $\alpha$ -amilase de *B. subtilis* (59 KNU/L) foi adicionada sem diluição primária no último evaporador com um tempo de retenção de aproximadamente 18 minutos, temperatura do caldo em torno de 65°C e

temperatura de saída 62 - 65°C. Também foi adicionada em outro experimento enzima  $\alpha$ -amilase de *B. subtilis* (545,3 KNU/mL). A enzima foi adicionada sem diluição nas concentrações 0, 2 e 5 ppm e como uma solução de trabalho com fator de diluição 1:3 em água destilada. A usina 3 possuía capacidade para processar 14.000 toneladas de cana/dia e a  $\alpha$ -amilase de *B. subtilis* (59 KNU/L) e (545,3 KNU/L) foi adicionada sem diluição primária e como uma solução de trabalho com fator de diluição 1:5 em água destilada no último evaporador, com um tempo de retenção de aproximadamente 18 minutos, temperatura do caldo em torno de 62,8°C e temperatura de saída 65°C. Os autores constataram que em relação à eficiência na hidrólise do amido no caldo de cana, os melhores resultados foram obtidos utilizando  $\alpha$ -amilase de *B. subtilis* (545,3 KNU/mL) diluída 1:3 em água destilada, pois promoveu o maior contato da enzima com o substrato quando comparada com a eficiência da enzima aplicada sem diluição e o melhor ponto de aplicação encontrado foi no último evaporador.

Os efeitos do tempo de retenção, Brix e combinações de temperatura, viscosidade, concentração amido e dosagem de enzima foram avaliados por Madsen (1974) apud Ronaldson e Schoonees (2004) e de acordo com os resultados obtidos, as enzimas foram estáveis até a temperatura de 95°C, o que tornou o terceiro ou quarto evaporador mais adequados para a sua aplicação. De modo a garantir tempos de reação mais longos, um tanque de retenção, entre o terceiro e quarto, ou quarto e quinto evaporadores, foi algumas vezes utilizado.

No presente trabalho, as maiores reduções nos teores de amido na repetição A foram observadas nos tratamentos 2, 4 e 5, em relação ao tratamento controle, 1. Ainda, não foram observadas diferenças estatísticas entre os resultados obtidos para os tratamentos 2, 3 e 4, ou seja, entre a amostra contendo somente a enzima e as que além da enzima, foram adicionadas de EDTA, demonstrando que este não foi eficiente na inibição da atividade enzimática.

Além da determinação de amido, foram realizadas análises de Brix e açúcares redutores nas amostras após a realização do experimento, com o objetivo de verificar se a redução do amido do caldo está correlacionada com o aumento nos valores desses parâmetros (Tabela 12).

Tabela 12 – Concentração de amido, Brix e açúcares redutores (AR) em caldo de cana caaleado após tratamento<sup>1</sup> com enzima e EDTA-

Tratamento	Repetição A			Repetição B		
	Amido (mg/Kg%Brix)	Brix (°Brix)	Açúcares Redutores (g/L)	Amido (mg/Kg%Brix)	Brix (°Brix)	Açúcares Redutores (g/L)
1	1140,7 ± 25,6	15,2	3,06 ± 0,06a	1141,9 ± 3,8	14,6	2,96 ± 0,04b
2	545,5 ± 108,8	14,3	2,63 ± 0,07cd	726,4 ± 3,9	14,3	2,89 ± 0,03b
3	728,0 ± 27,2	14,3	2,85 ± 0,02b	730,4 ± 30,4	14,6	2,99 ± 0,08b
4	538,1 ± 74,9	17,8	2,57 ± 0,03d	787,5 ± 39,0	17,1	3,26 ± 0,04a
5	603,7 ± 3,88	14,3	2,76 ± 0,13cb	886,8 ± 100,1	14,4	2,82 ± 0,07b

NOTA: Médias ± desvio padrão seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente, segundo o teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tratamento 1 – controle; Trat 2 – caldo tratado com enzima; Trat 3 – caldo tratado com enzima e EDTA (Tempo zero); Trat 4 - caldo tratado com enzima e adição de EDTA (após 30 min); Trat 5 - caldo tratado com enzima e adição de EDTA (após 60 min)

Segundo Zajoncová (2004) apud Figueira (2009), os métodos mais utilizados para determinação de  $\alpha$ -amilase são baseados na redução da intensidade da coloração do complexo amido-iodo e na formação de açúcares redutores, medida como maltose ou glicose equivalente. No trabalho realizado por Figueira (2009), foi observada a formação de glicose, maltose, maltotriose, maltotetraose e outros oligossacarídeos de maior massa molecular na hidrólise do amido de cana-de-açúcar pela  $\alpha$ -amilase de *Bacillus subtilis*.

A enzima  $\alpha$ -amilase Starmax E 01 é utilizada para a redução do teor de amido no caldo de cana, produzindo a partir deste, dextrinas e oligossacarídeos, conforme descrito no Anexo A, os quais não são determinados como açúcares redutores. Dessa forma, uma correlação entre a redução do teor de amido do caldo e o aumento de açúcares redutores nas amostras de caldo após a ação das enzimas, não é esperado, como pode ser observado na Tabela 12, em que os maiores teores de AR não estão relacionados com os menores teores de amido, embora, conforme mencionado anteriormente, algumas metodologias utilizados para a determinação de  $\alpha$ -amilase são baseados na formação de açúcares redutores.

O método de Bernfeld, baseado na hidrólise de amido com  $\alpha$ -amilase e quantificação de açúcares redutores, foi capaz de quantificar  $\alpha$ -amilase residual nas amostras de açúcar bruto (FIGUEIRA, 2009).

Em relação aos teores de Brix nas amostras avaliadas, pode-se observar que os maiores valores observados estão relacionados a baixos teores de amido, tanto para a repetição A como para a repetição B, em relação à amostra controle.

#### 4.6 Determinação da atividade residual da $\alpha$ -amilase no caldo de cana

Após a realização dos tratamentos, as amostras foram analisadas quanto à presença de atividade residual da enzima Starmax E01 e os resultados estão apresentados na Figura 22. Por se tratar de uma metodologia interna, utilizada pela empresa Prozyn, não existem dados disponíveis na literatura para comparação.

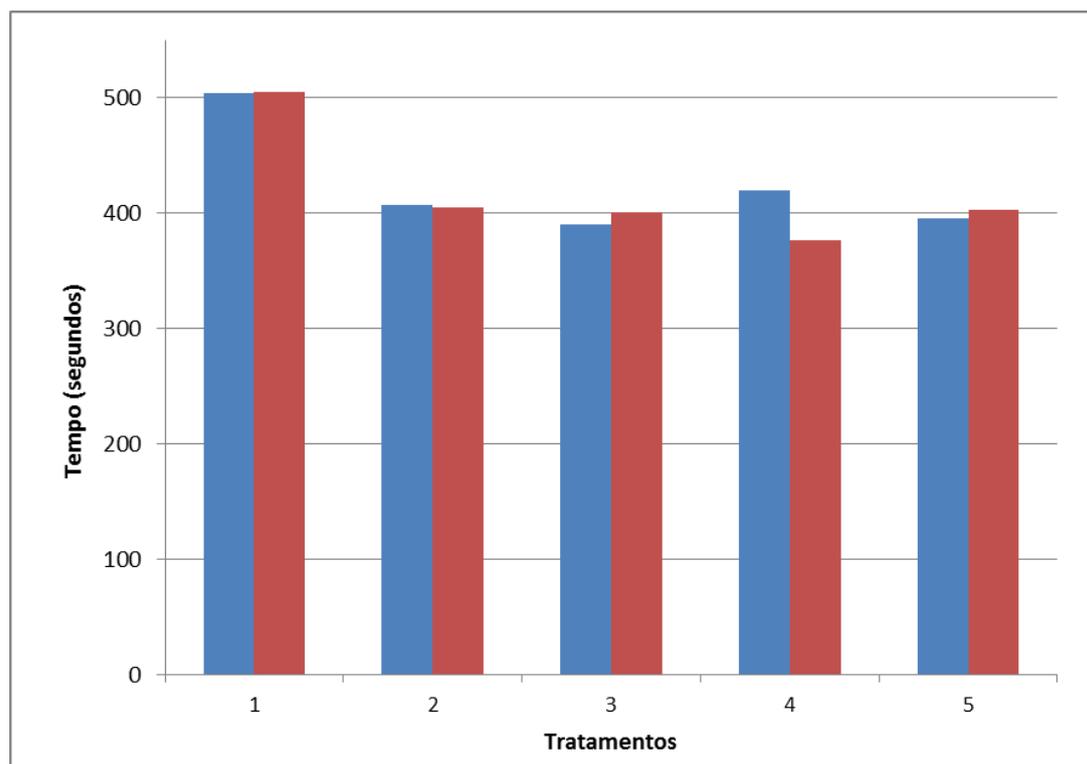


Figura 22 – Atividade residual de  $\alpha$ -amilase, avaliada em termos de viscosidade, no caldo caledado sem tratamento (1) e após tratamento com enzima (2); enzima e EDTA, no tempo zero (3); 30 (4) ou 60 minutos (5)

Nota: As barras vermelhas representam os resultados da repetição A e as azuis representam os resultados da repetição B.

Não existe nos EUA um órgão regulatório responsável pela padronização de métodos para determinação de atividade e unidades das  $\alpha$ -amilases comerciais. A falta de padronização de unidades que expressam a atividade da enzima confunde quem trabalha nas usinas, pois cada empresa fabricante expressa de forma diferente essa atividade o que dificulta e inviabiliza a comparação dos resultados. As unidades utilizadas nos Estados Unidos podem ser expressas, por exemplo, em MWU/mL, BAU/gm e MWU/g) (EGGLESTON et al., 2007).

O método utilizado, neste experimento, para medir a intensidade da atividade da enzima  $\alpha$ -amilase no caldo, foi baseado na alteração da viscosidade do meio sendo o resultado

expresso em segundos. Altos valores indicam baixa atividade da enzima, enquanto que valores inferiores indicam alta atividade da enzima na amostra.

No trabalho realizado por Figueira (2009), foram testados os métodos de Bernfeld baseado na determinação de açúcares redutores, método Iodométrico baseado na descoloração do complexo amido-iodo, método de Phadebas baseado na hidrólise do amido complexado com o corante Cibacron Blue F3GA e o método BNP-Amylase test usando o substrato BPNPG7 (blocked p-nitrophenyl maltoheptaoside, Megazyme, Ireland) baseado na hidrólise do substrato e liberação do p-nitrofenol para a determinação de  $\alpha$ -amilase residual em açúcar bruto e de acordo com os resultados, o método de Bernfeld se mostrou mais adequado para a quantificação de  $\alpha$ -amilase nas amostras.

De acordo com os resultados observados na Figura 21, a adição do EDTA nas amostras avaliadas, na concentração de 1%, em torno de 34 mM, não foi eficiente na inativação da Starmax E01, pois os resultados observados nos tratamentos 2, 3, 4 e 5 foram inferiores ao tratamento controle, 1, caldo de cana sem adição de enzima. Os resultados não foram condizentes ao observado no pré-teste, em que ocorreu redução de aproximadamente 78% na atividade da enzima. As diferenças observadas podem ser devido a maior complexidade do caldo de cana utilizado no experimento em relação à solução utilizada no pré-teste. Novos ensaios deverão ser realizados para determinação da concentração capaz de inativar completamente a enzima.

De acordo com Spier (2005) a amilase não é dependente de cálcio, entretanto, é importante a presença de cálcio para garantir que a enzima permaneça completamente ativa. Dessa forma, mesmo com a ação do EDTA nas amostras, o cálcio presente no caldo de cana auxiliou na estabilidade da enzima, por essa razão ela não foi inativada.

Em estudo realizado por Prakash, Jaiswal e Pandey (2001) foi observado que a amilase apresentou ser bastante estável ao efeito do EDTA (12,5 mM), pois mesmo durante uma hora de incubação, a temperatura de 27°C, o tratamento foi ineficiente.

Figueira (2009) observou que a  $\alpha$ -amilase bacteriana termoestável Termamyl, obtida de *B. licheniformis*, utilizada para remover o amido presente no caldo de cana-de-açúcar resiste ao processamento térmico e desta forma o açúcar bruto contém atividade residual de enzima.

De acordo com Eggleston, Montes e Stewart (2010), para prevenir a presença de atividade da  $\alpha$ -amilase no melão e no açúcar bruto, devem ser utilizadas para controle de amido no processo, as  $\alpha$ -amilases comerciais que são estáveis em temperaturas intermediárias. Enzimas produzidas pela bactéria *B. subtilis* são efetivas até a temperatura de 85°C.



## 5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos são baseados em experimentos realizados em laboratório, simulando as condições do processo, entretanto, as condições encontradas na rotina de uma usina, são mais complexas.

O tempo de retenção do caldo no tanque de caldo dosado utilizado na usina, nas condições de temperatura e pH observadas na rotina de trabalho, não teve influência na redução do teor de sacarose do caldo por inversão.

Os teores de amido encontrados nos caldos justificam a necessidade de aplicação da enzima para evitar problemas durante o processo de obtenção do açúcar.

A  $\alpha$ -amilase bacteriana Starmax E01 utilizada na etapa de clarificação do caldo, foi capaz de reduzir o teor de amido no caldo de cana.

A adição do EDTA no caldo de cana não foi eficiente na inativação da Starmax E01, pois não foram observadas diferenças estatísticas entre os resultados obtidos para a amostra contendo somente a enzima e as que além da enzima, foram adicionadas de EDTA.

A  $\alpha$ -amilase continuou ativa nas amostras de caldo e dessa forma poderá apresentar atividade residual em méis e no produto final.

Há necessidade de realização de novas pesquisas para avaliar métodos capazes de inativar a enzima no caldo, sem comprometer a sua ação na redução do teor de amido, de forma a evitar que residual da amilase esteja presente no açúcar.



## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, F.M. **Processo de fabricação do açúcar**. 3.-ed. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2011. 447p.
- ALCARDE, A.R. **Extração**. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01\\_103\\_22122006154841.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_103_22122006154841.html)>. Acesso em: 10 jun. 2013.
- ALVES, F.V. **Interferência do amido e da dextrana nas análises tecnológicas no caldo de cana-de-açúcar**. 2012. 107p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- AMORIM, H.-V.; OLIVEIRA, A.-J. Infecção na fermentação: como evitá-la. **Revista Açúcar & Álcool**, São Paulo, v. 2, n. 5, p.12-18, 1982.
- ANDREWS, L.S.; GODSHALL, M.A.; MOORE, S. Sucrose degradation under model processing conditions. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 5, p. 1621-624, 2002.
- ANYANGWA, E. M.; KAPSEU, C. E.; MUSONGE, P. The effect and removal of starch the sugar refining industry. **International Sugar Journal**, London, v. 95, p. 210-213, 1993.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 13<sup>th</sup> ed. Washington, 1980. 1015p.
- BEM, A.J.D.; KOIKE, G.H.A.; PASSARINI, L.C. Modelagem e simulação para o processo industrial de fabricação de açúcar e álcool. **Revista Minerva**, São Carlos, v. 3, n. 1, p. 33-46, 2006.
- BEZERRA, C.E.F. Tecnologia no processo de calagem. **Revista Opiniões**. Ribeirão Preto, p. 17, 2005. Disponível em: <<http://revistaonline.revistaopinioes.com.br/revistas/suc/55/>>. Acesso em: 28 jun. 2013.
- BOSCARIOL, F.C. DRD – Dedini Refinado Direto. **Revista Opiniões**, Ribeirão Preto, v. 6, p. 30, 2005. Disponível em: <<http://www.revistaopinioes.com.br/aa/materia.php?id=298>>. Acesso em: 20 maio 2013.
- BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. **Açúcar é o produto mais vendido por cooperativas em 2012**. Disponível em: <<http://www.mdic.gov.br/sitio/interna/noticia.php?area=5&noticia=11844>>. Acesso em: 24 maio 2013a.
- \_\_\_\_\_. **Balança comercial brasileira de cooperativas: janeiro a abril de 2013**. Disponível em: <<http://www.mdic.gov.br/sitio/interna/interna.php?area=5&menu=3186>>. Acesso em: 24 maio 2013b.
- CALDAS, C.S. **Manual de análises selecionadas para indústrias sucroalcooleiras**. Maceió: Sindicato da Indústria do Açúcar e do Álcool do Estado de Alagoas, 1998. 424p.

- CARREIRA, M.L. **Desempenho operacional, econômico e energético do transporte de cana de açúcar**: um estudo de caso. 2010. 80-p. Dissertação (Mestrado em Máquinas Agrícolas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.
- CASTRO, S.B. de; ANDRADE, S.A.C. **Tecnologia do açúcar**. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2007. 382p.
- CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA. **Manual de controle químico da fabricação de açúcar**. Piracicaba, 2011. p.1-45.
- CHEN, J.C.P.; CHOU, C. **Cane sugar handbook**: a manual for cane sugar manufacturers and their chemists. 12<sup>th</sup> ed. New York: John Wiley, 1993. 1090-p.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar 2012/13**: quarto levantamento. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_04\\_09\\_10\\_30\\_34\\_boletim\\_cana\\_portugues\\_abril\\_2013\\_4o\\_lev.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_04_09_10_30_34_boletim_cana_portugues_abril_2013_4o_lev.pdf)>. Acesso em: 15 abr. 2013.
- \_\_\_\_\_. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar 2013/14**: primeiro levantamento. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_04\\_09\\_10\\_29\\_31\\_boletim\\_cana\\_portugues\\_abril\\_2013\\_1o\\_lev.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_04_09_10_29_31_boletim_cana_portugues_abril_2013_1o_lev.pdf)>. Acesso em: 15 abr. 2013.
- CONSELHO DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Manual de instruções**. 5. ed. Piracicaba, 2006. 111p.
- CRUZ, S.H. da **Fluxograma de produção de açúcar**. Apostila de aulas ESALQ/USP. 2010.
- CRUZ, S.H. da; SARTI, D. **A química do açúcar**. Disponível em: <[http://crq4.org.br/?p=texto.php&c=quimicaviva\\_acucar](http://crq4.org.br/?p=texto.php&c=quimicaviva_acucar)>. Acesso em: 20 maio 2013.
- CUDDIHY, J.A.; PORRO, M.E.; RAUH, J.S. The presence of total polysaccharides in sugar production and methods for reducing their negative effects. **Journal of the American Society of Sugarcane Technologists**, Lenexa, v. 21, p. 73-91, 2001.
- DAVIES, J.G. **The principles of cane sugar manufacture**. London: Normam Rodger, 1938. 144-p.
- DAVIS, S.B. The chemistry of colour removal: a processing perspective. **Proceedings of the South African Sugar Technologists ‘Association**. Durban, v. 75, p. 328-336, 2001.
- DELGADO, A.A. **Tecnologia dos produtos agropecuários I**. Piracicaba: ESALQ, 1975. 209p.
- DELGADO, A.A.; CESAR, M.A.A. **Tecnologia dos produtos agropecuários I**. Piracicaba: ESALQ, 1975. 209p.
- \_\_\_\_\_. **Elementos da tecnologia e engenharia de açúcar de cana**. Piracicaba: ESALQ, Departamento de Tecnologia Rural, 1977. 752p. 2 v.

- DIOLA, V.; SANTOS, F. Fisiologia. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. **Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e álcool. Tecnologias e perspectivas**. Viçosa: UFV, 2010. cap. 2, p. 25-49.
- DOHERTY, W.O.S. Improved sugar cane juice clarification by understanding calcium oxide-phosphate-sucrose systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Brisbane, v. 59, p. 1829–1836, 2011.
- EGGLESTON, G.; MONTES, B. Optimization of amylase applications in raw sugar manufacture that directly concern refiners. **Proceedings of the 2009 Sugar Industry Technologists Meeting**, London, v. 69, n. 973, p. 243-252, 2009.
- EGGLESTON, G.; LEGENDRE, B.; TEW, T. Indicators of freeze-damaged sugarcane varieties which can predict processing problems. **Food Chemistry**, New Orleans, v. 87, p. 119–133, 2004.
- EGGLESTON, G.; DAMMS, M.; MONGE, A.; ENDRES, T. New insights on sucrose losses across factory evaporators and juice and syrup clarifiers. In: SUGAR PROCESSING RESEARCH CONFERENCE, 2004, Atlanta. **Proceedings...** New Orleans: Sugar Processing Research Institute, 2004. p. 349-370.
- EGGLESTON, G.; MONTES, B.; ANTOINE, A.; STEWART, D. Seasonal variations in optimized applications of intermediate temperature stable  $\alpha$ -amilase in raw sugar manufacture. **International Sugar Journal**, London, v. 112, n. 1340, p.472-480, 2010.
- EGGLESTON, G.; MONTES, B.; MONGE, A.; GUIDRY, D. Optimization of  $\alpha$ -amylase application in raw sugar manufacture. In: SUGAR PROCESSING RESEARCH CONFERENCE, 2006, Águas de São Pedro. **Proceedings...** New Orleans: Sugar Processing Research Institute, 2006. p. 319-340.
- \_\_\_\_\_. Optimization of  $\alpha$ -amylase application in U.S. factories. **Sugar Journal**, Lakeland, v. 70, p. 31, 2007.
- FARINE, S.; BIAGINI, A.; CHASTAN, M.H.; ESTOUPAN, S.; PUIGSERVER, A. Degradation of sucrose during sugar processing. I: Analysis of sucrose and inversion products by HPAE-PAD in model sugar systems under refinery conditions. **International Sugar Journal**, London, v. 102, n. 1215, p. 140-146, 2000.
- FAVERO, D.M.F. **Clarificação do caldo de cana-de-açúcar pelo processo de carbonatação**. 2011. 80-p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.
- FERNANDES, A.C. **Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar**. Piracicaba: STAB, 2003. 240p.
- FERREIRA JUNIOR, A.C.G.; RAMOS, V.H.S.; JESUS, E.; PACÍFICO, J.A. Otimização de produção do caldo clarificado em uma usina de produção de etanol. **Scientia Plena**, São Cristóvão v. 9, n. 3, p. 1-10, 2013.

- FIGUEIREDO, P. Breve história da cana-de-açúcar e do papel do Instituto Agrônômico no seu estabelecimento no Brasil. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M. de; LANDELL, M.G.A. **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2010. cap. 1, p. 31-44.
- GODOY, A. Soluções para redução do amido no açúcar. In: REUNIÃO ANUAL DA FERMENTEC, 25., 2004, São Pedro. **Resumos...** Piracicaba: FERMENTEC, 2004. p. 8-9.
- GODSHALL, M.A; LEGENDRE, B.L; CLARKE, M.A; MIRANDA, X.M.; BLANCO, R.S. Starch, polysaccharide and proanthocyanidin in Louisiana sugarcane varieties, **International Sugar Journal**, London, v. 98, p. 144-148, 1996.
- GUPTA, R.; GIGRAS, P.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V.K.; CHAUHAN, B. Microbial  $\alpha$ -amylases: a biotechnological perspective. **Process Biochemistry**, New Delhi, v. 38, p. 1599-1616, 2003.
- HAGIHARA, H.; IGARASHI, K.; HAYASHI, Y.; ENDO, K.; IKAWA-KITAYAMA, K.; OZAKI, K.; KAWAI, S.; ITO, S. Novel  $\alpha$ -amylase that is highly resistant to chelating reagents and chemical oxidants from the alkaliphilic *Bacillus* isolate KSM-K38. **Applied and Environmental Microbiology**, Tochigi, v. 67, n. 4, p. 1744-1750, 2001.
- HONIG, P. **Principles of sugar technology**. New York: Elsevier, 1953. v. 1, 767p.
- HUGOT, E. **Manual da engenharia açucareira**. São Paulo: Mestre Jou, 1977. -v. 1,- 544p.
- IMRIE, F.K.E.; TILBURY, R.H. Polysaccharides in sugar cane and its products– **Sugar Technology Reviews**, Amsterdam v. 1, p. 291-361, 1972.
- JIMÉNEZ, E.R. Dextranase in sugar industry: a review. **Sugar Tech**, La Habana, v. 11, n. 2, p. 124-134, 2009.
- JOHNSON, T.P. Experience with starch and dextran in a refinery. In: AMERICAN SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS, 1989, New Orleans. **Proceedings...** New Orleans: Midland Research Publication, 1989. p. 7-11.
- KOBLITZ, M.G.B. **Estudo de método para remoção de polissacarídeos que precipitam em cachaça**. 1998. 98p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.
- \_\_\_\_\_. Cardoidrases. In: \_\_\_\_\_. **Bioquímica de alimentos: teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 20-76.
- KULKARNI, D.P. **Cane sugar manufacture in India**. New Delhi: The Sugar Technologists' Association of India, 2009. 505p.
- LEITE, G.H.P. **Maturação induzida, alterações fisiológicas, produtividade e qualidade tecnológica da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.)**. 2005. 141p. Dissertação (Mestrado em Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”, Botucatu, 2005.

LEMOS, L.R. **Influência de diferentes teores de amido e dextrana em açúcar cristal na formação de flocos em soluções ácidas carbonatadas e soluções alcoólicas**. 2012. 88p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2012.

LEMOS, L.R.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G.; LACERDA, L.G. The influence of different amounts of dextran and starch in crystallized sugar in the formation of flock in acidic carbonated solutions and alcoholic solutions. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 15, n. 1, p. 65–70, 2013.

LIMA, U.A.; BASSO, L.C.; AMORIM, H.V. de. Produção de etanol. In: LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL. **Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. v. 3, p. 1-43.

LINGLE, S.E.; IRVINE, J.E. Sucrose synthase and natural ripening in sugarcane. **Crop Science**, Madison, v. 34, p. 1279-1283, 1994.

MACHADO, S.S. **Tecnologia de fabricação do açúcar**. Inhumas: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012. 56 p. Disponível em: <[http://redeotec.mec.gov.br/images/stories/pdf/eixo\\_prd\\_industr/tec\\_acucar\\_alcool/161012\\_tec\\_fabric\\_acucar.pdf](http://redeotec.mec.gov.br/images/stories/pdf/eixo_prd_industr/tec_acucar_alcool/161012_tec_fabric_acucar.pdf)>. Acesso em: 24 maio 2013.

MAGALHÃES, P.S.G.; BRAUNBECK, O.A. **Qualidade da matéria-prima entregue nas usinas: Projeto Programa de Pesquisa em Políticas Públicas**. Campinas: UNICAMP, FEAGRI, 2008. Disponível em: <[http://www.apta.sp.gov.br/cana/anexos/position\\_paper\\_painel1\\_paulo.pdf](http://www.apta.sp.gov.br/cana/anexos/position_paper_painel1_paulo.pdf)>. Acesso em: 29 maio 2013.

MAGRO, J.A. Nova maneira de colher manualmente a cana queimada visando a qualidade. In: REUNIÃO ANUAL ENCONTROS FERMENTEC, 25., 2005. Águas de São Pedro. **Resumos...** Águas de São Pedro: FERMENTEC, 2005. p. 8.

MANTELATTO, P.E. **Estudo do processo de cristalização de soluções impuras de sacarose de cana-de-açúcar por resfriamento**. 2005. 235-p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – 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. 170p.

MARQUES, M.O.; MUTTON, M.A.; AZANIA, A.; TASSO JÚNIOR, L.C.; NOGUEIRA, G.A.; VALE, D.W. **Tópicos em tecnologia sucroalcooleira**. Jaboticabal: Gráfica Multipress, 2006. 191p.

MARTIM, L.F. The complex organic nonsugars of high molecular weight. In: HONIG, P. (Ed.). **Principles of sugar technology**. Amsterdam: Elsevier, 1959. v. 1, p. 178-195.

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

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre : Artmed, 2011. 1304p.

OETTERER, M.; REGINATO-D'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M.H.F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006. 632-p.

OLIVEIRA, D.; 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.

OLIVEIRA, E.S. Enzimas para limitar os resíduos de amido e dextrana. **Revista Opiniões**, Ribeirão Preto, p. 18, 2005. Disponível em: <<http://revistaonline.revistaopinioes.com.br/revistas/suc/55/>>. Acesso em: 30 maio 2013.

PANPAE, K.; JATURONRUSMEE, W.; MINGVANISH, W.; NUNTIWATTANAWONG, C.; CHUNWISSET, S.; SANTUDROB, K.; TRIPHANPITAK, S. Minimization of sucrose losses in sugar industry by pH and temperature optimization. **The Malaysian Journal of Analytical Sciences**, Supanburi Province, v. 12, n. 3, p. 513-519, 2008.

PAYNE, J.H. **Operações unitárias na produção de açúcar de cana**. São Paulo: Nobel; STAB, 1989. 245-p.

PRAKASH, O.; JAISWAL, N.; PANDEY, R.K. Effect of metal ions, EDTA and sulfhydryl reagents on soybean amylase activity. **Asian Journal of Biochemistry**, Varanasi, v.3, n. 3, p. 282-290, 2011.

PÚGLIA, A.L. **Desempenho de leveduras selvagens com potencial de produção de enzimas amilolíticas em processo fermentativo**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2006. Disponível em: <<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/micro/m/2516.pdf>>. Acesso em: 25 jul. 2013.

RAPOSO, C.D.C.B.G. **Agentes quelantes potencialmente biodegradáveis e/ou biocompatíveis a partir de fontes biorrenováveis**. 2012. 110 p. Dissertação (Mestrado em Bioorgânica) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Monte da Caparica, 2012. Disponível em: <[http://run.unl.pt/bitstream/10362/8139/1/Raposo\\_2012.pdf](http://run.unl.pt/bitstream/10362/8139/1/Raposo_2012.pdf)>. Acesso em: 20 ago. 2013.

RAVAGNANI, E.M. Soluções tecnológicas – Dextranase: custo x benefícios – Estudos comprovam que as perdas causadas pela dextrana no processo de fabricação do açúcar justificam a aplicação de enzimas. **STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 28, n. 5, p. 48, 2010.

RAVAGNANI, E.M.; BORGES, R.; ESTELLER, M.S. Alfa amilases e dextranases. **Revista Leite & Derivados**, São Paulo, n. 130, p. 68-77, 2011.

RIBEIRO, E.J. **Clarificação do caldo de cana**. Disponível em: <[ftp://ftp.feq.ufu.br/Eloizio/Clarificacao\\_Caldo\\_Cana-2008.pdf](ftp://ftp.feq.ufu.br/Eloizio/Clarificacao_Caldo_Cana-2008.pdf)>. Acesso em: 15 jun. 2013.

RIPOLI, T.C.C.; RIPOLI, M.L.C. **Biomassa de cana-de-açúcar**: colheita, energia e ambiente. Piracicaba: O Autor, 2004. 302p.

\_\_\_\_\_. Sistemas de colheita de colmos. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. **Cana-de-açúcar**: bioenergia, açúcar e álcool. Tecnologias e perspectivas. Viçosa: UFV, 2010. cap. 10, p. 271-312.

ROCHA, G. **Análise termodinâmica, termo econômica e econômica de uma usina sucroalcooleira com processo de extração por difusão**. 2010. 150p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2010.

RODRIGUES, J.D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. 2005. Disponível em: <<http://www.malavolta.com.br/pdf/1071.pdf>>. Acesso em: 25 maio 2013.

RONALDSON, M.A; SCHOONEES, B.M. A basic method for the analysis s of starch in clear juice. **Proceedings of the South African Sugar Technologists Association**. Durban, v.78, p. 561-564, 2004.

ROSSETO, R. Cana-de-açúcar: dos resíduos poluentes à gestão ambientalmente correta de fontes alternativas de nutrientes. In: REUNIÃO ANUAL ENCONTROS FERMENTEC, 26., 2005. Águas de São Pedro. **Resumos...** Águas de São Pedro: FERMENTEC, 2005. p. 4-5.

\_\_\_\_\_. **Sistemas de transporte**. Agência de Informação Embrapa: Cana-de-açúcar. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01\\_100\\_22122006154841.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_100_22122006154841.html)>. Acesso em: 03 mar. 2013.

SCARPARI, M.S.; BEAUCLAIR, E.G.F. Anatomia e botânica. In: DINADO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M. de; LANDELL, M.G.A. **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2010. cap. 2, p. 47-56.

SILVA, J.E.A.R. da. **Desenvolvimento de um modelo de simulação para auxiliar o gerenciamento de sistemas de corte, carregamento e transporte de cana-de-açúcar**. 2006. 128-p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

SIMPSON, R. The chemistry of clarification. **Proceeding of the South African Sugar Technologists Association**, New York, v. 70, p.267-271, 1996.

SOUZA, A.M.G.F.; OLIVEIRA, M.C.F.L. O emprego da dextranase de *Penicillium herquei* na remoção de dextrana em caldos contaminados. **STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 16, n. 6, p. 34-37, 1998.

SOUZA, J. **Estudo da eficiência de alguns polieletrólitos utilizados na clarificação do caldo de cana**. 1988. 101p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

SOUZA, P.M.; MAGALHÃES, P.O. Application of microbial  $\alpha$ -amylase in industry: a review. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.41, n. 4, p. 850-861, 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822010000400004&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822010000400004&script=sci_arttext)>. Acesso em: 28 maio 2013.

SPIER, M.R. **Produção de enzimas amilolíticas fúngicas  $\alpha$ -amilase e miloglucosidase por fermentação no estado sólido**. 2005. 157p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005. Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/4684/Disserta%E7%E3o%20de%20Mestrado%20-%20Michele%20Rigon%20Spier.pdf;jsessionid=B37C7E0A5CEFA6F8E17FD373A9F537D4?sequence=1>>. Acesso em: 25 jun. 2013.

STUPIELLO, J.P. A cana-de-açúcar como matéria-prima. In: PARANHOS, S.B. **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 2, p. 761-804.

\_\_\_\_\_. A matéria-prima da safra 2003/04. **STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 21, n. 3, p. 14, 2003.

\_\_\_\_\_. Conversando com a cana: o uso de processos enzimáticos. **STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 29, n. 1, p.7, 2010.

STUPIELLO, J.P.; NOVAES, F.V.; DELGADO, A.A.; OLIVEIRA, E.R. de; CESAR, M.A.A.; VALSECHI, O. **Elementos de tecnologia de açúcar: curso de tecnologia dos produtos agropecuários**. Piracicaba: ESALQ, 1971. 72p.

TFOUNI, S.A.V. **Estudo do efeito do processamento na contaminação de cana-de-açúcar e derivados por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos**. 2005. 102p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

UNIÃO DAS INDÚSTRIAS DE CANA-DE-AÇÚCAR. **Detalhamento das exportações de açúcar pelo Brasil**. Disponível em: <<http://www.unicadata.com.br/listagem.php>>. Acesso em: 24 maio 2013a.

\_\_\_\_\_. **Mecanização já atinge 85% da colheita de cana do país**. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/unica-na-midia/18631428920344564516/mecanizacao-ja-atinge-85-por-cento-da-colheita-de-cana-do-pais/>>. Acesso em: 25 fev. 2013b.

UNIÃO DOS PRODUTORES DE BIOENERGIA. **O que é Pol e Brix**. Disponível em: <<http://www.udop.com.br/index.php?item=noticias&cod=26085#nc>>. Acesso em: 25 jun. 2013.

UNITED STATES. Department of Agriculture. **Sugar: world markets and trade**. Disponível em: <<http://usda01.library.cornell.edu/usda/fas/sugar//2010s/2013/sugar-05-23-2013.pdf>>. Acesso em: 25 jun. 2013.

VALLEE, B.L.; STEIN, E.A.; SUMERWELL, W.N.; FISCHER, E.H. Metal Content of  $\alpha$ -Amylases of Various Origins. **Journal of Biological Chemistry**, Seattle, v. 234, n.11, p. 2901-2905, 1959.

VAN DER POEL, P.H.; SCHIWECK, H.; SCHWARTS, T. **Sugar technology: beet and cane sugar manufacture**. Berlin: Dr. Albert Bartens, 1998. 1120p.

VIATOR, R.P.; RICHARD, E.P.; VIATOR, B.J.; JACKSON, W.; WAGUESPACK, H.L.; BIRKETT, H.S. Sugarcane chopper harvester extractor fan and ground speed effects on yield and quality. **Applied Engineering in Agriculture**, Houma, v. 23, n. 1, p. 31-34, 2006.

WALFORD, S.N. Composition of cane juice. **Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association**, Durban, v. 70, p. 265-266, 1996.

ZHOU, M.M.; KIMBENG, C.A.; EGGLESTON, G.; VIATOR, R.P.; HALE, A.L.; GRAVOIS, K.A. Issues of starch in sugarcane processing and prospects of breeding for low starch content in sugarcane. **Sugar Cane International**, Baton Rouge, v. 26, n. 3, p. 3-17, 2008.

ZURITA, E.J.C. **Avaliação da inversão da sacarose em um sistema de evaporação (evaporador de filme descendente com promotor de película)**. 2008. 95 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.



**ANEXO**



## ANEXO A – Ficha técnica da enzima Starmax E01



# Starmax E01

## Produção de dextrinas e oligossacarídeos

### DESCRIÇÃO

**StarMax E01** é um produto a base de  $\alpha$ -amilases capazes de hidrolisar o amido a altas temperaturas e baixo pH.

**StarMax E01** é uma endo-amilase que hidrolisa, ao acaso, ligações  $\alpha$ -1,4-glicosídicas, reduzindo a viscosidade do amido gelatinizado, produzindo dextrinas solúveis e oligossacarídeos.

### APLICAÇÃO

A presença de amido na cana aumenta a viscosidade do melão, dificultando o processamento e diminuindo a qualidade do açúcar.

A **StarMax E01** reduz o nível de amido no açúcar e pode ser dosado na entrada do decantador.

### CARACTERÍSTICAS

**StarMax E01** é um produto líquido, de cor castanha, não viscoso e totalmente solúvel em água.

**StarMax E01** não depende do íon cálcio.

Para o uso de **StarMax E01** recomenda-se uma faixa de pH de 5,0 a 7,5 e uma faixa de temperatura de 80 °C à 110 °C.



## DOSAGEM

A dosagem ótima de **StarMax E01** no processo de liquefação depende de parâmetros, como o tipo de matéria prima, tempo de processamento, pH, temperatura e quantidade de substância seca.

Com base nos resultados de desempenho da enzima, recomendamos dosagens entre 2 ppm sobre a quantidade de amido em base seca.

Para substituição de outras alfa-amilases termoestáveis, sua dose recomendada é 10 à 30% menor.

## BENEFÍCIOS

- Redução rápida da viscosidade da pasta de cereais.
- Redução superior de viscosidade com alto teor de sólidos.
- Aumento do rendimento na extração, produzindo um licor mais concentrado.
- Baixa dosagem, enzima concentrada.
- Não apresenta dependência de íon cálcio.
- Estabilidade maior a altas temperaturas.
- Em processos de amido, não há a necessidade de ajuste de pH, pois possui a mais ampla faixa de atuação.
- Diminuição de reagente para ajuste de pH.
- Evita formação de sub-produtos.
- Aumento da capacidade útil do equipamento.
- Diminuição do tempo de processo e dos gastos energéticos.
- Evita a gelatinização em caso de interrupção do processo.
- Compatível com processos industriais de batelada ou contínuo.



- Ideal para utilização em jet cooker, que possui altas temperaturas de operação.

### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

**StarMax E01** apresenta-se acondicionado em bombonas de 25 Kg.

**StarMax E01** deve ser conservado sob refrigeração em temperaturas entre 10 e 15°C, com a embalagem devidamente fechada. Para tempos maiores de estocagem recomenda-se que o produto seja refrigerado de 0 – 5 °C.

### CUIDADOS NO MANUSEIO

A inalação de **StarMax E01** deve ser evitada. Em caso de contato com a face e olhos deve-se lavar rapidamente com água corrente durante 15 minutos.

### SERVIÇO TÉCNICO

A Prozyn possui técnicos com conhecimentos para ajudar na aplicação do produto. Em caso de dúvida, entre em contato.