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

**Interferência do amido e da dextrana nas análises tecnológicas do
caldo de cana-de-açúcar**

Fernanda Viginotti Alves

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

**Piracicaba
2012**

Fernanda Viginotti Alves
Engenheira Agrônoma

Interferência do amido e da dextrana nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar

Orientadora:
Profa. Dra. **SILENE BRUDER SILVEIRA SARMENTO**

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

**Piracicaba
2012**

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

Alves, Fernanda Viginotti

Interferência do amido e da dextrana nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar / Fernanda Viginotti Alves.- - Piracicaba, 2012.
107 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Amido 2. Análise ótica 3. Cana-de-açúcar 4. Dextrana I. Título

CDD 664.122
A474i

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

*Aos meus pais, Osvaldo e Luzilda,
pela educação, apoio, carinho e amor incondicional.*

DEDICO

Ao Murilo, pelo amor, amizade e apoio durante todos esses anos juntos.
E, principalmente, por fazer parte de minha vida.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por sempre iluminar meu caminho.

A minha irmã Paula e a toda minha família, pelos momentos de distração e carinho.

À Prof^a. Dra. Silene Bruder Silveira Sarmento pela amizade, orientação, confiança e apoio. Levarei seus ensinamentos por toda a vida.

Ao meu co-orientador Prof^a. Dr. Claudio Lima Aguiar pelo incentivo, apoio e grande colaboração.

A todos meus amigos, em especial a Aline Silva Mello Cesar pelas viagens sempre exaustivas, mas sempre compartilhadas com grande companheirismo, amizade e boas risadas. E a todos os quais pude conviver nesse mesmo trajeto.

À Universidade Federal de São Carlos (UFSCar/CCA) pela sólida formação acadêmica e ao Prof. Dr. Marcio Roberto Soares pelo exemplo e incentivo.

Ao Prof. Dr. Jorge José Corrêa Lopes agradeço pela consideração, pelos ensinamentos e por aceitar o convite de fazer parte da banca examinadora.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), pela infraestrutura e ensino e pesquisa de excelência.

Ao Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN), pela oportunidade para realização desta pesquisa.

À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento da pesquisa e a Capes pela concessão da bolsa de mestrado.

À Carlota Boralli Prudente dos Anjos pela ajuda constante na realização das análises laboratoriais e, principalmente, pela amizade e pelo ótimo convívio durante todo esse tempo.

Ao doutorando Luis Fernando Polesi pelas infinitas ajudas, ensinamentos e amizade. Meu sincero agradecimento.

A amiga Patrice Berbert Dias pelo apoio, companheirismo e pelas nossas sempre boas conversas.

Aos colegas de pós-graduação Daniel e Dalá, pelo auxílio e pelos ótimos momentos de convivência e descontração.

Às estagiárias: Amanda, Anna Paula, Dâmaris, Isabela, Luciane, Maria Cecília e Pyera, pelas constantes ajudas e convivência diária.

Aos técnicos do Setor de Açúcar e Alcool, Rosemary, Sylvino e Pedro pela amizade e auxílio durante o desenvolvimento do projeto.

Aos alunos da pós-graduação pelos momentos compartilhados.

Aos meus “fillhotes de patas”, pelo amor sincero e pelas recepções sempre calorosas.

Ao Reginaldo Sartori e a Juliana Sartori pela ajuda e disponibilidade na doação da matéria-prima para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Mário Tomazelo Filho e ao aluno Guilherme Pontes pelo auxílio com a análise de imagem.

À Profa. Dr^a. Célia Maria Landi Franco (IBILCE/UNESP) e à doutoranda Marina Costa Garcia, pelas análises de DSC.

Ao Prof. Dr. Francisco André Ossama Tanaka por permitir a utilização do microscópio eletrônico de varredura e pela colaboração na captura de imagens.

A mestranda Roberta Bergamim Lima pela ajuda com a cromatografia.

A Profa. Dr^a. Célia Regina Montes (NUPEGEL/USP) e a Dr^a. Débora Ayumi Ishida pela análise de raios X.

Ao Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis (CENA/ USP) pela ajuda com alguns conceitos de polarimetria e refratometria.

Aos funcionários do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, em especial ao Fábio Benedito Rodrigues, pela dedicação e agilidade nos serviços solicitados.

A todas as pessoas que contribuíram diretamente ou indiretamente para execução dessa dissertação de mestrado. **Muito obrigada!**

“TRANSPORTAI UM PUNHADO DE TERRA TODOS OS DIAS E FAREIS UMA MONTANHA”

CONFÚCIO (551 a.C. - 479 a.C.), PENSADOR E FILÓSOFO CHINÊS

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	17
1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1 A cultura da cana-de-açúcar: considerações gerais.....	21
2.2 Composição química do caldo de cana.....	21
2.3 Polissacarídeos presentes na cana-de-açúcar.....	22
2.3.1 O amido e suas propriedades	23
2.3.2 A dextrana	27
2.4 Influência dos polissacarídeos do caldo sobre o processamento da cana-de-açúcar	29
2.5 Parâmetros tecnológicos utilizados para controle de qualidade e pagamento da cana-de-açúcar e a interferência dos polissacarídeos nestas determinações	31
3 MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 Material	33
3.2 Métodos	33
3.2.1 Extração do caldo de cana-de-açúcar	33
3.2.2 Avaliação dos parâmetros tecnológicos do caldo e da cana-de-açúcar	34
3.2.3 Extração do amido de cana-de-açúcar.....	36
3.2.4 Interferência do amido e da dextrana nas análises tecnológicas de Pol (% sacarose aparente) e Brix (% de sólidos solúveis totais)	39
3.2.4.1 Efeito da adição do amido em solução padrão de sacarose e em caldo	39
3.2.4.2 Efeito da adição de dextrana em solução padrão de sacarose e em caldo ...	39
3.2.5 Rendimento do processo de extração de amido.....	40
3.2.6 Composição do amido	41
3.2.7 Caracterização do amido de cana-de-açúcar.....	41
3.2.7.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	41
3.2.7.2 Tamanho dos grânulos.....	42
3.2.7.3 Cor do amido	42

3.2.7.4 Teor de amilose.....	42
3.2.7.5 Difractometria de raios-x e cristalinidade relativa.....	43
3.2.7.6 Propriedades térmicas.....	44
3.2.7.7 Fator de expansão dos grânulos	45
3.2.7.8 Susceptibilidade a ação enzimática.....	46
3.2.7.9 Cromatografia de permeação em gel	47
3.2.8 Análise estatística.....	47
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1 Caracterização dos parâmetros tecnológicos do caldo e da cana-de-açúcar	49
4.2 Interferência do amido nas análises tecnológicas de Pol e Brix.....	52
4.2.1 Efeito da adição do amido sobre a Pol em solução padrão de sacarose e caldo de cana	52
4.2.2 Efeito da adição de dextranas sobre a Pol da solução padrão de sacarose e do caldo de cana.....	57
4.2.3 Efeito da adição de amido sobre o Brix da solução padrão de sacarose e do caldo de cana.....	63
4.2.4 Efeito da adição de dextrana sobre o Brix em solução padrão de sacarose e do caldo de cana.....	67
4.2.5 Efeito da interferência do amido e da dextrana sobre o pagamento da cana...73	
4.3 Isolamento e caracterização do amido de cana-de-açúcar	75
4.3.1 Rendimento do processo de extração do amido	75
4.3.2 Composição do amido.....	75
4.3.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	76
4.3.4 Tamanho dos grânulos.....	78
4.3.5 Cor.....	80
4.3.6 Difractometria de raios X e cristalinidade relativa	81
4.3.7 Propriedades Térmicas	82
4.3.8 Fator de expansão dos grânulos	84
4.3.9 Susceptibilidade a ação enzimática	86
4.3.10 Distribuição do peso molecular por cromatografia de permeação em gel.....	87
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
6 CONCLUSÕES	93
REFERÊNCIAS.....	95

RESUMO

Interferência do amido e da dextrana nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar

A indústria Sucroenergética tem como uma de suas preocupações atuais a presença de polissacarídeos, como o amido e a dextrana, no caldo de cana-de-açúcar. Além de afetar a qualidade do açúcar, estes polissacarídeos podem alterar resultados de análises tecnológicas do caldo e, possivelmente, causar erros no pagamento da cana. Foram objetivos deste estudo: a) isolar e caracterizar o amido isolado de cana da variedade RB 86-7515 e b) avaliar a interferência de adições crescentes deste amido isolado e de dextranas comerciais com pesos moleculares 40.000 e 5.348.000 Dalton nas análises de polarimetria e refratometria do caldo e de uma solução de sacarose (sistema modelo) a 19% (m/m). As adições de amido e dextrana interferiram nas leituras de Pol e Brix, tanto em solução de sacarose como no caldo. Foi constatada forte correlação positiva entre as variáveis (Pol% x doses de amido ou dextrana e Brix% x doses de amido ou dextrana), tanto para o ensaio em solução de sacarose como para caldo. A dextrana teve maior interferência sobre as análises, embora a interferência do amido também tenha sido evidente. Por tratar-se de um sistema complexo (composição mista de várias substâncias, inclusive amido e dextrana originalmente presentes) o caldo de cana apresentou na maioria dos ensaios, incrementos menores de leituras no polarímetro e refratômetro que o sistema modelo. A adição de amido em solução de sacarose causou incrementos de Pol% a partir de dose compreendida entre 500 e 1000 ppm, enquanto no caldo esses acréscimos foram significativos a partir de doses entre 100 e 500 ppm. A adição de dextrana em solução de sacarose causou variação significativa da Pol% a partir de dose entre 100 e 500 ppm, independente do peso molecular, e no caldo entre 1000 e 5000 ppm para as de peso molecular menor e entre 500 e 1000 ppm para a de maior peso. Na análise de Brix% a adição de amido em solução de sacarose causou variação significativa a partir de dose compreendida entre 0 e 100 ppm, e no caldo a partir de dose entre 500 e 1000 ppm. No caso da dextrana, o ensaio com solução de sacarose apresentou variação significativa do Brix% a partir de dose compreendida entre 0 e 100 para a de menor peso e entre 100 e 500 ppm para a de maior peso. No caldo esses acréscimos foram significativos a partir de doses entre 100 e 500 ppm para ambas as dextranas. O amido isolado de cana foi caracterizado revelando a predominância de grânulos esféricos, com diâmetro médio variando de 2,8 a 3,1 μm e coloração muito próximo à branca. Seu teor de amilose foi de 17,5%, com padrão de cristalinidade do tipo A e cristalinidade relativa de 44,21% (elevada). A endoterma de gelatinização variou entre 66 e 81 $^{\circ}\text{C}$, com entalpia de 10,57 J.g^{-1} .

Palavras-chave: Cana-de-açúcar; Amido; Dextrana; Análises tecnológicas

ABSTRACT

Interference of starch and dextran in technological analysis of sugarcane juice

The Sucroenergetic industry has as one of their current concerns the presence of polysaccharides, such as starch and dextran, in sugar cane juice. In addition to affecting the quality of sugar, these polysaccharides can alter the results of technological analysis of the juice and possibly cause errors in the payment of sugarcane. The aims of this study were: a) isolate and characterize the isolated starch of sugarcane variety RB 86-7515 b) evaluate the influence of increasing additions of isolated starch and commercial dextrans with molecular weights 40,000 and 5,348,000 Daltons in the analysis of polarimetry and refraction of the juice and a sucrose solution (system model) to 19% (w/w). The additions of starch and dextran affected the Brix and Pol readings, both sucrose solution as in the juice. There was a strong positive correlation between the variables (% Pol x doses of starch or dextran and Brix% x doses of starch or dextran) for the test in sucrose solution and juice. Dextran has been more interference in the analysis, although interference of starch has also been evident. Because it is a complex system the juice showed in most trials, smaller increments on polarimetry and refractometry than the model system, by the presence of other substances. The addition of starch in sucrose solution caused increments of Pol% from the dose between 500 and 1000 ppm, while in the juice these additions were significant at doses of 100 to 500 ppm. The addition of dextran in solution of sucrose caused significant variation of Pol% from the dose between 100 and 500 ppm, regardless of molecular weight, and in juice between 1000 and 5000 ppm for the lower molecular weight and between 500 and 1000 ppm for the highest weight. In the analysis of Brix% the starch addition in sucrose solution caused a significant variation from the dose between 0 and 100 ppm, and in juice from the dose between 500 and 1000 ppm. In the case of dextran, the test with sucrose solution presented a significant variation of Brix% from the dose between 0 and 100 to the lower weight and between 100 and 500 ppm for higher weight. In juice these additions were significant from the doses between 100 to 500 ppm for both dextrans. The starch was isolated from sugar cane and was characterized revealing the predominantly spherical granules with an average diameter ranging from 2.8 to 3.1 μm and coloration close to white. Its amylose content was 17.5%; with crystallinity pattern of type A and relative crystallinity of 44.21% (high). The gelatinisation endotherm varied between 66 and 81 $^{\circ}\text{C}$ with enthalpy of 10.57 J.g^{-1} .

Keywords: Sugarcane; Starch; Dextran; Technological analysis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura das macromoléculas do amido. A) Amilose e B) Amilopectina..	24
Figura 2 - Organização dos grânulos de amido. A) Grânulo inteiro; B) Camadas semi-cristalinas formadas pelo empilhamento de lamelas amorfas e cristalinas; C) Modelo bioquímico das lamelas cristalinas e amorfas	25
Figura 3 - Padrões de difração de raios X dos amidos de cristalinidade tipo A, B e C	26
Figura 4 - Estrutura química da dextrana.	28
Figura 5 - Solubilização e gelatinização do amido durante o processamento de cana nas usinas	30
Figura 6 - Fluxograma de extração de amido de cana-de-açúcar	37
Figura 7 - Centrifugações sucessivas (1 a 6) na extração do amido de cana-de-açúcar, ordenadas da esquerda para a direita. A) Frascos com amido em suspensão antes da centrifugação e B) Frascos com amido precipitado após a centrifugação	38
Figura 8 - Imagens das sucessivas etapas de remoção dos compostos coloridos do amido em funil de separação. A) Formações de fases da suspensão de amido tratada com clorofórmio; B) Suspensão de amido separada e pronta para ser retirada do funil e C) Amido precipitado	38
Figura 9 - Difratoograma de raios-X, onde a seção hachurada corresponde à área amorfa e a seção entre a área hachurada e o gráfico corresponde à área cristalina	44

Figura 10 - Perfil cromatográfico da análise de açúcares por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC/ELSD-LT) para o caldo de cana.....	50
Figura 11 - Fotomicrografias dos grânulos de amido de cana-de-açúcar visualizados em microscópio eletrônico de varredura em dois aumentos	77
Figura 12 - Distribuição de tamanho de grânulos de amido de cana quanto aos diâmetros menores (A) e maiores (B)	79
Figura 13 – Perfil de difração de raios X do amido isolado de cana.....	81
Figura 14 - Perfil endotérmico do amido de cana de açúcar obtido por calorimetria diferencial de varredura.....	82
Figura 15 – Fator de expansão dos grânulos de amido de cana-de-açúcar sob diversas temperaturas	85
Figura 16 - Teores médios de açúcares redutores produzidos durante a hidrólise do amido de cana-de-açúcar por alfa-amilase pancreática de suíno.....	86
Figura 17 - Perfil de eluição do amido isolado de cana-de-açúcar em gel Sepharose CL-2B (BV = blue value; CHO = carboidrato total)	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Avaliações tecnológicas da cana-de-açúcar e do caldo no momento das diferentes extrações	49
Tabela 2 – Teores de açúcares no caldo de cana utilizado para a avaliação da interferência dos polissacarídeos	50
Tabela 3 – Resultados médios das análises de pH, teor de amido e de dextrana presentes no caldo de cana utilizado nos ensaios de interferência dos polissacarídeos nas análises tecnológicas.....	51
Tabela 4 – Valores de F e significância do efeito das adições de amido (doses) sobre a Pol da solução padrão de sacarose e do caldo.....	52
Tabela 5 – Efeito das adições de amido sobre a leitura sacarimétrica da Pol de solução padrão de sacarose (19 % m/m)	53
Tabela 6 – Efeito da adição crescente de amido sobre a leitura sacarimétrica da Pol do caldo de cana	55
Tabela 7 – Valores de F e significância do efeito de adições crescentes (doses) de duas dextranas padrões sobre a Pol de solução padrão de sacarose (19 % m/m) e do caldo de cana.....	57
Tabela 8 – Efeito da adição de dextranas padrões sobre a leitura sacarimétrica da Pol da solução de sacarose (19 % m/m)	58
Tabela 9 – Efeito da adição de dextranas padrões de diferentes massas moleculares sobre a leitura sacarimétrica da Pol de caldo de cana	60

Tabela 10 – Valores de F e significância do efeito das adições crescentes de diferentes doses de amido sobre o Brix da solução padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo de cana.....	63
Tabela 11 – Efeito da adição de amido sobre o Brix da solução padrão de sacarose (19% m/m).....	64
Tabela 12 – Efeito da adição crescente de amido sobre o Brix do caldo de cana	65
Tabela 13 – Valores de F e significância do efeito das adições crescentes de diferentes doses de duas dextranas padrão (40.000 e 5.348.000 Da) sobre o Brix da solução padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo de cana	67
Tabela 14 – Efeito da adição de dextranas padrões de diferentes massas moleculares sobre os valores de Brix da solução padrão de sacarose (19% m/m).....	68
Tabela 15 – Efeito da adição crescente de dextranas padrões sobre o Brix em caldo de cana	70
Tabela 16 – Tamanho dos grânulos de amido de cana-de-açúcar	78
Tabela 17 - Valores médios de luminosidade (L), croma (C) e ângulo hue (°H) do amido de cana.....	80
Tabela 18 – Propriedades térmicas do amido de cana-de açúcar	83

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, com área plantada de cerca de 8,4 milhões de hectares e produção em torno de 588 milhões de toneladas na safra 2011/2012 (COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO, 2010). Dentro deste cenário, destaca-se como o maior produtor e exportador mundial de açúcar, sendo um dos países com maior visibilidade e competição nesse mercado (ALVES, 2010).

Dentre os fatores que interferem no resultado agroindustrial da atividade canavieira, estão a produtividade, a qualidade da matéria-prima e as condições de processamento, pois podem afetar os rendimentos industriais (ROSSETTO, 2005).

Atualmente uma das preocupações da indústria sucroalcooleira está relacionada com a presença de polissacarídeos no caldo extraído da cana (MAGRO, 2005). O teor destes carboidratos complexos presentes na cana-de-açúcar difere com a variedade de cana, o clima, manuseio e condições durante o armazenamento (CUDDIHY; PORRO; RAUH et al., 2001). Segundo Roberts et al. (1976), os polissacarídeos são compostos de elevado peso molecular e influem diretamente na qualidade e processo de obtenção do açúcar, pois aumentam a viscosidade das soluções, reduzem a taxa de filtração, atrasam o crescimento do cristal de açúcar e causam sua distorção.

Nas últimas décadas algumas pesquisas foram realizadas para se determinar a origem, estrutura e propriedades dos polissacarídeos presentes no caldo e que tipos de problemas estes podem gerar na obtenção do açúcar. Dentre os diversos polissacarídeos presentes, a dextrana e o amido têm sido os mais frequentemente citados (CUDDIHY; PORRO; RAUH, 2001).

Com o atual uso crescente da cana colhida sem queima prévia, manual ou mecânica, tem sido constatado aumento dos teores de impurezas vegetais, com maior heterogeneidade do carregamento e maior relação ponta/colmos. As pontas apresentam menor teor de pureza que o colmo, com teores mais elevados de açúcares redutores, aminoácidos, amido, ácidos orgânicos, compostos fenólicos e polissacarídeos totais e, portanto, menores teores de sacarose (PÚGLIA, 2006). O teor de impurezas minerais que entra na indústria também tem se elevado com a mecanização da colheita (GARSON, 1992), em virtude da maior quantidade de terra acompanhante e da contaminação microbiana, resultando, entre outros em aumento

do teor de dextrana (TROST & STEELE, 2002).

A qualidade da cana para a indústria não pode ser avaliada somente pelo seu teor de sacarose, embora seja o parâmetro mais importante (PARANHOS, 1987). Assim, para avaliar corretamente a qualidade da matéria-prima é preciso considerar além da riqueza da cana em açúcares, o potencial de recuperação destes açúcares.

Os principais fatores relacionados à qualidade da cana-de-açúcar a ser utilizada como matéria-prima industrial são a polarização (porcentagem de sacarose aparente), teor de sólidos solúveis, pureza, teor de açúcares redutores, porcentagem de fibra e tempo de queima e corte. Desse modo, o levantamento correto destes parâmetros é um ponto crítico para o balanço de massa e financeiro da empresa.

Existem registros de alguns estudos na literatura apontando para a interferência da dextrana nas análises tecnológicas do caldo (DE LA ROSA, 1998b, BRADBURY et al., 1986), mas não foram encontrados estudos sobre a interferência do amido. Estas interferências podem causar erros no cálculo de rendimento e no pagamento da cana. Este problema pode ser agravado pelas tendências atuais do uso de novas matérias-primas como fonte de sacarose, tais como o sorgo sacarino. Este último tem em comum com a cana-de-açúcar o armazenamento da sacarose no colmo, bem como o fornecimento de bagaço para a indústria (OLIVEIRA, 1986). O sorgo pode ser usado como opção complementar no período da entressafra da cana (MIRANDA, 2011). Em sua composição, o sorgo sacarino apresenta teores de amido ainda mais elevados que o da cana.

Tendo em vista a relevância da indústria sucroenergética no cenário atual e dentro desta, a importância do controle analítico em usinas visando o pagamento da matéria-prima pela qualidade e rendimento industrial, foram objetivos do presente estudo isolar e caracterizar o amido isolado da cana de açúcar e avaliar a interferência deste amido e da dextrana de diferentes pesos moleculares nas análises tecnológicas mais usuais do caldo de cana.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura da cana-de-açúcar: considerações gerais

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma planta semiperene pertencente à família das *Poaceas* (MOZAMBANI et al., 2006). É originária do sudeste Asiático, na região central da Indonésia e Nova Guiné (DANIELS; ROCHE, 1987).

O Brasil é considerado o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. A região produtora de maior destaque é a Centro - Sul, com mais de 86% da produção canavieira, e o Estado de São Paulo o maior produtor nacional (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB, 2011).

A cadeia produtiva da cana-de-açúcar tem grande importância no cenário socioeconômico brasileiro. É responsável por fatia expressiva do produto interno bruto, gera divisas com a exportação de açúcar e etanol, é uma fonte de energia renovável e uma atividade de intensa geração de empregos (GOMES, 2003).

Em 2011, o setor sucroenergético produziu em torno de 37 milhões de toneladas de açúcar e 23,6 bilhões de litros de etanol (CONAB, 2011). Diante de uma perspectiva futura, as projeções para a safra 2018/2019 são positivas, e apontam para uma produção de 47,3 milhões de toneladas de açúcar e 58,8 bilhões de litros de etanol (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2010).

A importância da cultura da cana-de-açúcar no agronegócio brasileiro é evidente. O Brasil destaca-se no cenário internacional pela tecnologia empregada nas etapas de produção, porém a pesquisa científica tem muito a contribuir para a melhoria do processo produtivo, da lavoura até a indústria (COSTA, 2005).

2.2 Composição química do caldo de cana

De acordo com Spencer & Meade (1967), o caldo de cana está presente entre os entrenós da fase sólida na cana-de-açúcar, formando um composto bifásico sólido - líquido. A fase sólida é formada por um complexo de celulose, lignina e pentosana enquanto que a fase líquida é uma solução aquosa contendo grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos, dos quais a maior porcentagem é de açúcares.

O caldo é um sistema coloidal muito complexo, sendo a água o principal meio de dispersão. As partículas dispersas podem ser grosseiras (bagacilho, areia, terra, gravetos); coloidais (ceras, gorduras, proteínas, gomas, corantes, dextranas e amido); moleculares ou iônicas (açúcares, sais minerais e ácidos orgânicos) (COPERSUCAR, 1994). Em valores, a constituição do caldo de cana varia de 78 a 86% de água, 10 a 20% de sacarose, 0,1 a 2,0% de açúcares redutores, 0,3 a 0,5% de cinza e 0,5 a 1,0% de compostos nitrogenados. Seu pH varia entre 5,2 a 6,8 (LIMA et al., 2001). Muitos parâmetros influenciam a formação do perfil do caldo de cana, tais como variedade e grau de maturidade, tipo de solo, adubação, condições climáticas, tipo de colheita, tempo entre a queima, corte e processamento, conteúdo de pontas e palha e forma de extração do caldo (SOUZA, 1988).

2.3 Polissacarídeos presentes na cana-de-açúcar

Os polissacarídeos são compostos de alto peso molecular, formados de unidades de monossacarídeos, que no caso da cana, encontram-se na faixa de milhões de Dalts (Da) (BLAKE; CLARKE, 1984; CLARKE et al., 1986).

Muitos tipos de polissacarídeos podem ser encontrados na cana, tais como o amido, dextrana, levanas, pectina, celulose, hemicelulose e gomas. Os polissacarídeos solúveis presentes na cana e seus produtos podem ser agrupados em categorias: estruturais, que incluem hemiceluloses, pentosanas e pectinas; os polissacarídeos formados por bactérias antes ou durante os processos de fabricação e refinação, como a dextrana e a levana e o polissacarídeo sarkaran, que pode ser formado em cana colhida na ausência de infecção bacteriana, provavelmente pela ação de enzimas naturais presentes no caldo (IMRIE E TILBURY, 1972).

Na literatura os polissacarídeos são conhecidos por causar efeitos negativos no processamento da cana há algum tempo. Imrie e Tilbury (1972) reportaram que, todos os polissacarídeos, em virtude de suas propriedades físicas, resultam em efeitos negativos sobre o processamento da cana-de-açúcar. Segundo Roberts et al. (1976), os polissacarídeos influem de maneira direta na qualidade do açúcar, pois aumentam a viscosidade das soluções, diminuem a taxa de filtração, atrasam o crescimento do cristal e causam sua distorção. Dentre os polissacarídeos, o amido e a dextrana são os mais frequentemente citados (CUDDIHY; PORRO; RAUH, 2001).

Concentrações de amido acima de 400 ppm no caldo de cana podem resultar na produção de açúcar bruto com quantidades de amido superiores a 150 ppm (baseado em Brix) (FIGUEIRA, 2009), enquanto que teores moderados e severos de dextrana na fábrica (>1000 ppm/°Brix no caldo) são interruptores de processos operacionais normais (EGGLESTON; MONGE, 2005).

2.3.1 O amido e suas propriedades

O amido é produto primário da fotossíntese, sendo estocado nas folhas da cana-de-açúcar como fonte de reserva energética para a planta, podendo ser convertido em açúcar (BOYES, 1958). Está presente no caule da cana, mas é mais abundante nas folhas e no ápice do caule (IMRIE e TILBURY, 1972).

Em seu estado nativo, o amido é insolúvel em água fria, com morfologia, composição química e estrutura molecular característica de cada espécie (BELLO-PÉREZ; MONTEALVO; ACEVEDO, 2006).

O amido é composto por duas macromoléculas: uma linear, denominada amilose, na qual as unidades de glicose estão unidas por ligações $\alpha(1-4)$ e outra altamente ramificada denominada amilopectina, onde as ligações glicosídicas são do tipo $\alpha(1-4)$ e nos pontos de ramificação do tipo $\alpha(1-6)$ (FENNEMA, 1996), como apresentadas na Figura 1.

O peso molecular da amilose varia de 10^5 a 10^6 , com um número de resíduos de glicose por molécula que varia de 500 a 5000. Durante o aquecimento do grânulo de amido em meio aquoso, a amilose contribui para a viscosidade da fase contínua da dispersão amido-água. Já a molécula de amilopectina possui peso molecular da ordem de 10^7 a 10^9 , dependendo de sua origem (GALLIARD; BOWLER, 1987).

Figura 1 - Estrutura das macromoléculas do amido. A) Amilose e B) Amilopectina
Fonte: Bello-Pérez, Montealvo e Acevedo (2006).

Os grânulos de amido são formados pela amilose e amilopectina, em diferentes proporções, conforme a fonte botânica (NELSON; PAN 1995). Apresentam variação de tamanho, com diâmetros menores de 1 μm até maiores que 100 μm (BELLO-PÉREZ; MONTEALVO; ACEVEDO, 2006).

Os grânulos de amido estão organizados em regiões cristalinas e amorfas, com transição gradual entre elas. Enquanto a região cristalina é constituída de cadeias laterais da amilopectina e os pontos de ramificação e a amilose são os principais componentes das regiões amorfas (PARKER; RING, 2001).

As áreas cristalinas são responsáveis por manter a estrutura granular, influenciando seu comportamento em água e tornando-o relativamente resistente ao

ataque de enzimático e químico (CEREDA, 2001). O tipo e grau de associação intermolecular entre os componentes do amido são dependentes dessa estrutura cristalina (SINGH et al., 2003). A zona amorfa dos grânulos é a região menos densa, mais suscetível aos ataques enzimáticos e que absorve mais água em temperaturas abaixo da temperatura de gelatinização (BILIADERIS, 1991).

Na Figura 2 têm-se a estrutura do grânulo de amido (zonas alternadas, cristalinas e amorfas). A parte amorfa apresenta 20 Å de espessura e a cristalina 50 Å (FRENCH, 1984). As ramificações presentes na cadeia da amilopectina são formadas por grande número de cadeias laterais lineares curtas, arranjadas em duplas hélices, formando cachos ou *clusters* de 20 Å de comprimento, que são estruturas extremamente compactas (CORDENUNSI, 2006).

Figura 2 - Organização dos grânulos de amido. A) Grânulo inteiro; B) Camadas semi-cristalinas formadas pelo empilhamento de lamelas amorfas e cristalinas; C) Modelo bioquímico das lamelas cristalinas e amorfas

Fonte: Robin et al. (1974).

A difração de raios-X é utilizada para se entender a estrutura granular do amido (BILIADERIS, 1991). Segundo Neto (2003), quanto maior o número de cristais

no plano de uma estrutura, mais intensos, pontiagudos e estreitos serão os picos da difração de raios-X. As partes amorfas geram picos mais largos e menores.

Através da difração de raios-X, podem-se revelar três padrões de grânulos (A, B e C), dependendo de sua forma e estrutura cristalina (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006). A Figura 3 mostra o diagrama das difrações de raios-X destes padrões.

Figura 3 - Padrões de difração de raios X dos amidos de cristalinidade tipo A, B e C

Fonte: Bertoli (2000).

O padrão do tipo A apresenta picos nos ângulos de difração 2θ em $15,3^\circ$; $17,1^\circ$; $18,2^\circ$ e $23,5^\circ$; o tipo B em $5,6^\circ$; $14,4^\circ$; $17,2^\circ$; $22,2^\circ$ e 24° ; e o tipo C em $5,6^\circ$; $15,3^\circ$; $17,3^\circ$ e $23,5^\circ$ (ZOBEL, 1964).

O grau de cristalinidade dos amidos tipo A (31 a 37,1%) é maior dos que os de B (27,2 a 29,8%) e C (27,8%). O tipo A é mais densamente empacotado em estruturas de hélices possui maior proporção de cadeias ramificadas menores e maior número de cadeias em *clusters* (SRICHUWONG et al., 2005).

Outras importantes propriedades do amido dizem respeito à gelatinização e retrogradação. A gelatinização é uma mudança irreversível da estrutura do grânulo causada pelo aquecimento de suspensões de amido em excesso de água. Quando

a energia cinética das moléculas de água supera as pontes de hidrogênio entre as moléculas de amilose e amilopectina ocorre a hidratação, resultando no intumescimento do grânulo. Ao continuar a expansão, o grânulo se rompe, liberando a amilose para a fase aquosa e iniciando a gelatinização (ZHOU et al., 2002). A lixiviação da amilose e a contínua absorção de água pelos grânulos de amido aumenta a viscosidade das soluções (HOSENEY, 1994).

A retrogradação é um processo de transição irreversível do estado altamente inchado ou solubilizado do amido para o estado insolúvel, contraído e microcristalino (BELITZ; GROSH; SCHIEBERLE, 2004). É um fenômeno complexo e dependente de inúmeros fatores tais como a fonte e concentração de amido, condições de aquecimento e resfriamento, pH e presença de solutos, tais como lipídeos e açúcares (BELLO-PÉREZ; MONTEALVO; ACEVEDO, 2006).

Durante a cocção, a amilopectina é a grande responsável pela expansão do grânulo de amido. Os grânulos que são ricos em amilopectina dissolvem-se mais facilmente em água a 95°C. Em virtude do aumento esférico, as moléculas de amilopectina não têm tendência à recristalização, com elevado poder de retenção de água (CHEFTEL: CHEFTEL, 1992).

2.3.2 A dextrana

A dextrana é um polímero de glicose obtido a partir de sacarose, principalmente por bactérias contaminantes do gênero *Leuconostoc* (OLIVEIRA et al., 2002), através da ação dextranasacarase (CUDDIHY; DAY, 1999). Esta enzima degrada a sacarose em uma molécula de frutose e uma de glicose, a qual é polimerizada em dextrana. A frutose permanece na solução e pode ser determinada analiticamente (CLARKE; GODSHALL, 1988).

A formação da dextrana pode ocorrer antes ou mesmo durante o corte da cana, bem como no processamento industrial (ALVAREZ; CARDENTY, 1988).

As dextranas produzidas pelas cepas mais comuns de *Leuconostoc mesenteroides* possuem mais de 90% de ligações glicosídicas $\alpha(1-6)$ e o restante de suas ligações do tipo $\alpha(1-4)$, $\alpha(1-3)$, $\alpha(1-2)$, as quais formam as ramificações ao longo da cadeia (SINGLET, 2002) (Figura 4).

Figura 4 - Estrutura química da dextrana

Fonte: Adaptado de Soliman (2007).

É um polissacarídeo solúvel em água e apresenta funcionalidades através de seus grupos hidroxilas reativos (NAESSENS et al., 2005). Sua solubilidade está ligada ao grau de ramificação da cadeia e ao seu peso molecular. Quanto mais ramificada é a cadeia, menos solúvel é a dextrana (AQUINO, 2006).

O peso médio das dextranas pode variar de 1.500 até vários milhões de dalts (Da) e a sua estrutura irá depender da espécie de bactéria e do tipo de dextranasacarase no meio (NAESSENS et al., 2005). Dextranas com peso molecular de aproximadamente 5.000.000 Da são, na maioria das vezes, constatações da presença das espécies mais comuns de *Leuconostoc* em plantações de cana (BROWN e INKERMAN, 1992).

Aquino e Franco (2008) avaliaram o perfil das dextranas presentes em amostras e constataram a presença de dextranas com alto peso molecular ponderal (5.100.080 Da; 41.052 Da e 13.389 Da) em quase todos os açúcares analisados.

2.4 Influência dos polissacarídeos do caldo sobre o processamento da cana-de-açúcar

A presença de polissacarídeos como o amido e dextrana durante o processamento do caldo de cana ocasiona diversos problemas, direcionando a uma operação ineficiente e a perdas de produção.

Durante o processamento da cana-de-açúcar os polissacarídeos aumentam a viscosidade e diminuem ou inibem a cristalização, com aumento da perda de sacarose para o melaço. Devido à sua natureza e alta solubilidade, são difíceis de serem removidos do processo (GODSHALL et al., 1996).

A adoção da nova colheita da cana verde tem agravado o problema do amido no processamento do caldo de cana, além da necessidade de incorporar traços de germoplasma selvagem *Saccharum* em cana cultivada (ZHOU et al., 2010). A problemática do amido é minimizada em muitos países com a aplicação da enzima α -amilase (EGGLESTON et al., 2006), porém esta é uma solução a curto prazo, relativamente cara e nem sempre eficaz, enquanto que a disponibilidade de variedades de cana com baixo teor de amido deve apresentar um desenvolvimento mais sustentável e uma solução a longo prazo (ZHOU et al., 2010).

Johnson (1989) relatou que a presença de amido, independente da origem, combinada ou não com altas concentrações de dextrana, exerce um efeito muito negativo no processamento do açúcar, podendo resultar em aumento sinérgico de problemas com a viscosidade. Esses efeitos podem ocorrer tanto em usinas como refinarias. A molécula de amido é insolúvel em temperaturas baixas, mas quando atinge altas temperaturas (em torno de 60 °C) pode gelatinizar, resultando no inchaço dos grânulos, que passam a ocupar maiores volumes.

No processamento do caldo de cana, a solubilização e gelatinização dos grânulos de amido são completadas na clarificação e evaporação. Durante essas etapas, os grânulos de amido são aquecidos, expandem progressivamente e rompem com a liberação da amilose e amilopectina, transformando-se numa solução viscosa amorfa (EGGLESTON et al., 2006) (Figura 5).

Figura 5 - Solubilização e gelatinização do amido durante o processamento de cana nas usinas

Fonte: Eggleston et al. (2006).

Martim (1959) menciona que, mesmo em pequenas quantidades na cana, o amido pode alcançar concentrações suficientemente altas, aumentando a viscosidade e exercendo poder melassigênico alto no processo de concentração do açúcar. De acordo com Zhou et al. (2008), este polissacarídeo pode ainda reduzir as taxas de cristalização e centrifugação, ficar ocluído no cristal de sacarose, aumentar a produção de melaço, reduzir filtrabilidade do açúcar bruto e impedir os processos de descoloração da refinaria.

A presença de dextrana também contribui com efeitos negativos para o processamento da cana-de-açúcar. Imrie e Tilbury (1972) mencionam que altas concentrações de dextrana podem reduzir a capacidade da fábrica devido aos efeitos combinados de aumento de viscosidade, aumento do tempo de fervura e de evaporação, além da redução da taxa de cristalização.

As dextranas também causam deformação dos cristais de açúcar, entopem filtros e dificultam a remoção do material em suspensão durante a etapa de clarificação do açúcar (NAESSENS et al., 2005).

Quantidades de dextrana acima de 1000 ppm/Brix no caldo misto têm sido reconhecidas como interruptoras das operações normais de processamento do açúcar. Muitas fábricas são penalizadas pelas refinarias devido à presença de

dextrana no açúcar bruto (EGGLESTON; MONGE, 2005). E a presença de dextrana, quando introduzida como contaminante do açúcar na indústria alimentícia, causa problemas como o entupimento de filtros e tubulações, alteração de viscosidade de xarope, deformação de balas, formação de depósitos de turvação de bebidas alcoólicas (RODRIGUES-FILHO et al., 2007).

O uso da enzima dextranase é o método mais eficiente para hidrolisar as dextranas nas usinas de açúcar (JIMÉNEZ, 2009).

2.5 Parâmetros tecnológicos utilizados para controle de qualidade e pagamento da cana-de-açúcar e a interferência dos polissacarídeos nestas determinações

A qualidade da cana que ingressa na fábrica é estabelecida pela determinação de parâmetros como a polarização (Pol), sólidos solúveis (°Brix), pH, açúcares redutores, pureza, extração e rendimento, entre outros. A polarização e a refratometria (°Brix) são de alta significância, visto que a pureza do caldo resulta da relação $\text{Pol}/^{\circ}\text{Bx} \times 100$ (DE LA ROSA, 1998a). É notável a importância dos procedimentos analíticos para a cana-de-açúcar, também porque o pagamento aos produtores é realizado através dessas análises.

A polarização (Pol) refere-se à porcentagem em massa de sacarose aparente contida em uma solução de açúcares (MORGANO, 2005). Segundo Fernandes (2003), é determinada por métodos polarimétricos ou sacarimétricos, fundamentada na propriedade dos açúcares em desviar o plano da luz polarizada. A sacarose e a glicose são açúcares dextrógiros, provocando o desvio da luz polarizada para a direita, já a frutose é levógira, desviando-a para a esquerda. Desta forma, a soma algébrica ponderada dos três açúcares (sacarose, glicose e frutose) representam a leitura polarimétrica do caldo.

O teor percentual em massa de sacarose no caldo é dito como uma medida aparente, pois sofre interferência de outros açúcares que não a sacarose. Estes açúcares também têm a capacidade de desviar o plano da luz polarizada.

Os polissacarídeos podem contribuir para a distorção da polarização (GODSHALL et al., 1996). O amido é opticamente ativo, desviando a luz polarizada

para a direita ($(\alpha)_+ = 205$) (RAPHAEL, 2006), bem como a dextrana, que tem rotação ótica positiva em torno de $+195^\circ$ a $+200^\circ$ (BRADBURY et al., 1986).

A dextrana é altamente dextrógira, aproximadamente três vezes mais do que a sacarose, o que resulta em influência direta desta sobre a polarização, ocasionando falsas leituras (CLARKE et al., 1997; GUGLIELMONE et al., 2000). Níveis elevados de dextrana também reduzem a eficiência da clarificação, etapa prévia requerida para as avaliações do caldo em polarímetros (IMRIE e TILBURY, 1972).

Como o agricultor é pago em grande parte com base na leitura polarimétrica, há grande necessidade de ensaios com dextrana em laboratórios, de forma a corrigir leituras falsificadas e a identificar fontes de contaminação ao entrar nas fábricas (SINGLETT et al., 2001). De acordo com De La Rosa (1998b), seria recomendável incluir nas análises de rotina, a quantificação de dextranas para estabelecer um melhor controle de qualidade da cana na usina, de forma a não introduzir no processo elementos perturbadores e, dessa forma, estabelecer um pagamento justo pela matéria-prima a processar.

A determinação do teor de sólidos (graus Brix) dissolvidos em uma solução é de suma importância não apenas para o cálculo da pureza da matéria-prima e demais produtos da fabricação, mas também pelo seu uso nos balanços de massa e divisão de cana para produção de açúcar e álcool (CALDAS, 2005). Com esta medida do teor de sólidos solúveis totais, tem-se o percentual, em peso, dos sólidos totais (açúcares, polissacarídeos, proteínas, minerais) dissolvidos no caldo (HAMERSKI, 2009).

A medida do Brix refratométrico não é exata devido às diferentes substâncias presentes no caldo que determinam diferentes variações no índice de refração da solução (FILHO, 2005), ou seja, a porcentagem de impurezas dissolvidas difere da porcentagem de sacarose (CALDAS, 2005). Porém essa determinação é bastante próxima do percentual real, pois os açúcares do caldo são os sólidos solúveis mais abundantes (FILHO, 2005).

Normalmente ocorre um aumento nas leituras de Brix, visto serem as massas específicas das impurezas maiores do que as massas específicas dos açúcares presentes nos materiais analisados (CALDAS, 2005). Segundo Hamerski (2009) o caldo de cana de boa qualidade possui alto teor de sólidos solúveis ($^\circ\text{Brix}$), sendo que a maior proporção é de sacarose.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento foi desenvolvido nos Laboratórios de Produtos Amiláceos e de Açúcar e Álcool, do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP), em Piracicaba - SP.

3.1 Material

O caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) utilizado neste ensaio foi extraído de plantas inteiras, colmo e ponteiro, da variedade RB86-7515. A cana-de-açúcar foi adquirida em propriedade agrícola no município de Iracemápolis/SP.

Os padrões de dextrana foram adquiridos da American Polymer Standards (Mentor, Ohio, EUA) (M_w 5.348.000 Da) e da Sigma-Aldrich (M_r 40.000 Da).

Para o pré-teste de determinação da pureza do amido isolado de cana, foi utilizado amido de batata padrão da Sigma-Aldrich (S 2630).

A enzima para a avaliação da suscetibilidade à ação enzimática do amido foi a alfa amilase pancreática de suínos, tipo VI-B (A 3176), da SIGMA.

Na determinação do teor de amilose foi utilizado o Kit amilose/amilopectina (K-AMYL), da Megazyme International Ireland.

Para os ensaios de adição em soluções padrão foi utilizada sacarose P.A.-A.C.S. da Synth.

3.2 Métodos

3.2.1 Extração do caldo de cana-de-açúcar

Foram realizadas três coletas de cana-de-açúcar da variedade RB86-7515, no período compreendido entre julho e agosto de 2011. As plantas foram coletadas inteiras (colmo e ponteiro) e a palha foi descartada.

As plantas foram encaminhadas para a extração do caldo no mesmo dia da coleta, sendo os colmos previamente lavados em água corrente visando remover as impurezas aderidas, facilitando posteriormente a extração do amido.

O caldo foi extraído conforme o método da prensa hidráulica (TANIMOTO, 1964), empregando-se colmos previamente desintegrados e homogeneizados, utilizando-se um conjunto desintegrador-homogeneizador. O resíduo fibroso

resultante da prensagem (PBU) foi quantificado para o cálculo do teor de fibra, segundo a CONSECANA (2004).

Imediatamente após a extração do caldo, o mesmo foi filtrado e avaliado quanto aos parâmetros de Brix % caldo, Pol % caldo, pH e acidez titulável. Uma segunda parte do caldo de cana era destinada à extração do amido e uma terceira parte foi filtrada, homogeneizada e armazenada em recipientes plásticos (capacidade de 1000 mL) em freezer à -10°C para determinações analíticas posteriores quanto aos teores de amido, dextrana e açúcares e ainda para os ensaios de avaliação do efeito da adição de amido e dextrana sobre as determinações de refratometria e polarimetria.

No momento dos ensaios de adição foram tomadas porções iguais do caldo de cada coleta efetuada. Após o degelo em refrigerador a 4 °C os caldos foram misturados, homogeneizados e avaliados.

3.2.2 Avaliação dos parâmetros tecnológicos do caldo e da cana-de-açúcar

As características tecnológicas do caldo e da cana-de-açúcar foram avaliadas em triplicata, conforme o que se segue:

- a) Fibra % Cana: segundo norma N-085 da CONSECANA (2004).
- b) Brix (porcentagem em massa de sólidos solúveis): conforme metodologia descrita por Caldas (1998), através de refratômetro (Auto Abbe, mod. 10500/10501) com correção automática de temperatura a 20°C.
- c) Pol (porcentagem em massa de sacarose aparente): realizada em sacarímetro digital (Bellingham+Stanley Ltd., modelo ADS 420) conforme proposto por Consecana (2006), usando-se como clarificante uma mistura à base de alumínio, sendo a leitura sacarimétrica transformada para leitura equivalente em subacetato de chumbo (Equação 1):

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

Onde:

LPb – leitura sacarimétrica à base de subacetato de chumbo.

LAI – leitura sacarimétrica obtida com a mistura clarificante à base de alumínio.

A Pol foi calculada através da Equação 2:

$$\text{Pol do caldo extraído (\%)} = \text{LPb} (0,2605 - 0,0009882 \times \text{Brix}) \quad (2)$$

d) Pureza: calculada de acordo com o estabelecido por CONSECANA (2006) $(= (\text{Pol} / \text{Brix}) \times 100)$;

e) pH: a medida do pH foi realizada utilizando-se potenciômetro (marca Tecnopon, mod. MPA-210).

f) Acidez total: de acordo com COPERSUCAR (2001), através da titulação do caldo com NaOH padrão 0,1N. O resultado foi expresso em acidez acética (mg de ácido acético /100 mL caldo).

g) Teor de amido: determinado de acordo com o método adotado oficialmente na indústria açucareira da Austrália e usado pelo Centro de Tecnologia Canavieira da Copersucar. Uma amostra de caldo foi filtrada e a solução digerida com ácido acético/cloreto de cálcio aquecido para solubilizar qualquer amido presente. Uma solução de iodeto/iodato foi adicionada para formar um complexo azul de amido-iodo. A absorbância deste complexo foi lida em espectrofotômetro (marca Femto, mod. 600S) a 700 nm (COPERSUCAR, 2001).

h) Dextrana: determinada de acordo com o descrito por Roberts Copper (ROBERTS, 1983), metodologia adotada pela Association of Official Analytical Chemists – AOAC. Após a precipitação do polissacarídeo da solução de açúcar com etanol, este foi quantificado colorimetricamente usando fenol-H₂SO₄ e, em seguida feita uma segunda precipitação com reagente copper alcalino.

i) Açúcares: foram determinados de acordo com metodologia descrita por Agblevor et al. (2007), com modificações. Foi utilizado cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de espalhamento de luz evaporativo (HPLC/ELSD-LT), utilizando-se coluna apHera NH2 (15 cm × 4.6 mm ID, 5 µm), com as condições de trabalho em fluxo de 1,0 mL/min, temperatura do detector igual a 45°C, pressão de 250 kPa e ar como gás de nebulização. Como fase móvel foi utilizada uma solução mista de acetronitrila/água (80/20) previamente filtrada em membranas Millipore de 0,45 µm, bem como as amostras. Soluções padrão para os diferentes açúcares (sacarose, glicose e frutose) foram preparadas para a elaboração das respectivas curvas de

calibração. Os açúcares foram determinados qualitativamente e quantitativamente nas amostras.

3.2.3 Extração do amido de cana-de-açúcar

O amido de cana-de-açúcar foi extraído de acordo com a metodologia descrita por Park, Martens e Sato (1985), com modificações. Para a separação dos compostos coloridos foi utilizado o método descrito por Stevenson e Whayman (1976). Um fluxograma completo de todo o processo de extração é apresentado na Figura 4.

Uma amostra de 1 L de caldo de cana-de-açúcar foi passada por peneira de 325 *mesh* (45 μ m), visando remover algumas partículas em suspensão. Em seguida, o filtrado foi transferido para quatro frascos de 250 mL e centrifugados a 9.000 *g* por 15 minutos a temperatura de 5 °C em centrífuga refrigerada Hettich Rotina 420/420R. O amido precipitado foi suspenso novamente em água destilada e passado por peneira de 325 *mesh*. O material retido na peneira foi lavado diversas vezes com água destilada para retirar todo o amido. O amido em suspensão foi centrifugado por 5 vezes consecutivas até que o sobrenadante estivesse límpido (Figura 5).

Após a 6ª centrifugação, o amido precipitado foi suspenso em água destilada e transferido para funil de separação, sendo tratado diversas vezes com volume igual de clorofórmio, como proposto por Stevenson e Whayman (1976). No funil de separação ocorreu a formação de fases da mistura, até que fosse possível a completa remoção dos compostos coloridos. A solução de amido foi centrifugada com etanol absoluto e posteriormente com água destilada (Figura 6). O precipitado foi coletado e desidratado em estufa de circulação de ar, marca Marconi, modelo MA 035 a 30 °C por 12 horas. O amido seco foi moído com pistilo em almofariz e passado por peneira de 60 *mesh*.

Foram utilizados 120 L de caldo de cana para extração do amido.

Figura 6 - Fluxograma de extração de amido de cana-de-açúcar

Figura 7 - Centrifugações sucessivas (1 a 6) na extração do amido de cana-de-açúcar, ordenadas da esquerda para a direita. A) Frascos com amido em suspensão antes da centrifugação e B) Frascos com amido precipitado após a centrifugação

Figura 8 - Imagens das sucessivas etapas de remoção dos compostos coloridos do amido em funil de separação. A) Formações de fases da suspensão de amido tratada com clorofórmio; B) Suspensão de amido separada e pronta para ser retirada do funil e C) Amido precipitado

3.2.4 Interferência do amido e da dextrana nas análises tecnológicas de Pol (% sacarose aparente) e Brix (% de sólidos solúveis totais)

3.2.4.1 Efeito da adição do amido em solução padrão de sacarose e em caldo

A quantidade de sacarose pura (19% m/m) utilizada para compor a solução padrão foi baseada nos valores médios da leitura polarimétrica (80 °S) e Brix (20,0) do caldo da variedade de cana utilizada no presente ensaio. Essa quantidade foi obtida ao se multiplicar a leitura polarimétrica pelo fator de polarização, correspondente ao °Brix, segundo a tabela de Schmitz (COPERSUCAR, 2001). Estas soluções padrões foram preparadas com água destilada e filtradas em papel de filtro qualitativo (Frama - 80 g, 150 mm).

O efeito das adições crescentes de amido extraído de cana à solução padrão de sacarose sobre a polarização e a refratometria foi avaliada baseada no método proposto por Bradbury *et al.* (1986), em ensaios com adições de dextrana.

As concentrações de amido estabelecidas para as adições no presente ensaio foram de 100, 500, 1.000, 5.000 e 10.000 ppm. Estes valores foram baseados naqueles encontrados na literatura para os teores presentes nas variedades de cana-de-açúcar (FIGUEIRA; CARVALHO; SATO, 2011; ZOSSI *et al.* 2010; GODSHALL *et al.*, 1996). A última dose de adição foi extrapolada, visando os altos teores futuros que poderiam entrar nas usinas, quer pelo novo tipo de colheita da cana, quer pelo uso de outras matérias-primas ricas em amido, como o sorgo sacarino.

As suspensões amido/solução padrão de sacarose foram homogeneizadas (homogeneizador Superohm) por 1 min e a seguir foram realizadas as análises de Pol e Brix de acordo com as metodologias descritas no item 3.2.2.

O mesmo procedimento descrito para a adição de amido em solução padrão de sacarose foi seguido para as adições de amido realizadas em caldo de cana.

3.2.4.2 Efeito da adição de dextrana em solução padrão de sacarose e em caldo

A interferência da adição de dextrana em solução padrão de sacarose (19 % m/m) sobre a polarização e a refratometria foi avaliada mediante adições crescentes de dextranas padrões de alta pureza, adquiridas no comércio. Foram escolhidas dextranas de pesos moleculares 5.348.000 Da e 40.000 Da, com base no estudo de

Aquino e Franco (2008). A escolha das doses baseou-se no estudo de Bradbury et al. (1986), levando em consideração que a dextrana pode atingir níveis no caldo superiores a 10.000 ppm (1%), em muitos casos extremos (CUDDIHY; PORRO; RAUH, 1998).

As suspensões dextranas/solução padrão de sacarose foram homogeneizadas em homogeneizador Superohm por 1 min e a seguir, realizadas as análises de Pol e Brix de acordo com as metodologias descritas no item 3.2.2.

O mesmo procedimento descrito para a adição de dextranas em solução de padrão de sacarose foi seguido para as adições de dextranas realizadas em caldo de cana.

3.2.5 Rendimento do processo de extração de amido

O rendimento do processo de extração do amido de cana-de-açúcar foi calculado em relação ao total de caldo extraído (Equação 3) e em relação ao teor total de amido presente na matéria-prima (Equação 4).

$$R_1 (\%) = \frac{A}{M} \times 100 \quad (3)$$

Onde:

R_1 – rendimento da extração (%);

A – peso do amido (bs) (g);

M – peso da matéria-prima (g).

$$R_2 (\%) = \frac{AE}{AC} \times 100 \quad (4)$$

Onde:

R_2 – rendimento da extração (%);

AE – amido extraído (mg/L) (bs);

AC – total de amido presente no caldo de cana (mg/L).

3.2.6 Composição do amido

Quanto à composição, o amido de cana-de-açúcar foi avaliado, em triplicata, quanto ao teor de umidade e pureza.

O teor de umidade foi determinado por gravimetria, com secagem em estufa com circulação forçada de ar, marca Marconi, modelo MA 035 a 105°C até peso constante (AOAC, 2010).

A baixa quantidade de amido no caldo de cana, bem como seu baixo rendimento de extração, impossibilitou a obtenção de quantidade de amostra suficiente para dosar as possíveis substâncias acompanhantes ou impurezas do amido isolado, ou seja, lipídeos, fibras, proteínas e cinzas. Dessa forma, foi empregado o método enzimático de Rickard e Behn (1987) para dosagem do teor total do amido no material isolado. Este método de verificação da pureza do amido extraído foi testado previamente em um amido de batata de pureza conhecida (Sigma-Aldrich - S4251) e também em amido de banana de pureza conhecida, com todas as avaliações de teores executadas analiticamente. Os testes resultaram na validação desta forma de avaliação da pureza do amido de cana.

A porcentagem de pureza foi dada pela relação entre o teor de amido dosado pelo método de Rickard e Behn e a quantidade de amostra total.

3.2.7 Caracterização do amido de cana-de-açúcar

O amido de cana-de-açúcar foi caracterizado quanto ao aspecto geral em microscópio eletrônico de varredura, tamanho dos grânulos, cor, teor de amilose, difratometria de raios X e cristalinidade relativa, propriedades térmicas, fator de expansão dos grânulos, suscetibilidade a ação enzimática e distribuição de tamanho das macromoléculas.

3.2.7.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para observar o aspecto geral dos grânulos do amido de cana. O microscópio eletrônico de varredura (marca ZEISS, DSM 940 A), foi utilizado sob amperagem de 80 mA e voltagem de 5Kv. A montagem das amostras foi feita em suportes (*stubs*) com fita adesiva dupla face,

onde os amidos foram fixados e cobertos com uma fina camada de ouro em metalizador Balzers (Med 010) por 3 minutos.

3.2.7.2 Tamanho dos grânulos

As amostras de amido foram coletadas com fio de platina e misturadas sobre lâminas de vidro, com uma gota de água destilada e de solução de glicerina (50%), sendo cobertas por lamínula.

As lâminas foram observadas em microscópio Nikon E200 acoplado a uma câmera digital Sony DSC-40, e as imagens selecionadas foram analisadas pelo sistema posteriormente. Essa determinação foi realizada em triplicata.

Para a determinação do tamanho dos grânulos de amido foi utilizado o software Image Tool© (WILCOX et al., 2002) e para a interpretação dos dados foi feita uma análise estatística usando o Minitab versão 16.0 (Minitab Inc., USA). Foram feitas cinco lâminas e 100 medidas de tamanho de grânulos de amido por lâmina, totalizando 500 medidas, conforme recomendado por VIGNEAU et al. (2000). Em função da irregularidade nos formatos dos grânulos, foram tomadas medidas quanto ao diâmetro maior, diâmetro menor e área superficial aparente, Os resultados foram reportados em histogramas como distribuição de frequência para o conjunto de dados quantitativos.

3.2.7.3 Cor do amido

A coloração do amido isolado foi avaliada em colorímetro Minolta Croma Meter CR-200b previamente calibrado em superfície de porcelana branca, quanto aos parâmetros L (luminosidade), a^* e b^* . A partir destes foram calculados o croma (C^*) (saturação) e a talidade ($^{\circ}H$). Para a realização das leituras, as amostras foram acondicionadas e niveladas em placas de Petri. A análise foi realizada em triplicata.

3.2.7.4 Teor de amilose

O teor de amilose foi determinado de acordo com a metodologia proposta pela Megazyme (MEGAZYME INTERNATIONAL IRELAND LIMITED, 2006)

utilizando-se o kit amilose/amilopectina.

Amostras de amido foram completamente dispersas por aquecimento em dimetilsulfóxido (DMSO). Os lipídeos foram removidos por precipitação do amido em etanol e o amido precipitado foi recuperado. Após a adição da amostra precipitada em uma solução de acetato/sal, somente a amilopectina foi precipitada pela adição do solvente Con A e posteriormente removida por centrifugação utilizando centrífuga Eppendorf. Uma alíquota do sobrenadante, o qual continha amilose, foi retirada e hidrolisada enzimaticamente a D-glicose e analisada utilizando o reagente glicose oxidase/peroxidase (GOPOD). O amido total, em uma alíquota separada de solução de acetato/sal, foi igualmente hidrolisado a D-glicose e medido colorimetricamente pelo reagente GOPOD. A concentração de amilose na amostra de amido foi estimada pela relação entre a absorbância a 510 nm do sobrenadante da amostra precipitada pelo reagente Con A e a absorbância a 510 nm da amostra total de amido, lidas em espectrofotômetro da marca Fento, modelo 600S (AMYLOSE/AMYLOPECTIN, 2006).

3.2.7.5 Difratometria de raios-x e cristalinidade relativa

A umidade do amido foi equilibrada em dessecador contendo solução de BaCl₂ saturada (25 °C, aw = 0,9) durante 10 dias. Os padrões de difração de raios-X, foram determinados com radiação de Cu em difrator de raios-x (Shimadzu - XRD 7000). A velocidade de varredura foi de 2° por minuto, sob ângulo 2 θ variando de 3 a 50° e as condições de uso foram 40 kV e 40 mA. Os perfis de difração dos raios-x foram classificados de acordo com os padrões de Zobel (1964).

A cristalinidade relativa dos amidos foi determinada quantitativamente segundo metodologia descrita por Nara e Komiya (1983) com a utilização do *software* Origin 7.5 (Origin – version 7.5, Microcal Inc., Northampt, MA, USA). Os gráficos foram plotados entre os ângulos 2 θ de 3 e 30° e suavizados com a ferramenta '*Adjacent Averaging*'. Foi plotada nos difratogramas uma curva conectando as bases dos picos e uma base linear (Figura 9). A área entre a curva e o difratograma corresponde à área cristalina, e a área entre a curva e a base linear corresponde à área amorfa. A razão entre a área cristalina e a área total, multiplicado por 100, corresponde à porcentagem de cristalinidade relativa.

Figura 9 - Difratograma de raios-X, onde a seção hachurada corresponde à área amorfa e a seção entre a área hachurada e o gráfico corresponde à área cristalina

Fonte: Cheetham e Tao (1997).

3.2.7.6 Propriedades térmicas

As propriedades térmicas do amido foram avaliadas em calorímetro diferencial de varredura (DSC-Pyris 1, Perkin Elmer, EUA), de acordo com a metodologia descrita por Liu et al. (2005), com modificações. Uma amostra de amido (2 mg) foi pesada em pequenos recipientes de aço inoxidável PE 0219-0062 e adicionado água deionizada através de uma microseringa na proporção 1:3 (amido:água).

Os recipientes foram selados em prensa universal (PE B013-9005) e mantidos em repouso por um período de 2 h em temperatura ambiente visando o equilíbrio entre o amido e a água. O equipamento foi calibrado com índio. As análises foram realizadas a uma taxa de 5 °C.min⁻¹ entre 30 e 130 °C. Um recipiente vazio foi utilizado como referência. Com base no termograma, foram obtidos os seguintes valores de gelatinização: temperatura de início (T_o), temperatura de pico (T_p), temperatura final (T_f), faixa de temperatura ($\Delta T = T_f - T_o$) e variação de entalpia (ΔH). Esta análise foi realizada em duplicata.

As propriedades térmicas do amido foram avaliadas em calorímetro diferencial de varredura (DSC-Pyris 1, Perkin Elmer, EUA). Uma amostra de amido (2 mg) foi pesada em recipientes de aço inoxidável PE 0219-0062 e adicionada água

deionizada por meio de uma microseringa, na proporção 1:3 (amido:água). Os recipientes foram selados em prensa universal (PE B013-9005) e mantidos em repouso por um período de 2 h em temperatura ambiente visando o equilíbrio entre o amido e a água. O equipamento foi calibrado com índio. As análises foram realizadas a uma taxa de $5\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ entre 30 e $130\text{ }^{\circ}\text{C}$. Um recipiente vazio foi utilizado como referência. Com base no termograma, foram obtidos os seguintes valores de gelatinização: temperatura de início (T_o), temperatura de pico (T_p), temperatura final (T_f), faixa de temperatura ($\Delta T = T_f - T_o$) e variação de entalpia (ΔH). Esta análise foi realizada em duplicata.

3.2.7.7 Fator de expansão dos grânulos

O fator de expansão dos grânulos de amido de cana-de-açúcar foi avaliado de acordo com o método direto proposto por Tester e Morrison (1990). A expansão dos grânulos foi avaliada nas temperaturas de 50, 70 e $90\text{ }^{\circ}\text{C}$, em triplicata. Amostras de amido foram pesadas ($50\text{ mg} \pm 0,1\text{ mg}$) em tubos de centrífuga (15 mL) e 5 mL de água destilada foram adicionados. Os tubos foram tampados e colocados em banho de Dubnoff nas diferentes temperaturas, sob agitação constante, por 30 minutos. A seguir, os tubos foram resfriados a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $0,5\text{ mL}$ de dextrana azul ($5\text{ mg}.\text{mL}^{-1}$) foi adicionado. Os tubos foram agitados delicadamente e invertido várias vezes, sendo então centrifugados a 1500 g por 5 minutos. A absorbância do sobrenadante (A_s) foi medida em espectrofotômetro (marca Femto, mod. 600S) a 620 nm . A absorbância do tubo de referência (A_r), no qual não havia amido, também foi medida.

O cálculo do fator de expansão (FE) foi realizado baseado no peso do amido corrigido para base seca, assumindo a densidade do amido em $1,4\text{ g}.\text{mL}^{-1}$. A água livre ou sobrenadante intersticial (AL) é dada pela Equação 5:

$$AL(mL) = 5,5 \times (A_r / A_s) - 0,5 \quad (5)$$

O volume inicial do amido (V_0) em função do peso P (em miligramas) (Equação 6):

$$V_0 (mL) = P / 1400 \quad (6)$$

O volume da água intragranular absorvida (V_1) é dado pela Equação 7:

$$V_1 (mL) = 5,0 - AL \quad (7)$$

Desta forma, o volume de inchamento dos grânulos de amido (V_2) é dado pela Equação 8:

$$V_2 (mL) = V_0 + V_1 \text{ e } FE = V_2 / V_0 \quad (8)$$

A equação final (Equação 9) que resume todas as equações expressas acima é dada por:

$$FE = 1 + \frac{7700}{P} \times \frac{A_s - A_r}{A_s} \quad (9)$$

Onde:

P - peso da amostra

A_s - absorbância do sobrenadante

A_r - absorbância do tubo de referência

3.2.7.8 Susceptibilidade a ação enzimática

A atividade da enzima-amilase pancreática de suínos (EC 3.2.1.1) foi determinada de acordo com a metodologia proposta pela Sigma (2007).

A digestibilidade enzimática do amido foi avaliada pelos métodos descritos por Zhang e Hamaker (1998) e Benmoussa et al. (2006), com algumas modificações.

Foram adicionados 5 mL de água destilada uma amostra de amido (200mg). Após 20 minutos em banho de água fervente o material foi resfriado a 40°C. Uma solução (25 mL) da enzima-amilase pancreática de suíno foi diluída em tampão tris-maleato pH 6,9 na proporção 5 unidades/mL e adicionada ao amido gelatinizado. A suspensão foi incubada a 37°C e a cada intervalo de tempo (10, 20, 40, 60, 90 e 120

minutos) foi retirada uma alíquota de 1 mL. A reação foi paralisada mediante aquecimento a 98°C por 10 minutos e a concentração de açúcar redutor foi determinada utilizando-se o método Somogy (1945).

3.2.7.9 Cromatografia de permeação em gel

O perfil de distribuição do peso molecular do amido de cana foi determinado por cromatografia de permeação em gel, utilizando-se coluna GE XK 26/70 (2,6 cm de diâmetro e 70 cm de altura), empacotada com gel Sepharose CL-2B. A amostra foi preparada segundo a metodologia proposta por Song e Jane (2000), que consta da adição de 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) 90% a 0,1 g de amido. A mistura foi aquecida em banho de água fervente por 1 hora e, a seguir, permaneceu por 24 h a 25°C sob agitação constante. Uma alíquota de 3 mL foi misturada com 10 mL etanol absoluto para precipitar o amido, com posterior centrifugação (30 min. a 3000 g). O amido precipitado foi re-dissolvido em 10 mL de água destilada quente e a mistura foi levada para banho fervente por 30 min. Uma alíquota foi aplicada durante 4 minutos na base da coluna e eluída de forma ascendente. Uma solução contendo 25 mM de NaCl e 1 mM de NaOH foi usada como eluente numa taxa de 60 min.h⁻¹. Frações de 125 gotas foram coletadas em coletora de frações Gilson FC 203B e analisadas quanto ao teor de açúcares totais (CHO) a 490 nm, pela metodologia de fenol sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) modificada para uso em microleitora de absorbância Asys Expert Plus, e reações de coloração com iodo através do método blue value (BV) a 630 nm (JULIANO, 1971).

3.2.8 Análise estatística

O delineamento estatístico para as análises de adições de amido foi inteiramente casualizado (6 tratamentos e 3 repetições), enquanto que para as análises de adições de dextrana o delineamento constou de 2 blocos, com 6 tratamentos de doses e 3 repetições. Todos os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F, e suas médias comparadas pelo Teste de Tukey ($p < 0,01$ ou $p < 0,05$). O pacote estatístico utilizado foi o SAS versão 9.2

(SAS INSTITUTE INC., 2009). As médias dos valores e os desvios padrões foram reportados.

Para avaliar o grau de associação entre as variáveis estudadas foi determinado o coeficiente de correlação de Pearson (r), o qual foi calculado por meio do programa Microsoft Office Excel 2007®.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos parâmetros tecnológicos do caldo e da cana-de-açúcar

A variedade de cana-de-açúcar RB 86-7515 foi caracterizada quanto às análises tecnológicas da cana e do caldo no momento da extração. Os resultados, médias de triplicatas, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Avaliações tecnológicas da cana-de-açúcar e do caldo no momento das diferentes extrações

Parâmetros	1ª extração	2ª extração	3ª extração	Média e DP
Fibra da cana (%)	12,2	10,8	11,5	11,5 ± 0,7
Brix caldo (%)	20,4	20,9	21,2	20,8 ± 0,4
Pol caldo (%)	18,2	19,2	19,8	19,1 ± 0,8
Pureza (%)	89,4	92,1	93,0	91,5 ± 1,9
pH	5,5	5,2	5,2	5,3 ± 0,2
Acidez total	106,3	146,4	145,4	132,7 ± 22,9

As características tecnológicas do caldo e da cana de modo geral, apresentaram pequenas variações nas três diferentes épocas de coleta. Esta variação era esperada uma vez que estes parâmetros são influenciados por fatores tais como clima, solo, idade fisiológica, adubação, período da safra, tipo de colheita e forma de extração, entre outros (PARANHOS, 1987; SOUZA, 1988; HAMERSKI, 2009).

Observou-se tendência de aumento dos valores de Brix e da Pol do caldo com o tempo das extrações, embora o período entre as colheitas não tenha sido tão espaçado. Durante o processo de maturação, há redução da intensidade de crescimento responsável pela demanda de glicose e frutose, e consequente acúmulo de sacarose na planta (RAVANELI; MUTT; MUTT, 2004).

Os valores de pH e acidez são indicadores das condições de sanidade do caldo de cana, sendo que, valores de pH inferiores a 4,2 e valores elevados de acidez são indícios de deterioração da cana-de-açúcar, o que dificulta e até inviabiliza o seu processamento (HAMERSKI, 2009). Chaves e Póvoa (1992) relatam que o pH natural do caldo de cana é da ordem de 5,5. Desta forma, os valores de acidez e pH (Tabela

1) demonstram que a matéria-prima utilizada no experimento estava em condições apropriadas para a realização do ensaio, sem apresentar indícios de deterioração.

A identificação qualitativa e quantitativa dos açúcares presentes no caldo de cana utilizado nos ensaios das adições é apresentada pelo perfil cromatográfico da Figura 10.

Figura 10 - Perfil cromatográfico da análise de açúcares por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC/ELSD-LT) para o caldo de cana

Identifica-se a presença dos três principais açúcares do caldo de cana, sendo a concentração de cada açúcar (Tabela 2) determinada por comparação com as áreas dos açúcares-padrões correspondentes à frutose, glicose e sacarose.

Tabela 2 – Teores de açúcares no caldo de cana utilizado para a avaliação da interferência dos polissacarídeos

Açúcares	Teores (mg/mL)
Sacarose	204,4
Glicose	2,7
Frutose	3,1

O caldo utilizado para avaliar a interferência da adição de amido e da dextrana sobre a refratometria e polarimetria foi avaliado quanto à composição em amido e dextrana e também quanto ao pH, sendo os resultados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados médios das análises de pH, teor de amido e de dextrana presentes no caldo de cana utilizado nos ensaios de interferência dos polissacarídeos nas análises tecnológicas

Parâmetros	Médias $\pm$ DP
pH	5,4 $\pm$ 0,2
Amido (mg/kg.%Brix)	1802,3 $\pm$ 19,2
Amido (ppm)	355,9 $\pm$ 8,3
Dextrana (mg/kg.%Brix)	2106,1 $\pm$ 28,4
Dextrana (ppm)	438,4 $\pm$ 9,1

Com relação ao teor de amido, os fatores mais importantes que condicionam seu conteúdo na cana-de-açúcar estão atrelados às diferenças varietais, ao período de safra (WOOD, 1962; GODSHALL et al., 1996), aos fatores ambientais e a maturidade do tecido das plantas (WOOD, 1962).

Na literatura são encontradas concentrações médias de amido que variam entre diferentes variedades de cana-de-açúcar: 2581 mg/kg.% °Brix a 1658 mg/kg.% °Brix (FIGUEIRA; CARVALHO; SATO, 2011), 2000 a 2300 mg/kg °Brix (ZOSSI et al., 2010), e 275 a 1867 mg/kg.% °Brix (GODSHALL et al., 1996). No estudo de Figueira, Carvalho e Sato (2011), a variedade RB86-7515 apresentou valores de 1678 a 3791 mg/kg.% °Brix. Desta forma, os teores de amido encontrados na variedade de cana-de-açúcar estudada (Tabela 3) estão de acordo àqueles reportados na literatura.

O teor de dextrana no caldo da variedade de cana-de-açúcar do presente experimento foi de 2106,1 mg/kg.%Brix ou 355,9 ppm. Este teor está acima do limite citado por Lopes (1993) para teor de dextrana em um caldo, que é de 250 ppm.

Considerando que as dextranas são originadas da contaminação bacteriana da cana, suas concentrações no açúcar estão invariavelmente relacionadas a fatores ambientais e/ou falhas operacionais no manejo da cana ainda no campo ou durante o seu processamento nas usinas (JIMÉNEZ, 2005; RAVNO; PURCHASE, 2005).

4.2 Interferência do amido nas análises tecnológicas de Pol e Brix

4.2.1 Efeito da adição do amido sobre a Pol em solução padrão de sacarose e caldo de cana

Os valores do teste F e da significância do efeito de adições crescentes (doses de 0, 100, 500, 1.000, 5.000 e 10.000 ppm) de amido isolado da cana em solução padrão de sacarose (19% m/m) e em caldo de cana sobre a Pol resultante, são apresentados na Tabela 4. A análise de variância apresentou valores de F significativos para as adições de amido, tanto em solução de sacarose como em caldo de cana.

Tabela 4 – Valores de F e significância do efeito das adições de amido (doses) sobre a Pol da solução padrão de sacarose e do caldo

	Pol da solução de sacarose x doses	Pol do caldo X doses
Valor de F	605,3018 **	384,1447 **

** significativo em nível de 1%

Os valores de Pol da solução padrão de sacarose (sistema modelo) que recebeu adições de amido estão apresentados na Tabela 5. Visando quantificar o incremento das amostras em relação ao tratamento controle também foi calculada a variação dos graus sacarimétricos a cada nova adição de amido.

Tabela 5 – Efeito das adições de amido sobre a leitura sacarimétrica da Pol de solução padrão de sacarose (19 % m/m)

Adições de amido (ppm)	Variação °S ¹	POL % da solução ± DP	Variação da Pol
0	0,00	18,66 ± 0,04 ^d	0,00
100	0,15	18,70 ± 0,01 ^{cd}	0,04
500	0,26	18,73 ± 0,01 ^{cd}	0,06
1.000	0,42	18,76 ± 0,02 ^c	0,10
5.000	1,88	19,11 ± 0,03 ^b	0,45
10.000	3,80	19,58 ± 0,01 ^a	0,91
CV = 0,13%			

Nota:¹ Variação média dos graus sacarimétricos obtida diretamente no sacarímetro digital.

Média de triplicata ± desvio padrão.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre pelo Teste de Tukey em nível de 1 %.
CV = coeficiente de variação.

As adições de amido resultaram em incrementos crescentes das leituras no polarímetro, sendo observado aumento de até 3,80 °S em relação ao tratamento testemunha na maior dose adicionada.

Embora os valores tenham se apresentado crescentes com as adições, se tornaram significativamente diferentes somente a partir da adição de 1.000 ppm de amido. Daí para frente, as demais adições também foram significativas em alterar a leitura no polarímetro. A variação total foi de 0,91.

Para elucidar o grau de associação estatística das variáveis dependentes, foi determinado o coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as variáveis (Pol % solução padrão de sacarose e doses de amido). De acordo com Barros Neto, Scarminio e Bruns (2007), as correlações estatísticas são medidas em escala dimensional, e ficam restritas ao intervalo de [-1, +1]. Variáveis que são associadas por uma relação linear perfeita têm coeficiente de correlação igual a +1, (ambas aumentam) ou igual a -1 (uma cresce e a outra diminui). Deste modo, para o ensaio em questão, foi observada uma correlação positiva (r= 0,9993) e forte entre as doses de amido adicionadas e o teor de Pol no caldo.

Muitas substâncias, incluindo soluções de sacarose e outros carboidratos, tem o poder de desviar o plano da luz polarizada (MEADE; CHEN, 1977), que vibra em uma única direção. O poder de rotacionar o plano da luz polarizada difere para os diversos tipos de açúcares (MEADE; CHEN, 1977). A sacarose, principal açúcar no caldo, é dextrógira, isto é, desvia o plano da luz polarizada para a direita, tendo poder de rotação de $(\alpha)_+ = 66,5^\circ$ (BARBOSA, 2004).

O amido é também opticamente ativo e dextrógiro ($(\alpha)_+ = 205$) (RAPHAEL, 2006) e, portanto, pode-se inferir que o mesmo pode desviar o plano da luz polarizada, intensificando esse desvio para a direita, ou seja, gerando erros de leitura.

Os valores de Pol do caldo de cana que recebeu adições crescentes de amido estão apresentados na Tabela 6. Cabe lembrar que neste estudo de adições de amido ao caldo, o caldo adicionado de zero de amido já contava com 356 ppm de amido naturalmente presente no mesmo.

Tabela 6 – Efeito da adição crescente de amido sobre a leitura sacarimétrica da Pol do caldo de cana

Adições de amido (ppm)	Teor total de amido no caldo (ppm) ¹	Variação °S ²	POL % caldo ± DP	Variação da Pol
0	356	0,00	19,88 ± 0,01 ^d	0,00
100	456	0,06	19,89 ± 0,04 ^d	0,01
500	856	0,30	19,95 ± 0,01 ^c	0,07
1.000	1356	0,38	19,98 ± 0,02 ^c	0,09
5.000	5356	0,99	20,12 ± 0,02 ^b	0,24
10.000	10356	2,80	20,55 ± 0,03 ^a	0,67
CV = 0,11%				

Nota: ¹ Valor correspondente ao teor inicial de amido no caldo somado as doses adicionadas.

² Variação média dos graus sacarimétricos obtida diretamente no sacarímetro digital.

Média de triplicata ± desvio padrão.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre pelo Teste de Tukey ao nível de 1 % de probabilidade.

CV = coeficiente de variação.

As adições de amido resultaram em incrementos crescentes dos valores lidos no polarímetro, sendo observado aumento de até 2,80 °S em relação ao tratamento testemunha na maior dose adicionada. Consequentemente, houve também aumento dos valores de Pol % caldo com as adições sequenciais de amido. A partir da dose de 500 ppm (total de 856 ppm) de amido a Pol % caldo tornou-se significativamente maior que a do tratamento testemunha.

Para a solução de sacarose, as adições de amido isoladamente começaram a causar variação significativa da Pol % com relação ao sem adição (controle) nas doses compreendidas entre 500 e 1000 ppm. Já para o caldo, os acréscimos se tornaram significativos em relação ao zero de adição (356 ppm de amido no caldo) entre 100 e 500 ppm de amido ou seja, quando contavam com 456 e 856 ppm total de amido no caldo. No caldo existem outros componentes, inclusive a dextrana (Tabela 3), que podem estar interferindo nesta leitura.

A elevação ocorrida pode ser avaliada pelo coeficiente de correlação de Pearson (r), que constatou forte correlação positiva (r= 0,9856) entre as variáveis

(Pol % caldo e doses de amido), como também observado para a solução padrão de sacarose.

Os incrementos totais em graus sacarimétricos e em Pol % com as adições de amido no caldo foram, entretanto, inferiores àqueles obtidos para as adições na solução de sacarose.

Na Figura 11 é apresentado o gráfico um gráfico comparativo da interferência das doses crescentes de amido na solução de sacarose ou no caldo de cana de acordo com relação Pol em uma dose específica / Pol do controle (adição zero).

Figura 11: Comparativo da interferência de doses crescentes de amido sobre a relação Pol em uma dose específica / Pol do controle (adição zero) da solução padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo de cana

A reta referente à solução de sacarose apresentou-se mais inclinada que aquela do caldo de cana. Ambas as equações mostraram alto índice de correlação (R^2). O fato dos maiores incrementos de Pol ocorrerem no ensaio com solução padrão de sacarose (sistema modelo) que para o caldo decorre do fato do caldo original (adição zero) já apresentar polissacarídeos em sua composição, principalmente amido e dextrana. De acordo com Ripoli e Ripoli (2004), outras substâncias com atividades ópticas, como açúcares redutores (glicose e frutose), polissacarídeos e algumas proteínas também podem vir a interferir na Pol, sendo esse nível de interferência muitas vezes desconhecido.

4.2.2 Efeito da adição de dextranas sobre a Pol da solução padrão de sacarose e do caldo de cana

Os valores do teste F e da significância do efeito das adições de doses crescentes (0, 100, 500, 1.000, 5.000 e 10.000 ppm) de dextranas padrões de diferentes massas moleculares (40.000 e 5.348.000 Da) sobre a Pol da solução padrão de sacarose e do caldo de cana são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Valores de F e significância do efeito de adições crescentes (doses) de duas dextranas padrões sobre a Pol de solução padrão de sacarose (19 % m/m) e do caldo de cana

Parâmetro	Causas da variação		
	Blocos (dextranas)	Doses	Blocos x Doses
Pol da solução de sacarose	4,0378 ns	3941,6311 **	0,3471 ns
Pol do caldo	3,4896 ns	793,9992 **	1,6075 ns

Teste F: ** significativo em nível de 1% de probabilidade, ns = não significativo.

Houve diferença significativa apenas dentro das doses de adição. Não houve para tipos de dextranas e nem para interação.

O efeito das adições das dextranas padrões de diferentes massas moleculares sobre a Pol da solução padrão de sacarose (19 % m/m) pode ser visualizado pela Tabela 8. Com a finalidade de determinar o incremento de Pol inicial das amostras também foi calculada a variação em graus sacarimétricos.

Tabela 8 – Efeito da adição de dextranas padrões sobre a leitura sacarimétrica da Pol da solução de sacarose (19 % m/m)

Doses adicionadas (ppm)	Dextrana padrão					
	40.000 Da			5.348.000 Da		
	Variação °S ¹	POL % caldo ± DP	Variação da Pol	Variação °S	POL % caldo ± DP	Variação da Pol
0	0,00	18,84 ± 0,02 ^{eA}	0,00	0,00	18,85 ± 0,01 ^{eA}	0,00
100	0,25	18,85 ± 0,04 ^{eA}	0,01	0,14	18,87 ± 0,01 ^{eA}	0,02
500	0,47	18,95 ± 0,02 ^{dA}	0,11	0,47	18,96 ± 0,04 ^{dA}	0,11
1.000	1,33	19,16 ± 0,01 ^{cA}	0,33	1,42	19,19 ± 0,03 ^{cA}	0,34
5.000	3,48	19,68 ± 0,02 ^{bA}	0,84	4,03	19,71 ± 0,02 ^{bA}	0,86
10.000	6,80	20,52 ± 0,02 ^{aA}	1,68	7,39	20,55 ± 0,03 ^{aA}	1,71
CV = 0,13%						

¹ Valor correspondente ao teor inicial de amido no caldo somado as doses adicionadas

² Variação do grau sacarimétrico obtido diretamente no sacarímetro digital.

Média de triplicata ± desvio padrão.

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5%.

CV = Coeficiente de variação.

Os incrementos totais das leituras dos graus sacarimétricos da solução de sacarose com a adição de dextranas foram de 6,80 °S (menor peso molecular) e de 7,39 °S (maior peso molecular), o que refletiram em variações de Pol de 1,68 e 1,71, respectivamente. Não foi observada proporcionalidade de aumentos com a elevação das doses. Por ex, de 0 para 500 e de 500 para 1000 ppm os aumentos foram diferentes.

Bradbury et al. (1986) avaliaram o incremento de diferentes dextranas padrão (T-40, T-110 e T-2000, ou seja, 4.000 Da, 110.000 Da e 4.000.000 Da, respectivamente) em solução padrão de sacarose (26%) e verificaram que para cada 333 ppm de dextrana adicionada, foi observado incremento de 0,1 °S, independente do peso molecular. Em experimento semelhante, De La Rosa (1998b) avaliou a adição de dextrana de 110.000 Da em solução padrão de sacarose (3,5% m/m) e verificou incrementos médios de 0,05° para cada 180 ppm de dextrana adicionada.

Os valores de Pol % solução de sacarose apresentaram diferenças significativas entre as médias obtidas dentro de cada um dos pesos moleculares. As adições a partir de 500 ppm apresentaram resultados que diferiram do controle (sem dextrana) em ambas os pesos moleculares.

Não houve diferença entre os resultados gerados pelas dextranas de diferentes pesos moleculares dentro de cada dose de adição.

Os coeficientes de Pearson entre o valor de Pol e as doses de dextranas adicionadas à solução padrão apresentaram forte correlação positiva, sendo $r = 0,9964$ e $r = 0,9960$ para as massas molares de 40.000 Da (A) e 5.348.000 Da (B), respectivamente.

A dextrana é altamente dextrorrotatória, com rotação específica em torno de +195° a +200°, se comparada com a da sacarose +66,5 (BRADBURY et al., 1986). Contudo, é semelhante à rotação do amido (+ 205°) (RAPHAEL, 2006). Este fato pode, assim como no caso do amido, justificar a elevação dessas leituras com os incrementos das doses. A intensidade de elevação com as doses de amido e de dextrana, contudo, foi um pouco maior para esta última, embora o poder rotatório de ambos sejam bem próximos.

Os valores de Pol e a variação dos graus sacarimétricos do caldo de cana que recebeu diferentes adições de dextranas são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Efeito da adição de dextranas padrões de diferentes massas moleculares sobre a leitura sacarimétrica da Pol de caldo de cana

Doses adicionadas (ppm)	Teor total de dextrana no caldo (ppm) ¹	Dextrana padrão					
		40.000 Da			5.348.000 Da		
		Variação °S ²	POL % caldo ± DP	Variação da Pol	Variação °S	POL % caldo ± DP	Variação da Pol
0	438	0,00	20,24 ± 0,03 ^{cA}	0,00	0,00	20,24 ± 0,01 ^{dA}	0,00
100	538	0,06	20,26 ± 0,02 ^{cA}	0,02	0,05	20,25 ± 0,02 ^{cdA}	0,01
500	968	0,11	20,28 ± 0,01 ^{cA}	0,04	0,14	20,29 ± 0,04 ^{dA}	0,05
1.000	1.438	0,20	20,30 ± 0,04 ^{cA}	0,06	0,18	20,31 ± 0,05 ^{cA}	0,07
5.000	5.438	1,52	20,66 ± 0,02 ^{bA}	0,42	1,49	20,62 ± 0,02 ^{bA}	0,38
10.000	10.438	2,73	21,00 ± 0,02 ^{aA}	0,76	2,60	20,94 ± 0,01 ^{aB}	0,70
CV = 0,12%							

¹ Valor correspondente ao teor inicial de dextrana no caldo somado as doses adicionadas

² Variação do grau sacarimétrico obtido no sacarímetro digital.

Média de triplicata ± desvio padrão.

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 1%.

CV = Coeficiente de variação.

Houve elevação dos valores de Pol % caldo adicionado de dextrana, tanto de menor peso como de maior peso molecular. Contudo, a diferença entre as leituras de Pol % somente se tornaram significativa para alguma adição entre 1.000 e 5.000 ppm (total de 1.438 a 5.438 ppm) para a dextrana de menor peso e entre 500 e 1.000 ppm (total de 968 a 1.438 ppm) para a de maior peso.

Os maiores incrementos na leitura dos graus sacarimétricos com as adições de dextranas foram de 2,73 °S (menor peso molecular) e 2,60 °S (maior peso molecular) em relação ao tratamento sem adição de dextrana. E os incrementos totais para a variação da Pol foram de 0,76 e 0,70, respectivamente, para as de menor e maior peso.

De la Rosa (1998b) adicionou dextranas padrões (T-110, T-250, T-500 e T-2000) em caldos de cana frescos e constatou que para cada 180 ppm de dextranas houve incremento de 0,04°S na leitura sacarimétrica, independente do peso molecular. No presente estudo os aumentos não foram proporcionais, entretanto, pode-se exemplificar pela adição de 500 para 1.000 ppm que o incremento foi de 0,09°S para a de maior peso molecular e de 0,04°S para a de menor peso molecular.

Os coeficientes de Pearson entre o valor de Pol e as doses de dextranas adicionadas ao caldo apresentaram forte correlação positiva, sendo $r = 0,9982$ e $r = 0,9945$, para as massas moleculares de 40.000 Da e 5.348.000 Da, respectivamente.

Os incrementos totais observados para as adições no caldo foram menores que os gerados na solução de sacarose. No caldo com adição zero já havia originalmente 438 ppm de dextrana, contudo, considerando que a interferência de leitura da Pol na solução de sacarose somente começou a ocorrer a partir da dose de 500 ppm, poderia se sugerir que, para este caldo, não haveria interferência da dextrana sobre este parâmetro. Há que se considerar, entretanto, que além da dextrana originalmente presente há também 356 ppm de amido neste caldo. Há, portanto, uma somatória de outros efeitos já a partir do caldo que teve adição zero.

Não foram observadas diferenças entre os valores obtidos para as leituras obtidas com os dois pesos moleculares testados dentro de cada dose adicionada.

Na Figura 12 são apresentados os gráficos comparativos da interferência de doses crescentes de dextranas sobre a relação Pol em uma dose específica / Pol do

controle (adição zero) da solução padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo de cana.

Figura 12 - Comparativo da interferência de doses crescentes de dextrana sobre a relação Pol em uma dose específica / Pol do controle (adição zero) da solução padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo de cana, sendo A) Dextrana de 40.000 Da e B) Dextrana de 5.348.000 Da

Houve maior incremento das leituras com as adições das duas dextranas em solução de sacarose do que em caldo de cana, como também observado para a adição de amido.

4.2.3 Efeito da adição de amido sobre o Brix da solução padrão de sacarose e do caldo de cana

Os valores do teste F e da significância do efeito das adições de doses crescentes (0, 100, 500, 1.000, 5.000 e 10.000 ppm) de amido isolado de cana sobre o Brix de solução padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo de cana estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Valores de F e significância do efeito das adições crescentes de diferentes doses de amido sobre o Brix da solução padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo de cana

Parâmetro	Causa da variação
	Doses
Brix da solução padrão de sacarose	1892,3184 **
Brix do caldo	111, 9860 **

Teste F: ** significativo em nível de 1%.

Os valores de Brix do caldo de cana que recebeu diferentes adições de amido estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Efeito da adição de amido sobre o Brix da solução padrão de sacarose (19% m/m)

Adições de amido (ppm)	Parâmetros	
	Brix (%) $\pm$ DP	Variação Brix
0	19,10 $\pm$ 0,03 ^f	0,00
100	19,30 $\pm$ 0,03 ^e	0,20
500	19,49 $\pm$ 0,02 ^d	0,39
1.000	19,82 $\pm$ 0,05 ^c	0,72
5.000	20,40 $\pm$ 0,04 ^b	1,30
10.000	21,21 $\pm$ 0,03 ^a	2,11
CV = 0,16%		

Nota: ¹ Valor correspondente ao teor inicial de amido no caldo somado as doses adicionadas.

Média de triplicata $\pm$ desvio padrão.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre pelo Teste de Tukey em nível de 1 %.

CV = coeficiente de variação.

Houve aumento significativo dos valores de Brix a cada adição de amido, sendo o incremento total de 2,11 pontos percentuais. A refratometria mostrou ser, portanto, mais sensível à presença de amido que a polarimetria.

O amido é insolúvel em água (LAJOLO e MENEZES, 2006), sendo considerada uma partícula coloidal dispersa no caldo da cana (DELGADO; CESAR, 1977). O Brix, entretanto, mede o índice de refração de substâncias (BARTOLI et al., 1999), sendo o percentual, em peso, dos sólidos totais (açúcares, polissacarídeos, proteínas, minerais) dissolvidos no caldo (HAMERSKI, 2009). Assim, pode-se sugerir que a interferência desse polissacarídeo na leitura de Brix ocorra como consequência do espalhamento da luz propagada. E quanto maior a concentração de amido presente, mais espalhamento.

O coeficiente de Pearson entre as variáveis (Brix da solução padrão de sacarose e doses de amido adicionadas) apresentou forte correlação positiva ($r = 0,9745$).

Os valores de Brix do caldo de cana que recebeu diferentes adições de amido estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Efeito da adição crescente de amido sobre o Brix do caldo de cana

Adições de amido (ppm)	Teor total de amido no caldo (ppm) ¹	Brix (%) ± DP	Variação Brix
0	356	22,90 ± 0,08 ^d	0,00
100	456	22,97 ± 0,06 ^d	0,07
500	856	23,10 ± 0,10 ^d	0,20
1.000	1356	23,40 ± 0,05 ^c	0,50
5.000	5356	23,73 ± 0,05 ^b	0,83
10.000	10356	24,10 ± 0,04 ^a	1,20
CV = 0,21%			

Nota: ¹ Valor correspondente ao teor inicial de amido no caldo somado as doses adicionadas.

Média de triplicata ± desvio padrão.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre pelo Teste de Tukey em nível de 1 %.

CV = coeficiente de variação.

Houve elevação dos valores de Brix com as adições de amido, sendo que a diferença significativa com relação ao controle surgiu apenas na adição de 1.000 ppm (total de 1.356 ppm).

Um incremento total de 1,20 °Brix foi observado no presente ensaio, incremento este inferior ao observado para a solução de sacarose (2,11 °Brix). Este comportamento já esperado em virtude da presença de amido e dextrana já a partir do caldo original. E, se considerar que a dose de 100 ppm já causou aumento significativo na adição em solução de sacarose, este intervalo de aumento pode realmente ter sido reduzido.

O caldo de cana apresenta em sua complexa composição, açúcares, colóides, proteínas, pentosanas, pectinas, gorduras, gomas, ceras, albuminas, silicato coloidal, materiais corantes (clorofila, antocianinas) (OITICICA et al., 1975).

Tendo como base que o Brix é o percentual, em peso, dos sólidos totais (açúcares, polissacarídeos, proteínas, minerais) dissolvidos no caldo (HAMERSKI, 2009) e que a refratometria mede o índice de refração é obtido pela medição do ângulo crítico de um feixe de luz atingindo a amostra (MARIGHETO; WRIGT; HILLS, 2006), o tipo de interferência do amido nesta análise pode estar atrelado ao

espalhamento do feixe de luz propagada, em virtude da sua característica de insolubilidade. E quanto maior a concentração de amido presente, mais espalhamento. De acordo com Bazito (2001) a intensidade, polarização e distribuição do ângulo da luz espalhada por uma dispersão coloidal dependem de fatores tais como o tamanho e da forma das partículas que provocam o espalhamento, das interações entre essas partículas e da diferença entre os índices de refração das partículas e do meio.

O coeficiente de Pearson para as variáveis dependentes (Brix do caldo e as doses de amido adicionadas) apresentou forte correlação positiva ($r = 0,9508$). Este mesmo tipo de correlação também foi observado com a adição de amido em solução padrão de sacarose ($r = 0,9745$).

Na Figura 13 pode-se observar o gráfico comparativo da interferência de doses crescentes de amido sobre a relação Brix em uma dose específica / Brix do controle (adição zero) da solução padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo de cana.

Figura 13: Comparativo da interferência de doses crescentes de amido sobre a relação Brix em uma dose específica / Brix do controle (adição zero) da solução padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo de cana

Os incrementos dos valores de Brix com as adições efetuadas apresentaram-se mais elevado para a da solução de sacarose que para o caldo de cana, embora com boa correlação de R^2 para ambos os ensaios.

4.2.4 Efeito da adição de dextrana sobre o Brix em solução padrão de sacarose e do caldo de cana

Os valores do teste F e da significância do efeito das adições de doses crescentes de dextranas padrões de diferentes massas molares sobre solução de padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 – Valores de F e significância do efeito das adições crescentes de diferentes doses de duas dextranas padrão (40.000 e 5.348.000 Da) sobre o Brix da solução padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo de cana

Parâmetro	Causas da variação		
	Blocos (dextranas)	Doses	Blocos x Doses
Brix da solução padrão	4,0614 ns	1266,2633 **	41,4618 ns
Brix do caldo	4,1860 ns	309,8419 **	3,6614 *

Teste F: ** significativo em nível de 1%; ns = não significativo.

Houve diferenças significativas entre os valores de Brix da solução de sacarose e do caldo de cana com as doses de dextranas adicionadas. Houve também interação significativa entre dextranas de diferentes pesos moleculares e doses de dextranas adicionadas no ensaio para Brix do caldo.

Os valores da leitura de Brix da solução padrão de sacarose após a adição de diferentes doses de dextranas padrões estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 – Efeito da adição de dextranas padrões de diferentes massas moleculares sobre os valores de Brix da solução padrão de sacarose (19% m/m)

Doses adicionadas (ppm)	Dextrana padrão			
	40.000 Da		5.348.000 Da	
	Brix (%) $\pm$ DP	Variação Brix	Brix (%) $\pm$ DP	Variação Brix
0	18,73 $\pm$ 0,03 ^{eA}	0,00	18,72 $\pm$ 0,02 ^{eA}	0,00
100	18,85 $\pm$ 0,03 ^{dA}	0,12	18,77 $\pm$ 0,02 ^{deB}	0,05
500	18,91 $\pm$ 0,04 ^{dA}	0,18	18,84 $\pm$ 0,04 ^{dA}	0,12
1.000	19,09 $\pm$ 0,09 ^{cA}	0,36	19,05 $\pm$ 0,03 ^{cA}	0,33
5.000	19,35 $\pm$ 0,02 ^{bA}	0,62	19,27 $\pm$ 0,04 ^{bB}	0,55
10.000	19,99 $\pm$ 0,02 ^{aB}	1,26	20,42 $\pm$ 0,03 ^{aA}	1,70
CV = 0,20%				

Média de triplicata $\pm$ desvio padrão.

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 1%.

CV = coeficiente de variação.

Houve diferenças nas leituras de Brix da solução padrão de sacarose a cada dose de dextrana adicionada, havendo elevação significativa a partir de 100 ppm para a de menor peso e a partir de 500 ppm para a de maior peso.

O incremento total de Brix % no caldo foi de 1,26 para a dextrana de 40.000 Da e de 1,70 para a de 5.348.000 Da.

Como a medida do ângulo de refração baseia-se na mudança de direção (refração) da luz monocromática propagada em meios com birrefringências diferentes (BARTOLI et al., 1999), pode-se sugerir que como a dextrana é um polissacarídeo solúvel (NAESSENS et al, 2005), sua interferência sobre a leitura do Brix ocorre pela mudança do índice de refração da luz propagada, sendo que esse comportamento ocorre independente do peso molecular desse polissacarídeo.

O Coeficiente de Pearson apresentou uma forte correlação positiva para ambas as massas molares, sendo $r = 0,9848$ para a dextrana de menor peso molecular (40.000 Da) e $r = 0,9960$ para a dextrana de maior peso molecular (5.348.000 Da).

Os valores da leitura de Brix do caldo de cana submetidos às diferentes adições de dextranas padrões são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 – Efeito da adição crescente de dextranas padrões sobre o Brix em caldo de cana

Doses adicionadas (ppm)	Teor total de dextrana no caldo (ppm) ¹	Dextrana padrão			
		40.000 Da		5.348.000 Da	
		Brix (%) ± DP	Variação Brix	Brix (%) ± DP	Variação Brix
0	438	22,80 ± 0,03 ^{eA}	0,00	22,88 ± 0,07 ^{dA}	0,00
100	538	22,84 ± 0,02 ^{deA}	0,04	22,91 ± 0,10 ^{dA}	0,03
500	938	22,94 ± 0,04 ^{dB}	0,14	23,06 ± 0,15 ^{cA}	0,18
1.000	1438	23,10 ± 0,02 ^{cA}	0,30	23,10 ± 0,21 ^{cA}	0,22
5.000	5438	23,37 ± 0,05 ^{bA}	0,57	23,40 ± 0,13 ^{bA}	0,52
10.000	10438	23,81 ± 0,02 ^{aA}	1,01	23,71 ± 0,14 ^{aB}	0,83
CV = 0,21%					

¹ Valor correspondente ao teor inicial de dextrana no caldo somado as doses adicionadas.

Média de triplicata ± desvio padrão.

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 1%.

CV = coeficiente de variação.

Não foram observadas diferenças significativas entre as leituras de Brix do tratamento controle até a adição de 100 ppm (total de 538 ppm), tanto para a dextrana de menor como para a de maior peso molecular.

A interferência de ambas as dextranas sobre a leitura do °Brix começou a ocorrer a partir de alguma dose compreendida entre 100 e 500 ppm (total de 538 a 938 ppm).

O Coeficiente de Pearson entre as variáveis (Brix do caldo e as doses de dextrana padrões adicionadas) apresentou forte correlação positiva para as duas massas molares de dextrana, $r = 0,9793$ (40.000 Da) e $r = 0,9710$ (5.348.000 Da).

A pureza do caldo de cana é influenciada pelo °Brix. Segundo Lopes (1986), a pureza pode ser definida como sendo a fração percentual de sacarose nos sólidos totais de uma solução açucarada. Desta forma, tendo-se em vista o pressuposto, a presença de interferentes no caldo, como a dextrana, tende a contribuir também para a diminuição da pureza, prejudicando a qualidade do caldo.

Na Figura 14 pode-se observar o gráfico comparativo da interferência de doses crescentes de dextrana sobre a relação Brix em uma dose específica / Brix do controle (adição zero) da solução padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo de cana.

Figura 13 - Comparativo da interferência de doses crescentes de dextrana sobre a relação Brix em uma dose específica / Brix do controle (adição zero) da solução padrão de sacarose (19% m/m) e do caldo de cana, sendo A) Dextrana de 40.000 Da e B) Dextrana de 5.348.000 Da

Ambas as equações mostraram altos índices de correlação (R^2), entretanto, observa-se comportamento comparativo solução de sacarose/ caldo diferenciado. A dextrana de maior peso molecular apresentou reta referente ao caldo relativamente mais elevada do que aquela para a solução de sacarose. A dextrana de menor peso molecular apresentou comportamento mais próximo do que já havia sido observado para Pol % na relação solução de sacarose/caldo.

Pode-se sugerir neste caso, a presença de substâncias que afetaram o índice de refração da solução diferentemente da sacarose, somando esse desvio.

4.2.5 Efeito da interferência do amido e da dextrana sobre o pagamento da cana

Para demonstrar o efeito do impacto da interferência do amido e da dextrana no cálculo do ATR (Equação 10), estabelecido pelo Consecana (2006), foram tomados como exemplo, alguns valores obtidos nos ensaios anteriores de adição e o valor de fibra médio da cana como 11,5%.

$$ATR = 9,5263 \times PC + 9,05 \times ARC \quad (10)$$

Sendo:

PC = Pol da cana;

9,05 = coeficiente de recuperação, para uma perda industrial de 9,5%;

ARC = açúcares redutores da cana

O Pol da cana é estabelecido pela Equação (11):

$$PC = P_{\text{caldo}} \times (1 - 0,01 \times F) \times C \quad (11)$$

Sendo:

P_{caldo} = Pol do caldo extraído;

F = fibra da cana;

C = fator de transformação da Pol do caldo extraído em Pol do caldo absoluto ($C = 1,0313 - 0,00575 \times F$).

Os ARC (açúcares redutores da cana) são calculados pela Equação (12):

$$ARC = AR \times (1 - 0,01 \times F) \times C \quad (12)$$

Sendo

AR % caldo = $3,641 - 0,0343 \times Q$ (onde Q (%) = pureza aparente do caldo)

Interferência do amido sobre o ATR:

a) Ensaio controle (adição zero) de amido

- Parâmetros estabelecidos: Pol do caldo = 19,88 % e Brix do caldo = 22,90 %

ATR = 167,1 kg/t

b) Ensaio com adição 500 ppm de amido

- Parâmetros estabelecidos: Pol do caldo = 19,95 % e

Brix do caldo controle (adição zero) = 23,10 %

ATR = 167,8 kg/t

Diante do exposto, é possível observar um incremento de ATR de 0,7 Kg/t com a adição de 500 ppm de amido ao caldo.

Interferência da dextrana sobre o ATR:

a) Ensaio controle (adição zero) de dextrana 40.000 Da

- Parâmetros estabelecidos: Pol do caldo = 20,24 % e Brix do caldo = 22,80 %

ATR = 169,5 kg/t

b) Ensaio com adição de 500 ppm de dextrana (40.000 Da)

- Parâmetros estabelecidos: Pol do caldo = 20,28 % e Brix do caldo controle (adição zero) = 22,94 %

ATR = 167,8 kg/t

c) Ensaio controle (adição zero) de dextrana 5.348.000 Da

- Parâmetros estabelecidos: Pol do caldo = 20,24 % e Brix do caldo = 22,88 %

ATR = 169,6 kg/t

d) Ensaio com adição de 500 ppm de dextrana 5.348.000 Da

- Parâmetros estabelecidos: Pol do caldo = 20,29 % e Brix do caldo controle (adição zero) = 23,06 %

ATR = 167,8 kg/t

Através dos cálculos, é possível observar que com a adição de 500 ppm de dextrana 40.000 Da houve um incremento de ATR de 1,7 Kg/t. Para a dextrana de 5.348.000 Da esse incremento foi de 1,8 Kg/t.

A adição de dextrana apresentou maior impacto sobre o cálculo do ATR do que o amido. O problema dessa interferência pode ser agravado em épocas chuvosas, pois segundo Trost e Steele (2006) a maior quantidade de terra aderida na cana tem como consequência um aumento de dextrana, pois para cada grama de

solo pode-se encontrar em torno de 10^8 bactérias do tipo *Leuconostoc mesenteroides*.

O sistema atual de pagamento de cana, estabelecido pelo Consecana (2006) é baseado na qualidade, ou seja, em quilogramas de açúcar total recuperável (ATR), porém, a interferência tanto do amido quanto da dextrana não é computada, reduzindo a qualidade da matéria-prima, mas aumentando o ATR.

4.3 Isolamento e caracterização do amido de cana-de-açúcar

O amido de cana-de-açúcar foi isolado e caracterizado quanto a algumas de suas propriedades, visto que estas podem influenciar tanto as análises tecnológicas do caldo como também os processos de fabricação do açúcar e do etanol.

4.3.1 Rendimento do processo de extração do amido

O rendimento do processo de extração do amido em relação ao total de caldo extraído foi de 0,011% (base seca) e o rendimento de extração em relação ao teor total de amido presente na matéria-prima foi de $10,6 \pm 1,81$ (base seca). Os amidos das diversas extrações foram misturados, homogeneizados e avaliados.

4.3.2 Composição do amido

O amido isolado do caldo da cana apresentou teor de umidade de 10,1%, adequado para sua conservação até o momento de realização das análises.

O teor de amido na fração amilácea isolada foi avaliado para se conhecer o grau de pureza das amostras, uma vez que a análise de todas as substâncias acompanhantes seria inviável, dada à baixa quantidade de amido obtida. O teor de amido obtido foi de 99,1 %, o que demonstra que houve uma eficiente extração/purificação do mesmo, refletindo em baixos teores de substâncias acompanhantes ou impurezas.

A funcionalidade do amido depende muito da proporção amilose/amilopectina nos grânulos, bem como de seus tamanhos e arranjos estruturais (ZHANG et al., 2005).

O amido isolado de cana-de-açúcar apresentou teor de amilose aparente de

17,5% $\pm$ 0,5. Este valor situa-se entre alguns reportados na literatura, como em Whayman e Willersdorf (1976), que constataram 15% de amilose no amido de cana das variedades N:Co 310 e Q 58 foi de 15%. Estes autores ainda sugerem que a amilopectina da cana é mais ramificada do que a amilopectina de amido de milho ou batata. Vignes (1974) reportou 19% de amilose no amido de cana-de-açúcar, enquanto Kampen, Tan e Cuddihy (1998) citam 20%.

As moléculas de amido quando submetidas a altas temperaturas (processos de clarificação e evaporação) incham progressivamente e rompem liberando a amilose e amilopectina, que formam uma solução viscosa amorfa. No resfriamento, as moléculas de amilose podem reassociar-se para formar uma rede de gel, de forma que a amilopectina ramificada não exerce essa função (TESTER; KARKALAS; QI, 2004). Este aspecto explica porque a fração amilose é responsável pelo efeito negativo do amido nas fábricas de açúcar (GODSHALL; CLARKE; DOOLEY, 1991).

Um elevado teor de amido no caldo misto das fábricas pode reduzir a eficiência da fervura e aumentar a formação de melaço (ZHOU et al., 2008).

4.3.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O aspecto geral dos grânulos de amido de cana-de-açúcar da variedade RB 86-7515 pode ser observado pela Figura 11.

Figura 11 - Fotomicrografias dos grânulos de amido de cana-de-açúcar visualizados em microscópio eletrônico de varredura em dois aumentos

O amido apresentou uma mistura de grânulos de tamanhos variados, com predomínio da forma esférica. Alguns são irregulares, tendendo para o ovalado ou

semi-esféricos e outros ainda são truncados. A superfície tem aparência lisa e sem fissuras.

Formatos semelhantes foram observados para amido de cana por Figueira, Carvalho e Sato (2011). Stevenson e Whayman (1976) verificaram grânulos de formato irregular, com predomínio dos tipos esféricos e ovalados.

4.3.4 Tamanho dos grânulos

Em função da variabilidade de formatos apresentados, a mensuração dos tamanhos dos grânulos foi expressa como a média dos diâmetros maiores, diâmetros menores e médias das áreas superficiais específicas. Os resultados estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 – Tamanho dos grânulos de amido de cana-de-açúcar

Mensuração do grânulo	Médias e DP
Diâmetro menor (μm)	$2,8 \pm 0,75$
Diâmetro maior (μm)	$3,1 \pm 0,76$
Área superficial específica (μm^2)	$27,8 \pm 13,60$

Os grânulos de amido deste vegetal são muito pequenos quando comparados com os de fontes convencionais, como os citados por Leonel (2007) para batata, sendo o diâmetro menor de $30,51 \pm 1,56$ e o maior de $39,50 \pm 2,49$ e para mandioca, sendo o diâmetro menor de $14,39 \pm 0,47$ e o maior de $17,1 \pm 0,73$.

Na Figura 12 são apresentadas as distribuições de frequência dos tamanhos de grânulos da cana estudada, tanto os histogramas para diâmetros menores como para os maiores.

Figura 12 - Distribuição de tamanho de grânulos de amido de cana quanto aos diâmetros menores (A) e maiores (B)

Os grânulos do amido de cana apresentaram distribuição homogênea tanto para diâmetros maiores (Figura 12a) quanto para diâmetros menores (Figura 12b), com predomínio de grânulos na faixa de 2 a 4 μm .

As faixas de tamanho encontradas na literatura são igualmente pequenas, mas com pequenas variações. Figueira, Carvalho e Sato (2011) encontraram grânulos variando entre 1 e 3 μm , Stevenson e Whayman (1976) em amido de cana-de-açúcar de Queensland verificaram grânulos de diâmetro de 1 a 5 μm , enquanto

Park, Martens e Sato (1985) encontraram diâmetro de 1 a 6 μm em amido isolado de caldo de cana colhida em fase final do período de colheita.

4.3.5 Cor

A Tabela 17 apresenta os resultados dos parâmetros de cor (luminosidade, cromaticidade e ângulo hue) do amido isolado de cana-de-açúcar.

Tabela 17 - Valores médios de luminosidade (L), croma (C) e ângulo hue ($^{\circ}\text{H}$) do amido de cana

Parâmetro	Amido natural
Luminosidade (L)	95,09
Croma (C)	3,23
Ângulo hue ($^{\circ}\text{H}$)	85,28

Considerando que os valores de luminosidade variam do claro ao escuro, sendo o valor 0 (zero) correspondente à cor preta e o valor 100 (cem) à cor branca (CARDOSO et al., 2007), tem-se que o amido de cana, cujo valor é 95,09, apresentou coloração muito próxima à branca, o que confirma seu elevado grau de pureza.

Quanto ao parâmetro croma (intensidade da cor), valores próximos ao zero são indicativos de cores mais neutras (branco e/ou cinza) e aqueles ao redor de 60 indicam cores mais vívidas e/ou intensas (MCGUIRE, 1992). Desta forma, tem-se que o amido de cana apresentou baixo valor de croma (3,23), confirmando os resultados de luminosidade.

Os resultados do ângulo Hue (talidade) indicam atributo da cor vermelha a 0 $^{\circ}\text{H}$, amarelo a 90 $^{\circ}\text{H}$, verde a 180 $^{\circ}\text{H}$ e azul a 270 $^{\circ}\text{H}$ (MCGUIRE, 1992). O amido de cana apresentou 85,28 $^{\circ}\text{H}$, denotando coloração mais próxima do amarelo.

4.3.6 Difractometria de raios X e cristalinidade relativa

O difratograma de raios X do amido isolado de cana-de-açúcar está apresentado na Figura 13.

Figura 13 – Perfil de difração de raios X do amido isolado de cana

O amido isolado de cana-de-açúcar apresentou padrão de cristalinidade do tipo A segundo o padrão estabelecido por Zobel (1964), com pico de intensidade média-forte no ângulo de difração 2θ $15,1^\circ$ e forte em um duplete $17,2^\circ / 17,9^\circ$ e em $22,8^\circ$.

Outros amidos que possuem padrão de cristalinidade do tipo A são os cereais em geral (CORDEUNSI, 2006), o qual se caracteriza por apresentar duplas hélices formadas por amilose e amilopectina compactadas, dispostas em arranjo monocíclico (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006).

Os amidos que apresentam padrão do tipo A são mais resistentes ao ataque enzimático, indicativo de grânulos mais homogêneos com relação à distribuição de forças internas de ligação (ROSENTHAL et al., 1973).

A cristalinidade relativa do amido isolado de cana foi de $44,21 \pm 0,71$, o que caracteriza um amido de elevado grau de cristalinidade. De acordo com Yonemoto (2006) o grau de cristalinidade dos grânulos de amidos nativos pode variar de 15 a 45%, sendo a amilopectina a principal responsável pela cristalinidade (YONEMOTO, 2006). O teor de amilose aparente relativamente baixo (17,5%) e, portanto, alto de

amilopectina (82,5%) do amido isolado de cana-de-açúcar pode explicar seu alto grau de cristalinidade.

4.3.7 Propriedades Térmicas

A análise por calorimetria diferencial de varredura (DSC) auxilia na exploração e entendimento da estrutura do grânulo bem como permite verificar e monitorar as propriedades térmicas e as transições de fase dos amidos (JI, SEETHARAMAN; WHITE, 2004; ZHONG; SUN, 2005). Na Figura 14 é apresentado o termograma obtido em DSC para o amido da cana-de-açúcar e na Tabela 18 suas propriedades térmicas.

Figura 14 - Perfil endotérmico do amido de cana de açúcar obtido por calorimetria diferencial de varredura

Tabela 18 – Propriedades térmicas do amido de cana-de açúcar

	Propriedades Térmicas				
	T_o (°C)	T_p (°C)	T_f (°C)	ΔT (°C)	ΔH (J.g ⁻¹)
Média ± DP	65,78 ± 0,29	72,39 ± 0,39	80,83 ± 0,54	15,05 ± 0,49	10,57 ± 0,29
CV	0,45	0,47	0,66	3,22	2,69

T_o = Temperatura inicial de gelatinização; T_p = Temperatura de pico de gelatinização; T_f = Temperatura final de gelatinização; $\Delta T = T_f - T_o$; ΔH = entalpia de gelatinização.

A gelatinização do amido geralmente ocorre em uma ampla faixa de temperatura, a qual é característica para cada fonte vegetal (SINGH et al., 2003). Esta faixa é correspondente ao ponto de máxima viscosidade, sendo medida pelo intervalo de temperatura a partir do início do desaparecimento das zonas cristalinas até o seu final (BOBBIO; BOBBIO, 2001).

O uso de altas temperaturas resultando na perda da cristalinidade, também torna o grânulo de amido mais acessível ao ataque enzimático (IZIDORO, 2011). Esse aspecto é de grande importância nas usinas de açúcar, visando principalmente o uso de enzimas para hidrólise do amido durante o processamento da cana.

O amido isolado de cana apresentou uma faixa de temperatura de gelatinização de 15 °C. Na literatura, esta faixa é menor do que aquela apresentada por algumas fontes de amidos convencionais como o de batata (23,1 °C); trigo (24,8 °C) (JENKINS; DONALD, 1998) e ervilha (33,6 °C) (POLES; SARMENTO; ANJOS, 2011). Entretanto, esta faixa apresentou-se maior do que outros amidos: grão-de-bico (8,3 °C) (POLES; SARMENTO; ANJOS, 2011); milho (10,8 °C) e arroz (9,9 °C) (JANE et al., 1999).

A faixa de gelatinização para o amido isolado de cana, portanto, sugere um valor intermediário quando comparado àqueles reportados na literatura. De acordo com Hoover e Ratnayake (2002), uma ampla faixa de gelatinização (ΔT) pode indicar um menor grau de homogeneidade dos cristais dentro dos grânulos.

Figueira, Carvalho e Sato (2011) determinaram a temperatura de gelatinização do amido de cana, baseado no método descrito por Park, Martens e Sato (1985). Neste estudo, amostras de suspensão de amido foram aquecidas em banho térmico de 50 °C a 80 °C, e retiradas alíquotas de 0,5 mL em diferentes tempos. Após tratamento com solução de iodo-KI 0,01 N o intumescimento ou

gelificação dos grânulos de amido foi observado em microscópio óptico. A faixa de temperatura encontrada foi de 70 – 75 °C. No estudo de Park, Martens e Sato (1985) essa faixa foi de 65 a 80 °C.

O amido de cana apresentou pico endotérmico relativamente alto ($T_p = 72,4$ °C) quando comparado ao amido de mandioca (67,7 °C) (PERONI, 2003). Porém, este pico foi relativamente baixo quando comparado ao amido de gengibre (87,4 °C) (PERONI, 2003).

Segundo Beninca (2008), o tamanho dos grânulos também pode interferir nas temperaturas de gelatinização (T_o e T_p). Grânulos menores apresentam maiores temperaturas de gelatinização (YONEMOTO, 2006).

O valor de ΔH encontrado para o amido de cana no presente estudo foi de 10,57 J.g⁻¹. A entalpia de gelatinização (ΔH) está relacionada com a perda da estrutura de dupla hélice e reflete a cristalinidade total (qualidade e quantidade de cristais) (JAYAKODY, 2001). Altos valores de entalpia podem indicar que as duplas hélices, que são perdidas na gelatinização, estão fortemente associadas dentro do grânulo (SINGH; SANDHU e KAUR, 2004). Altos valores de entalpia podem indicar arranjos mais organizados ou maior estabilidade dos cristais (YONEMOTO, CALORI-DOMINGUES; FRANCO, 2007).

As altas temperaturas envolvidas nos processos de obtenção do açúcar e etanol podem ser consideradas determinantes na problemática envolvendo o amido. Levando em consideração que durante o tratamento do caldo de cana, este é aquecido a temperaturas de 90 a 105 °C (HONIG, 1953) o amido de cana, cuja temperatura de gelatinização tem início em torno de 66 °C e término em 81 °C tem seu processo de gelatinização finalizado.

4.3.8 Fator de expansão dos grânulos

A água intragranular de uma suspensão de amido aquecida a uma determinada temperatura é medida pelo fator de expansão dos grânulos. Esta expansão ocorre devido à gelatinização, e influencia as propriedades reológicas da pasta e gel. (TESTER; MORRISON, 1990). O fator de expansão dos grânulos de amido de cana está apresentado na Figura 15.

Figura 15 – Fator de expansão dos grânulos de amido de cana-de-açúcar sob diversas temperaturas

Johnson (1989) relatou que mesmo a molécula de amido sendo insolúvel em temperaturas baixas, quando atinge determinadas temperaturas pode gelatinizar, resultando no inchaço dos grânulos, que passam a ocupar volumes maiores. O fator de expansão define o potencial máximo de expansão do grânulo aquecido durante a gelatinização (HIRSCH, KOKINI, 2002).

Os grânulos de amido de cana no caldo, quando são submetidos ao aquecimento, expandem progressivamente e rompem com a liberação da amilose e amilopectina, aumentando a viscosidade do meio (EGGLESTON al., 2006). Assim, o amido de cana-de-açúcar da variedade estudada apresentou fatores de expansão variáveis crescentes de 9,8 a 30,6 na faixa de temperatura de 50 a 80 °C. Na temperatura de 90°C este valor caiu para 6,8, em decorrência de provável quebra dos grânulos pelo intumescimento excessivo. Para amido de batata-doce Gonçalves (2007) constatou fatores de expansão crescentes de 2,8 a 35,6 entre as temperaturas de 50 a 90°C.

Esta expansão dos grânulos tem efeitos relacionados ao bloqueio de filtros, aumento de viscosidade das soluções e redução de rendimento.

4.3.9 Susceptibilidade a ação enzimática

A cinética da hidrólise do amido de cana-de-açúcar pela enzima alfa amilase pancreática de suíno mediante a produção de açúcares redutores é apresentada na Figura 16.

Figura 16 - Teores médios de açúcares redutores produzidos durante a hidrólise do amido de cana-de-açúcar por alfa-amilase pancreática de suíno.

A ação da α -amilase no grânulo de amido depende da penetração dessa enzima no interior do grânulo (HOOVER; VASANTHAN, 1994).

Ao longo da digestão enzimática (10 aos 120 minutos) houve aumento da quantidade de açúcar redutor produzido pela hidrólise do amido de cana-de-açúcar de 100% (0,09 a 0,18 mg/mL).

Park, Martens e Sato (1985) avaliaram a suscetibilidade enzimática do amido de cana à α -amilase bacteriana. O amido isolado de cana foi digerido com 100 SKB de α -amilase (*Bacillus subtilis* ou *B. licheniformis*) em solução tampão fosfato pH 6,0 por 24 h sob temperatura ambiente. Foram produzidos de 0,2 a 1,2 mg/mL de açúcares redutores no período de 2 a 24 horas, o que resultou em aumento de 500% de produção desses açúcares do início ao término da digestão enzimática.

As usinas de açúcar-de-açúcar no Brasil utilizam a α -amilase bacteriana termoestável Termamyl obtida de *Bacillus licheniformis* para hidrolisar o amido (FIGUEIRA, 2009). O conhecimento do uso de enzimas nas usinas é de suma importância, visto que, segundo Schoonees-Muir (2008), desde que o amido é introduzido no processo, as usinas tem que lidar com a presença desse indesejável componente na fabricação do açúcar.

A digestibilidade do amido é influenciada por alguns aspectos físico-químicos, tais como a origem botânica, a relação amilose/amilopectina, o grau de cristalinidade, a forma física, entre outras (LOBO e SILVA, 2003). Os grânulos de amido com alta cristalinidade apresentam menor susceptibilidade enzimática devido ao fato da digestão estar confinada nas áreas amorfas do grânulo, pois a difusão da enzima em regiões cristalinas pode ser dificultada pelo empacotamento denso das cadeias poliméricas (LELIEVRE, 1975). Desta forma, considerando o alto grau de cristalinidade apresentado pelo amido de cana (44,21%), pode-se considerar que este pode apresentar uma menor susceptibilidade enzimática do que outras fontes de amido.

4.3.10 Distribuição do peso molecular por cromatografia de permeação em gel

O perfil de eluição do amido de cana apresenta a quantidade de açúcares totais (CHO) e a resposta de *Blue Value* (BV) à reação com iodo (Figura 17). O primeiro pico corresponde à fração da amilopectina e o segundo pico mostrou uma resposta significativa a *Blue value* (reação com iodo), correspondente à fração amilose.

Figura 17 - Perfil de eluição do amido isolado de cana-de-açúcar em gel Sepharose CL-2B (BV = blue value; CHO = carboidrato total)

A razão *blue value*/açúcares totais (BV/CHO) no pico da amilopectina (fração 25) foi de 0,13. Este valor pode ser considerado baixo quando comparado com

aqueles reportados na literatura para amidos de outras fontes botânicas como ervilha (0,22 – fração 23) (POLESI; SARMENTO; ANJOS, 2011), mandioca (0,38) e inhame (0,68) (PERONI; ROCHA; FRANCO, 2006) sendo ambos na fração 27 (PERONI, 2003). De acordo com Rocha, Demiaty e Franco (2008), esse resultado pode sugerir menores proporções de cadeias laterais longas da amilopectina.

De acordo com o cromatograma, o amido de cana apresentou pico de *blue value* mais largo por volta da fração 60. Peroni (2003) encontrou esse valor por volta da fração 55 para os amidos de batata-doce, araruta e taro, o que indicou a presença de moléculas de alto peso molecular.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ensaios de adição de amido e dextrana nas doses avaliadas permitiram considerar que:

- As adições de amido e de dextrana, independente do peso molecular, resultaram em incrementos de leituras no polarímetro e no refratômetro, tanto para o ensaio em solução padrão de sacarose (19 % m/m) quanto para o ensaio em caldo de cana.
- No ensaio com solução padrão de sacarose a adição de amido de cana causou variação significativa da Pol % a partir de dose compreendida entre 500 e 1000 ppm. No caldo, esses acréscimos foram significativos em doses menores, entre 100 e 500 ppm.
- No ensaio com solução padrão de sacarose a adição de dextrana padrão causou variação significativa da Pol % a partir de dose compreendida entre 100 e 500 ppm, independente do peso molecular. No caldo, esses acréscimos foram significativos em doses maiores, entre 1000 e 5000 ppm para as de peso molecular menor e entre 500 e 1000 ppm para a de maior peso.
- Houve maior incremento das leituras de Pol % com as adições das duas dextranas em solução de sacarose do que em caldo de cana. O mesmo foi observado para a adição de amido. Considerando que no caldo já existiam amido e dextrana originalmente e na solução de sacarose não, as adições foram efetuadas, portanto, em escalas diferentes. Além destes polissacarídeos, foi constatado que outras substâncias do caldo podem mascarar ou suprimir tais efeitos e leituras, como a somatória das diferentes rotações ópticas das substâncias.
- No ensaio com solução padrão de sacarose, a adição de amido isolado de cana causou variação significativa do Brix % a partir de dose compreendida entre 0 e 100 ppm. No caldo, esses acréscimos foram significativos em doses maiores, entre 500 e 1000 ppm.

- No ensaio com solução padrão de sacarose a adição de dextrana padrão causou variação significativa do Brix % a partir de dose compreendida entre 0 e 100 para a de menor peso molecular e entre 100 e 500 ppm para a de maior peso molecular. No caldo, esses acréscimos foram significativos em doses entre 100 e 500 ppm para ambas as dextranas.
- O incremento das leituras de Brix % com a adição da dextrana menor em solução de sacarose foi menor do que em caldo de cana e maior para a dextrana maior. Para a adição de amido foi observado maior incremento para a solução de sacarose do que para o caldo.
- Foi constatada forte correlação positiva entre as variáveis (Pol % caldo x doses de amido e Brix % caldo x doses de amido) pelo coeficiente de correlação de Pearson, tanto para o ensaio em solução padrão de sacarose quanto para o caldo de cana.
- Quanto ao impacto da adição de 500 ppm de polissacarídeos nos resultados das análises do caldo e, conseqüentemente sobre o cálculo do ATR, o amido representaria um incremento de 0,7 Kg/t e a dextrana de maior peso molecular um incremento de ATR de 1,7 Kg/t, enquanto que para a de menor peso esse incremento seria de 1,8 Kg/t. Assim, a interferência maior neste cálculo seria a presença da dextrana.
- A mensuração exata da interferência da adição de amido e dextrana sobre os métodos analíticos de Pol e Brix no caldo se mostrou complexa, pois a resposta foi mascarada pelo misto de componentes, inclusive os polissacarídeos originalmente presentes no mesmo. A resposta mais evidente do sistema modelo (solução de sacarose) não aconteceu para o caldo. Assim, não daria, por exemplo, para compor uma tabela de correção para Pol e Brix do caldo de cana nas análises pela indústria em função da maior ou menor presença destes polissacarídeos oriundos da produção e armazenamento desta matéria-prima.

- Levando-se em consideração a interferência de polissacarídeos, como o amido e a dextrana, nas análises tecnológicas de Pol e Brix, verifica-se a necessidade da utilização de outros métodos analíticos para a melhor determinação desses parâmetros. Técnicas atuais como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) podem ser usadas visando o cômputo mais preciso da quantidade de sacarose no caldo e, desta forma, corrigindo essas interferências.

A caracterização do amido isolado de cana-de-açúcar permitiu considerar que:

- Os grânulos de amido apresentaram coloração muito próxima a branca, formatos diversos, com predomínio do esférico e tamanhos também variados, com diâmetro menor de 2,8 μm e diâmetro maior de 3,1 μm . Comparativamente a outras fontes de amido, podem ser considerados pequenos.
- O amido apresentou teor de amilose de 17,5%, padrão de cristalinidade do tipo A e cristalinidade relativa elevada, de 44,21%.
- Com relação às propriedades térmicas, este amido apresentou pico endotérmico bem definido em 72,4 °C e fator de expansão na faixa de temperatura de 50 a 80 °C.

6 CONCLUSÕES

- As adições de amido e de dextrana interferiram nas análises tecnológicas de Pol e Brix, sendo a interferência da dextrana um pouco mais evidente que a do amido em ambas as análises.
- O efeito das adições de amido e das dextranas na solução padrão se mostrou diferente do efeito das adições em caldo da cana. Neste último as adições de amido e dextranas ocorreram em escalas diferenciadas, pois no mesmo já havia originalmente amido e dextranas presentes. Além destes polissacarídeos, no caldo original existem ainda outras substâncias presentes. Esta composição complexa do caldo gerou um efeito somatório de menor interferência das leituras com as adições.
- Nos ensaios da adição de dextrana sobre a leitura da Pol e também sobre a do Brix, os diferentes pesos moleculares dos padrões deste polissacarídeo praticamente não resultaram em diferenças dentro de cada uma das doses adicionadas.
- Tanto para os ensaios de adição sobre a leitura da Pol quanto do Brix, os diferentes pesos moleculares das dextranas padrão praticamente não apresentaram diferenças entre as doses adicionadas.
- Houve intensificação de resposta de Pol e Brix para os ensaios de adições de amido e dextranas, tanto no caldo de cana como em solução padrão de sacarose. As intensificações nas leituras analíticas se mostraram variáveis para os diferentes ensaios, sendo que, a solução padrão de sacarose mostrou-se mais afetada pelas adições que o caldo, com exceção da adição da dextrana de menor peso molecular (40.000 Da) sobre o Brix.
- Apesar de estarem fundamentadas em escalas analíticas diferentes, a refratometria mostrou ser mais sensível às adições de amido que a polarimetria, apresentando maiores variações entre as leituras. O mesmo

também foi observado para as adições de dextrana, independente da massa molecular.

- A adição de dextrana ao caldo (independente da massa molar) apresentou maior impacto sobre o cálculo do ATR do que a adição de amido. O efeito dessa interferência pode ser agravado em épocas chuvosas, onde ocorre o aumento de dextrana na cana-de-açúcar em virtude da maior quantidade de terra aderida.
- As propriedades do amido isolado de cana-de-açúcar mostraram-se importantes de forma a contribuir para o entendimento de seu potencial de influência sobre as análises tecnológicas do caldo e sobre os processos de fabricação do açúcar e do etanol.

REFERÊNCIAS

- AGBLEVOR, F.A.; HAMES, B.R.; SCHELL, D.; CHUM, H.L. Analysis of Biomass Sugars Using a Novel HPLC Method. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, New Jersey, v.136, n.3, p. 309-326, 2007.
- ALVAREZ, F. J.; CARDENTY. Pratical aspects of the control of dextran at Atlantic Sugar Association. **International Journal Sugar**, Glamorgan, v. 90, n.1078, p.182-184, 1988.
- ALVES, L. R. A. **Transmissão de preços entre produtos do setor sucroalcooleira do estado de São Paulo**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002. Disponível em: <<http://cepea.esalq.usp.br/pdf/lucilio.pdf>>. Acesso em: 05 Jun. 2010.
- AMYLOSE/AMYLOPECTIN, Co Wicklow: Megazyme International Ireland, 2006, 8 p.
- AQUINO, D. S. **Produção de dextrana por novas linhagens de bactérias isoladas de cana-de-açúcar**. 2006. 74p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- AQUINO, F. W. B.; FRANCO, D. V. Dextranas em açúcares do estado de São Paulo. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1034-1037, 2008.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 18th ed. Gaithersburg, 2010. 1141p.
- BARBOSA, L. C. A. **Introdução à química orgânica**. São Paulo: Prentice Hall, 2004. 311 p.
- BARROS NETO, B. de; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 3 ed.,Campinas: Unicamp, 2007, 480 p.
- BARTOLI, J. R.; COSTA, R. A.; VERDONCK, P.; MANSANO, R. D.; CARREÑO, M. N. Filmes Ópticos poliméricos Fluorados com Índice de Refração Gradual. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 148-155, 1999.
- BAZITO, R. C. **Novos tensoativos derivados da 2-D-Glucosamina**. 2001. 185 p. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIELERLE, P. **Food Chemistry**. 3rd rev. Berlin; New York: Springer, 2004. 1070 p.
- BELLO-PÉREZ, L. A. MONTEALVO, M. G. M.; ACEVEDO, E. A. Almidón: definición, estructura y propiedades. In: LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. **Carbohidratos em alimentos regionales iberiamericano**. São Paulo: Edusp, 2006. cap. 1, p. 17-46.

BENINCA, C. **Emprego de técnicas termoanalíticas na análise de amidos nativos e quimicamente modificados de diferentes fontes botânicas**. 2008. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2008.

BENMOUSSA, M.; SUHENDRA, B.; ABOUBACAR, A.; HAMAKER, B. R. Distinctive sorghum starch granule morphologies appear to improve raw starch digestibility. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 58, p. 92 - 99, 2006.

BILIADERIS, C. G.; The structure and interactions of starch with food. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, Ottawa, v. 69, n. 1, p. 60-78. 1991.

BLAKE, J. D.; CLARKE, M. L. A water-soluble polysaccharides from stand-over cane. Part IV. Studies on the physical properties and origin of sarkaran. **International Sugar Journal**, London, v. 86, p. 276-279, 1984.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. Carboidratos. In _____. **Química do processamento de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2001. cap. 4, p. 47-77.

BOYES, P.N. Quantitative determination of some non-sugars and partial removal of one in particular- starch, **Proceedings of the South African sugar technology association**, Durban, v. 32, p.37-43, 1958.

BRADBURY, G. A.; URQUHART, R. M.; CURTIN, J. H.; McCOWAGE, R. J. The effect of dextran on raw sugar polarization. **Sugar Journal**, New Orleans, v. 48, n. 8, p. 11-13, 1986.

BROWN, C. F.; INKERMAN, P. A.; Specific method for quantitative measurement of the total dextran content of raw sugar. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, Chicago, v. 40, n. 2, p. 227-233, 1992.

CALDAS, C. **Manual de análises selecionadas para indústrias sucroalcooleiras**. Maceió: Sindicato da Indústria do Açúcar e do Alcool no estado de Alagoas no Estado de Alagoas; Cooperativa Regional dos Produtores de Açúcar e de Alcool de Alagoas; Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil (STAB - Regional Leste). 1998. 424 p.

CALDAS, C. **Teoria básica das análises sucroalcooleiras**. Maceió: Central analítica, 2005. 172 p.

CARDOSO, W. S.; PINHEIRO, F. A.; PATELLI, T.; PEREZ, R.; RAMOS, A. M. Determinação da concentração de sulfito para a manutenção da qualidade da cor em maçã desidratada. **Revista Analytica**, São Paulo, v. 29, p. 69-72, 2007.

CEREDA, M. P. (Ed.). **Propriedades gerais do amido**. Campinas: Fundação Cargill, 2001. v.1, 224p. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas).

CHAVES, J. B. P.; PÓVOA, M. E. B. A qualidade da aguardente de cana-de-açúcar. In: MUTT, M. J. R.; ROSA, C. O. B. (Ed.) **Aguardente de cana: produção e qualidade**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p. 93-132.

CHEETAM, N. W. H.; TAO, L. The effects of amylose content on the molecular size of amylose and on the distribution of amylopectin chain length in maize starches. **Carbohydrate Polymers**, Braking, v; 33. p. 251-261, 1997.

CHEFTEL, J. C.; CHEFTEL, H. **Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1992. 333 p.

CLARKE, M. A.; ROBERTS, E. J.; GODSHALL, M. A. Non-starch, soluble polysaccharides of sugar cane. **Proceedings of the South African Sugar Technologist Association**, Durban, v. 60, p. 58-61, 1986.

CLARKE, M. A.; GODSHALL, M. A. Determination of dextran in raw cane sugar by Robert's copper method: Collaborative study. **Journal Association of Analytical Chemists**, Arlington, v.71, n. 2, p. 276-279, 1988.

CLARKE, M. A.; EDYE, L. A.; COLE, F.; KITCHAR, J. L. Sucargane factory trials with dextranase enzyme. **Sugar Journal**, London, v. 60, p. 20-22, 1997.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Avaliação da safra agrícola de cana-de-açúcar**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_08_30_13_41_19_boletim_cana_portugues_-_agosto_2011_2o_lev..pdf>. Acesso em 29 set. 2011.

CONSELHO DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR, AÇÚCAR E ALCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO - CONSECANA. **Manual de instruções**. 5 ed. Piracicaba: CONSECANA, 2006. 112 p.

_____. **Normas de avaliação da qualidade da cana-de-açúcar**. 2004. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/files/Consecana/normasepreços.pdf>>. Acesso em: 27 nov. 2011.

COOPERATIVA CENTRAL DOS PRODUTORES DE AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO - COPERSUCAR. Métodos Analíticos. In: COPERSUCAR. **Manual de Controle Químico da Fabricação do Açúcar**. Piracicaba: Copersucar. 2001, p. 1-57.

COOPERATIVA CENTRAL DOS PRODUTORES DE AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO - COPERSUCAR. **Clarificação**. São Paulo: Centro de Tecnologia Copersucar. 1994. 58p.

CORDENUNSI, B. R. Utilização de novas técnicas de microscopia na caracterização do amido. In: LATOJO, F. M.; MENEZES, E. W. **Carboidratos em alimentos regionais iberoamericano**. São Paulo: Edusp, 2006. cap. 2, p. 49-62.

COSTA, M. C. G. **Distribuição e crescimento radicular em soqueiras de cana-de-açúcar: dois cultivares em solos com características distintas**. 2005. 88 p.

Tese (Doutorado em Agronomia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

CUDDIHY, J. A.; PORRO, M.E.; RAUH, J.S. Improving sugar recovery with sugar process. **International Sugar Journal**, London, v. 99, n. 1178, p. 78 - 84, 1998.

CUDDIHY, J. A.; DAY, D. F. The process and financial impact of dextran on sugar factory. **Sugar Journal**, London, v. 61, n. 10, p. 27-30, 1999.

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 American Society of Sugarcane Technologists**, Bundaberg, v. 21, p.73 - 91, 2001.

DANIELS, J.; ROACH, B. T. Taxonomy and evolution. In: HEINZ, D. J. (Ed.). **Sugarcane improvement breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1987. P. 7-84.

DELGADO, A. A.; CESAR, M. A. A. **Elementos de tecnologia e engenharia do açúcar de cana**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP, v. 2, 1977. 752 p.

DE LA ROSA, R.D. Las Dextranas: su efecto sobre la polarización de la sacarosa y la economía azucareira. **International Sugar Journal**, London, v.100, n.1191S, p.103-106 e p. 143-145, 1998a.

DE LA ROSA, R.D. Las Dextranas: su efecto sobre la polarización de la sacarosa y la economía azucareira II. **International Sugar Journal**, London, v.100, n.1192S, p.198-203, 1998b.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILT, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washingt, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

EGGLESTON, G.; MONGE A. Optimization of sugarcane factory application of commercial dextranases. **Process Biochemistry**, London, v. 40 p. 1881–1894, 2005.

EGGLESTON, G., MONTES, B., MONGE, A. AND GUIDRY, D. Optimization of amylase application in raw sugar manufacture. part II: factory trials. **International Sugar Journal**, London, v. 109, n. 1305, p. 579-584, 2007.

FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3th. New York: Ed. Marcel Dekker, 1996. 1069 p.

FERNANDES, A.C. **Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar**. 2.ed. Piracicaba: STAB, 2003. 204 p.

FIGUEIRA, J. A. **Determinação e caracterização de amido em cana-de-açúcar e adequação de metodologia para determinação de α -amilase em açúcar bruto**.

2009. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2009.

FIGUEIRA, J. A.; CARVALHO, P. H.; SATO, H. H. Sugarcane starch: quantitative determination and characterization. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.31, n. 3, p. 806-815, 2011.

FERNANDES, A. C. **Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar**. 2.ed. Piracicaba: STAB, 2003. 204 p.

FRENCH, D. organization of starch granules. In: WHISTLER, R.L.; BeMILLER, J.N.; PASCHAL, E.F. (Eds.). **Starch: chemistry and technology**. 2.ed. London: Academic Press, 1984. cap.7, p.183 - 247.

FILHO, J. R. A. L. **Estudo comparativo dos métodos de determinação e de estimativa dos teores de fibra e de açúcares redutores em cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 2005. 151 p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

GALLIARD, T.; BOWLER, P. Morphology and composition of starch. In: GALLIARD, T. (Ed.). **Starch: properties and potencial**. Society of Chemical Industry/John Wiley & Sons, 1987. p. 55-78. (Critical reports on applied chemistry, 13).

GARSON, C. A. Control of harvester base cutter height. **Proceedings of Australian Society of Sugar Cane Technologists**, Townsville, v.1, p.156-162, 1992.

GODSHALL, M.A., CLARKE, M.A.; DOOLEY, C.D. Starch: process problems and analytical developments. In: SUGAR PROCESSING RESEARCH CONFERENCE, 1991, São Francisco. **Proceedings...** São Francisco: Agricultural Research Service, 1991. p. 244-264.

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.

GOMES, J. F. F. **Produção de colmos e exportação de macronutrientes primários por cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 2003. 65 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

GONÇALVES, M. F. V. **Tratamento térmico dos amidos de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) e mandioquinha salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) sob baixa umidade em micro-ondas**. 2007. 91 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

GUGLIELMONE, C.D.; DIEZ, O.; CARDENAS, G.; OLIVER, G. Sucrose utilization and dextran production by *Leuconostoc mesenteroides* isolated from the sugar industry. **Sugar Journal**, New Orleans, v.62, p.36-40, 2000.

HAMERSKI, F. **Estudo de variáveis no processo de carbonatação do caldo de cana-de-açúcar**. 2009. 149p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

HIRSCH, J. B.; KOKINI, J. L. Understanding the Mechanism of Cross-Linking Agents (POCl_3 , STMP, and EPI) Through Swelling Behavior and Pasting Properties of Cross-Linked Waxy Maize Starches. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 79, n. 1, p. 102-107, 2002.

HONIG, P. **Principles of sugar technology**. New York: Elsevier Publishing Company, v. 1, 1953. 767 p.

HOOVER, R.; VASANTHAN, T. Effect of heat moisture treatment on the structure and physicochemical properties of cereal, legume and tuber starches. **Carbohydrate research**, New York, v. 252, p. 33-53, 1994.

HOOVER, R.; RATNAYAKE, W. S. Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. Food Chemistry, **London**, v. 78, p. 489-498, 2002.

HOSENEY, R. C. Starch. In: HOSENEY, R. C. **Principles of cereal: science and technology**. 2nd ed. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1994. Chap. 2, p. 29-64

IZIDORO, D. R. **Influência do pré-tratamento com ultra-som e da secagem nas propriedades químicas, físicas e funcionais do amido de banana verde**. 2011. 201 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

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

JANE, J.; CHEN, Y. Y.; LEE, L. F.; MCPHERSON, A. E.; WONG, K. S.; RADOSAVLJEVIC, M.; KASEMSUWAN, T. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 76, p. 629–637, 1999.

JAYAKODY, J. A. L. P. **The effect acid hydrolysis on granular morphology and physicochemical properties of native cereal starch granules**. 2001. 141 p. Thesis (Master of Science) - Memorial University of Newfoundland, Newfoundland, 2001.

JENKINS, P. J.; DONALD, A. M. Gelatinization of starch: a combined SAXS/WAXS/DSC and SANS study. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 308, p. 133–147, 1998.

JI, I.; SEETHARAMAN, K.; WHITE, P.J. Optimizing a small-scale corn starch extraction method for use in laboratory. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.1, n.81, p.55-58, 2004.

JIMÉNEZ, E. R. The dextranase along sugar-making industry. **Biotecnologia aplicada**, La Habana, v. 22, n.1, p. 20-27, 2005.

JIMÉNEZ, E. R. Dextranase in sugar industry: A review. **Sugar Tech**, New Delhi, 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. **Resumos...** 1989. New Orleans: Midland Research publication, 1989. p. 7-11.

JULIANO, B. O. A simplified assay for milled-rice amylose. **Cereal Science Today**, Minneapolis, v. 16, n.10, p. 334-340, 1971.

KAMPEN, W. H.; TAN, Q.; CUDDIHY, J.A. JR . The action of alpha amylase on sugar cane starch. In: AMERICAN SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 1998, St. Petersburg. **Proceedings...** St. Petersburg: Midland Research publication, 1998. p. 17-19.

LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. **Carboidratos em alimentos regionais Iberoamericanos**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2006. 648p.

LELIEVRE, J. A. A comparasion of the cristallinity of spherical and lenticular starch granules isolated from wheat grains. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 27, p. 2-3, 1975.

LIMA, U. de A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. Produção de etanol. In: AQUARONE, E.; LIMA, U. de A.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. (Coord.). **Processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 3, cap. 1. (Série Biotecnologia Industrial).

LIU, H.; XIE, F.; CHEN, L.; YU, L.; DEAN, K.; BATEMAN, S. Thermal behavior of high amylase corn starch studied by DSC. **International Journal of Food Engineering**, Berkeley, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2005.

LOBO, A. ; SILVA, G. M. L. Amido resistente e suas proriiedades físico-químicas. **Revista de nutrição**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 219-223, 2003.

LOPES, G. H. **Glossário de termos técnicos para a indústria sucroalcooleira**. Piracicaba: IAA/PLANALSUCAR, 1986. 32 p.

LOPES, C. H. **Manual de controle de qualidade de açúcar da Sucral**. São Carlos: [s.n],1993. 62p.

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.

MARIGHETO, N.; WRIGHT, K.; HILLS, B. P. NWR Protocol for on-line Brix determination. **Applied magnetic Resonance**, Vienna, v. 30, p. 13-23, 2006.

MARTIM, L. F. The complex organic nonsugars of high molecular weight. In Honing, Pieter, ed. **Principles of sugar technology**. Amsterdam, Elsevier, v.1, p.178-195, 1959.

MCGUIRE, R. G. Reporting of objective color measurements. **Horticultural Science**, Alexandria, v.27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.

MEADE, G. P; CHEN, C. P. **Cane Sugar Handbook**: a manual for Cane Sugar Manufacturers and their Chemists, 10 th. New York: John Wiley and Sons, 1977. 947 p.

MEGAZYME INTERNATIONAL IRELAND LIMITED. **Amylose/amylopectin**: assay procedure. Wicklow, 2006. 11p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. **Cana-de-açúcar**, 2010. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 30 set. 2011.

_____. 2008. Disponível em:<<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: Acesso em 03 jun. 2008.

MIRANDA, M. R. da S. **Bagaço do sorgo**: estimativa de parâmetro cinéticos e pirólise analítica. 2011. 88 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

MORGANO, M. A. **Aplicação de métodos quimiométricos em análise de alimentos**. 2005. 110 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MOZAMBANI, A. E.; PINTO, A. S.; SEGATO, S. V.; MATTIUZ, C. F. M. História e morfologia da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. (Orgs). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba, 2006. p. 11-18. (Cadernos PLANALSUCAR. 2).

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

NARA, S.; KOMIYA, T. Studies on the relationship between water saturated state and crystallinity by the diffraction method for moistened potato starch. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.35, p. 407-410, 1983.

NELSON, O.; PAN, D. Starch synthesis in maize endosperms. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 46, p. 475-496, 1995.

NETO, R. B. Raio-X. In. CANEVAROLO JR., S.V., (Eds.). **Técnicas de Caracterização de polímeros**. São Paulo: Artiber Editora, 2003. p.41-60.

OITICICA, J. E. R.; BRAS, L. M. J.; CORREIA, M. M. M. **Manual de técnicas de laboratório e fabricação de açúcar de cana**. Rio de Janeiro: Coleção Canavieira, n. 18, 1975. 359 p. (Coleção Canavieira, 18).

OLIVEIRA, F. M. Consumo Humano do Sorgo na Propriedade Agrícola. Sorgo, Uma Opção Agrícola. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, n. 144, p. 11 - 13, 1986.

OLIVEIRA, A. S.; RINALDI, D. A.; TAMANINI, C.; VOLL, C. E.; HAULY, M. C. O. Factors that interfere in dextran production by sugarcane contaminating microorganismos. **Semina - Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 99-104, 2002.

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

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

PARKER, R.; RING, S. G. Aspects of the physical chemistry of starch. **Journal of Cereal Science**, New York, v. 34, n. 1, p. 1-17, 2001.

PERONI, F. H. G. **Características estruturais e físico-químicas de amido obtido de diferentes fontes botânicas**. 2003. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São José do Rio Preto, 2003.

PERONI, F. G. H.; ROCHA, T. S.; FRANCO, C. M. L. Some Structural and Physicochemical Characteristics of Tuber and Root Starches. **Food Science and Technology International**, London, v. 12, n. 6, p. 505-513, 2006.

POLESI, L. F.; SARMENTO, S. B. S.; ANJOS, C. B. P. Composition and characterization of pea and chickpea starches. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 74-81, 2011.

PÚGLIA, A. L. **Desempenho de leveduras selvagens com potencial de produção de enzimas amilolíticas em processo fermentativo**. 2006. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 2006. Disponível em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bja/3300410270P6/2006/puglia_al_me_jabo.pdf>. Acesso em: 10 Jun. 2010.

RAPHAEL, E. **Eletrólitos sólidos a base de amidos de mandioca: nativo, acetilado e oxidadoacetilado**. 2006. 110 p. Dissertação (Mestrado em Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

RAVANELI, G. C.; MUTT, M. A.; MUTT, M. J. R. Efeitos do desponte e das épocas de colheita sobre parâmetros tecnológicos em cana-de-açúcar. **Científica**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 185-190, 2004.

RAVNO, A. B.; PURCHASE, B. S. Dealing with dextran in the South African Sugar Industry. **Proceedings of the South African Sugar Technologists Association**, Durban, v. 79, p. 28-47, 2005.

RICKARD, J. E.; BEHN, K. R. Evaluation of acid and enzyme hydrolytic methods for the determination of cassava starch. **Journal of Science of Food and Agriculture**, London, v.41, n.4, p.373-379, 1987.

ROBERTS, E. J. A quantitative method for dextran analysis. **International Sugar Journal**, London, v.85, p.10-13, 1983.

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

ROBIN, J. P.; MERCIER, C.; CHARBONNIÉRE, R.; GUILBOT, A. Lintnerized starches. Gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.51, p.389- 406, 1974.

ROCHA, T. S.; DEMIATE, I. M.; FRANCO, C. M. L. Características estruturais e físico-químicas de amidos de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 620-628, 2008.

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

ROSENTHAL, F. R. T.; MELLO, A. P.; PELEGRINI, S. L.; NAKAMURA, T. Amidos de mandioca. 2. estudos de estrutura, em variedades de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Tecnologia**, Brasília, v.4, p.7-17, 1973.

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.

RIPOLI, T. C. C.; RIPOLI, M. L. C. **Biomassa de cana-de-açúcar**: colheita, energia e ambiente. Piracicaba: Barros & Marques Ed. Eletrônica, 2004. 302 p.

SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Resistent starch - A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 5, n.1, p. 17, 2006.

SAS INSTITUTE INC. **SAS® software version 9.2 (2009)**, Cary: SAS Institute Inc.Cary.

SCHOONEES-MUIR, B. M. Dosing of starch hydrolysing enzymes into a diffuser. **Proceedings of the South African Sugar Technologists Association**, Durban, v. 81, p. 145 - 153, 2008.

SIGMA QUALITY CONTROL TEST PROCEDURE. Disponível em:
<http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/Enzyme_Assay/a3176enz.Par.0001.File.tmp/a3176enz.pdf>. Acesso em: 06 dez. 2011.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, S. N.; GILL, B. S. Morphological, Thermal and Rheological Properties of Starches from Different Botanical Sources. **Food Chemistry**, London, v. 81, n. 2, p. 219-231, 2003.

SINGH, N.; SANDHU, K.S.; KAUR, M. Characterization of starches separated from Indian chickpea (*Cicerarietinum* L.) cultivars. **Journal of Food Engineering**, London, v. 63, n. 4, p. 441 - 449, 2004.

SINGLET, V. Review article: Advances in techniques of dextran analysis – A modern day perspective. **International Sugar Journal**, Glamorgan, v.104, p. 132–136, 2002.

SINGLET, V.; HORN, J.; BUCKE, C.; ADLARD, M. A New Polarimetric Method for the Analysis of dextran and sucrose. **Journal American Society of Sugarcane Technologists**, Canal Point, v. 103, n. 1230, p.251-254, 2001.

SOLIMAN, El-S. A. A-R. **Investigations on the influence of dextran during beet sugar production with special focus on crystal growth and morphology**. 2007. 109 p. Tese (Doutorado em Engenharia) - Universidade Técnica de Berlin, Berlin, 2007.

SOMOGY, M. A new reagent for the determination of sugars. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.160, n.1, p.61-68, 1945.

SONG, Y.; JANE, J. Characterization of barley starches of waxy, normal and high amylose varieties. **Carbohydrates Polymers**, Barking, v, 41, p. 365-377, 2000.

SOUZA, J. **Estudo da eficiência de alguns polielitrólitos 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.

SPENCER, C. L.; MEADE, G. P. **Manual del azúcar de caña**. 9 ed. Montaner y Simon: Barcelona, 1967. 940 p.

SRICHUWONG, S.; SUNARTI, T. C.; MISHIMA, T.; ISONO, N.; HISAMATSU, M. Starches from different botanical sources I: Contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 60, n. 4, p. 529-538, 2005.

STEVENSON, J. C.; WHAYMAN, E. Cane Starch. Part I. Isolation and iodine affinity. **International Sugar Journal**, London, v. 78, p. 44-46, 1976.

TANIMOTO, T. The press method of cane analysis. **Hawaiian Planter's Record**, Aiea, v.57, p.133-150, 1964.

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

TESTER, F. R; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches.I. effects of amylopectin, amylose, and lipids. **American Association of Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 67, p. 551-557,1990.

TROST, L. W.; STEELE, F. M. Control of microbiological losses prior to cane delivery and during sugar processing. **International Sugar Journal**, London, v. 104, n. 1239, p.118-123, 2002.

VIGNEAU, E.; LOISEL, C.; DEVAUX, M.F.; CANTI, P. Number of articles for the determination of size distribution from microscopic images. **Powder Technology**, New York, v.107, n.3, p. 243-250, 2000.

VIGNES, E. C. Notes on Cane Starch and its Determinations. In: CONGRESS OF INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 15., 1974, Hawaii. **Proceedings**... Hawaii: Hayne and Gibbon Limited, 1974. p. 1288-1295.

WHAYMAN, E.; WILLERSDORF, A. L. Cane Starch - Part II - Starch components and their iodine complex spectra. **International Sugar Journal**, London, v. 78, n. 927, p. 67-68, 1976.

WILCOX, D.; DOVE, B.; McDAVID, D.; GREER, D. **Image tool for Windows, version 3.0**. San Antio: The University of Texas, Health Science Center, 2002.

WOOD, G. H. Some factors influencing starch in sugarcane. **Proceedings of the South Africa Sugar Technologists Association**, Durban, v. 36, p. 123-134, 1962.

YONEMOTO, P. G. **Efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas do amido de trigo**. 2006. 101p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", São José do Rio Preto, 2006.

YONEMOTO, P. G.; CALORI-DOMINGUES, M. A.; FRANCO, C. M. L. Efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas do amido de trigo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p.761-771, 2007.

ZHANG, P.; WHISTLER, R.L.; BEMILLER, J.N.; HAMAKER, B.R. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility – a review. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 59, p. 443-458, 2005.

ZHANG, G.; HAMAKER, B. R. Low-amylase starch digestibility of cooked sorghum flours and the effect of protein. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.75, n. 5, p. 710-713, 1998.

ZHONG, Z; SUN, S. Thermal characterization and phase behaviour of cornstarch studied by differential scanning calorimetry. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.69, p. 453-459, 2005.

ZHOU, M.; ROBARDS, K.; GLENNIE-HOLMES, M.; HELLIWELL, S. Structure and Pasting Properties of Oat Starch. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 75, n. 3, p 273-281, 2002.

ZHOU, M. M.; KIMBENG, C. A.; EGGLEST, 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**, London, v. 26, n. 3, 2008.

ZHOU, M. M.; KIMBENG, C. A.; EDME, S.; HALE, A.; EGGLEST, G. Sustainability of Low Starch Concentrations in Sugarcane Through Short Term Optimized Amylase and Long Term Breeding Strategies. In: EGGLEST, G. (Ed.). **Sustainability of the Sugar and Sugar Ethanol Industries**. Washing: American Chemical Society, p. 229-250, 2010.

ZOBEL, H.F. X-ray analysis of starch granules In: Whistler, R.L. (Ed.). **Methods in carbohydrates chemistry**. New York: Academic Press, 1964. v. 4, chap. 29, p. 109-143.

ZOSSI, S. B.; CÁRDENAS, G. J.; SOROL, N.; SASTRE, M. Y. Influencia de compuestos azúcares y no azúcares en la calidad industrial de caña de azúcar en Tucumán (R. Argentina). Parte 1: caña limpia y despuntada. **Revista Industrial y Agrícola de Tucumán**, Tucumán, v. 87, n. 1, p. 15-27, 2010.