

UFRRJ

INSTITUTO DE TECNOLOGIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO

**Influência de Polissacarídeos na Qualidade do Processo de
Produção de Refrigerante**

Roberta Santos de Brito

2014



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**INFLUÊNCIA DE POLISSACARÍDEOS NA QUALIDADE DO
PROCESSO DE PRODUÇÃO DE REFRIGERANTE**

ROBERTA SANTOS DE BRITO

Sob a Orientação da Professora
Cristiane Hess de Azevedo-Meleiro

e Co-orientação do Doutor
André de Souza Dutra

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ

Março de 2014

663.62

B862i

T

Brito, Roberta Santos de, 1982-

Influência de polissacarídeos na qualidade do processo de produção de refrigerante / Roberta Santos de Brito - 2014.

54 f.: il.

Orientador: Cristiane Hess de Azevedo-Meleiro.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 47-51.

1. Refrigerantes - Indústria - Teses.
2. Refrigerantes - Análise - Teses. 3. Polissacarídeos - Teses. I. Azevedo-Meleiro, Cristiane Hess de, 1972-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos . III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

ROBERTA SANTOS DE BRITO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 11/03/2014

Cristiane Hess de Azevedo-Meleiro (Dra.) - UFRRJ
(Orientador)

Mônica Marques Pagani (Dra.) - UFRRJ

Antonio Gomes Soares (Dr.) - EMBRAPA

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a todos aqueles que acreditaram em mim, apoiaram e incentivaram ao longo da caminhada.

Dedico em especial a minha mãe, Eny, por acreditar incondicionalmente em mim e ao meu marido, Marcos Vinícius, pelo amor, incentivo e paciência.

AGRADECIMENTOS

À DEUS por ter permitido que eu realizasse mais esse sonho, por ter concedido força para eu lutar e chegar até o final desse trabalho e por ter colocado pessoas tão especiais na minha vida.

À minha amada mãe, Eny, meu padastro, João, meu irmão, Cleber e meu marido, Marcos Vinicius, pelo amor, suporte e dedicação.

Aos meus amados sobrinhos, Claytom e Guilherme, pelo amor, carinho e alegria, mesmo na minha constante ausência pela dedicação a este trabalho.

À Cecília Lafayette, Andréa Castro e Luciana Salles, pelo incentivo, apoio e compreensão.

A minha equipe de trabalho pelo suporte nos momentos em que estive ausente e, em especial, a Ana Carolina, pela ajuda na realização das análises.

À minha orientadora Cristiane, pelo incentivo, apoio e paciência em todos os momentos, e principalmente pelo carinho e amizade durante todos esses anos.

À minha amiga e professora, Denise Perdomo, que sempre me socorreu em momentos de dificuldades.

Aos meus amigos de turma, em especial à Eliana Gulão, Daniele Amaral e Junior Lemos que me ajudaram muito durante essa jornada. Sem vocês tudo teria sido mais difícil.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de realizar o curso.

RESUMO

BRITO, Roberta Santos de. **Influência de polissacarídeos na qualidade do processo de produção de refrigerante**. 2014. 47p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

A presença de polissacarídeos como o amido e a dextrana no açúcar proporciona diversos problemas para as usinas de açúcar e indústrias de bebidas. O principal problema apontado por estes polissacarídeos é o aparecimento de flocos ou precipitados, relatados em refrigerantes, cachaça e balas. O objetivo desse estudo foi avaliar a influência do amido e da dextrana no processo de formação de flocos ácidos em refrigerantes dos sabores cola e uva. As matérias-primas utilizadas foram: açúcar cristal, xarope simples, xarope final e refrigerante. Foram realizadas as análises de determinação de amido e dextrana, cor, turbidez, potencial floco, bactérias lácticas e floco ácido. A amostragem ocorreu mensalmente por um período de três meses e foi realizada diretamente na linha de produção durante diferentes épocas do ano. Para verificar a concentração de amido e/ou dextrana que pode levar a formação do floco, ensaios com a adição de diferentes concentrações destes polissacarídeos em refrigerantes sem adição de açúcar (*diet*), foram simulados e avaliados mensalmente por período de 180 dias. Na determinação de amido 40% das amostras de açúcar e 47% das amostras de xarope simples, xarope final e refrigerante apresentaram resultados abaixo do limite de detecção do método. O maior valor encontrado de amido foi $187,70 \pm 13,17$ mg/L. Na quantificação de dextranas 47% das amostras de açúcar, 53% das amostras de xaropes simples e final e 40% das amostras de refrigerante encontraram-se teores abaixo do limite de detecção do método. A maior concentração de dextrana encontrada foi $71,86 \pm 8,62$ mg/L. Todas as amostras apresentaram resultado de cor dentro das especificações de recebimento de açúcar cristal para indústria de refrigerantes, o maior e menor valor encontrado foram $171 \pm 9,2$ UI e $74 \pm 1,4$ UI, respectivamente. Os valores encontrados de turbidez não mostraram correlação com as concentrações de amido e dextrana. Todas as amostras apresentaram resultado negativo na análise de potencial floco. Entretanto, algumas amostras apresentaram turvação. Todas as amostras de açúcar analisadas apresentaram ausência de bactérias lácticas. A análise de floco ácido apresentou resultado negativo nas amostras com resultados de dextrana e amido abaixo do limite de detecção dos métodos. Nenhuma amostra com resultado positivo ocorreu formação de floco ácido antes do período de estocagem de 30 dias. Nas amostras de refrigerante do sabor uva, diferentemente das demais que eram do sabor cola, observou-se forte presença de floco ácido desde os 60 dias após sua produção. Todas as amostras do ensaio realizado com diferentes concentrações de amido apresentaram resultado positivo para a presença de floco ácido. No ensaio com dextrana não ocorreu precipitação no período avaliado nas concentrações de 75 e 100 ppm. Os resultados indicam que o amido e/ou dextrana influenciam diretamente na formação floco ácido em refrigerante e sem a presença destes polissacarídeos não há ocorrência de precipitados na bebida, todavia apenas estes polissacarídeos não são os responsáveis pelo defeito sensorial. O amido exerceu maior influência do que as dextranas no surgimento do floco ácido. O desenvolvimento do floco ácido depende dos componentes da formulação da bebida.

Palavras-chave: Dextrana, Amido, Floco ácido.

ABSTRACT

BRITO, Roberta Santos de. **Influence of polysaccharides in quality soft drink production process**. 2014. 47p. Dissertation (Master in Science and Food Technology). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

The presence of polysaccharides as starch and dextran in sugar provides many problems for the sugar mills and beverages industries. The main problem identified by these polysaccharides is appearance of floc or precipitated, reported in soft drinks, cachaça and candy. The aim of this study was to evaluate the influence of starch and dextran in the process of formation of acids flocs in cola and grape flavors soft drink. The raw materials were used: crystal sugar, simple syrup, final syrup and soft drink. The analyzes were: determination of starch and dextran, color, turbidity, floc potential, count of lactic acid bacteria and acid floc. Sampling occurred monthly for a period of three months and was performed directly on the production line during different seasons. To measure the concentration of starch and/or dextran which can lead to formation of flocs, tests with the addition of different concentrations of these polysaccharides without added sugar soft drink (diet) were simulated and evaluated monthly for a period of 180 days. In the determination of starch 40% samples of sugar, 47% simple syrup, final syrup and soft drink presented results below of the detection limit method. The largest starch concentration was 187.70 ± 13.17 mg/L. In the measurement of dextrans 47% samples sugar, 53% samples of simple and final syrups and 40% samples of soft drink were found concentrations below of the limit of detection. The highest dextran concentration was 71.86 ± 8.62 mg/L. All samples presented results in color within the specifications of receipt of crystal sugar to the soft drink industry, the largest and lowest were found 171 ± 9.2 UI and 74 ± 1.4 UI, respectively. The turbidity values hadn't correlation with the concentrations of starch and dextran. All samples were negative in the analysis of floc potential. However, some samples showed turbidity. All samples analyzed showed negation of lactic acid bacteria. The acid floc analysis showed negative results in samples with dextran and starch below of limit detection methods. No samples with positive results occurred acid floc formation before storage period of 30 days. In samples of grape soft drink, unlike others which were cola flavor, noticed strong presence of acid floc since 60 days after of production. All samples from the trial with different starch concentrations had result positive for presence of acid floc. In dextran assay didn't have precipitation during the period evaluated at concentrations of 75 and 100 ppm. The results indicate that starch and/or dextran directly influence the acid beverage floc formation and without the presence of these polysaccharides there isn't occurrence of precipitates in the drink, but only these polysaccharides aren't responsible for the sensory defect. Starch had more influence than the dextrans in the presence of acid floc. The development of acid floc depends of the components in formulation of the beverage.

Keywords: Dextran, Starch, Acid floc.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Identificação das amostras por safra de cana-de-açúcar.	26
Tabela 2. Descrição das análises por amostra.	27
Tabela 3. Soluções para preparação da curva de calibração de análise de amido.	28
Tabela 4. Soluções para preparação da curva de calibração de análise de dextrana.	29
Tabela 5. Ensaio com contaminantes.	32
Tabela 6. Resultados das análises de amido das amostras testadas.	33
Tabela 7. Resultados das análises de dextrana das amostras testadas.	34
Tabela 8. Resultados das análises de cor das amostras de açúcar cristal.	36
Tabela 9. Resultados de turbidez das amostras testadas.	38
Tabela 10. Resultados do ensaio de potencial floco no açúcar cristal.	39
Tabela 11. Avaliação da formação de floco ácido em refrigerantes.	40
Tabela 12. Resultados do ensaio 1 de formação de floco ácido em refrigerantes.	42
Tabela 13. Resultados do ensaio 2 de formação de floco ácido em refrigerantes.	42
Tabela 14. Resultados do ensaio 3 de formação de floco ácido em refrigerantes.	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Divisão por sabores no mercado brasileiro de refrigerantes	11
Figura 2. Diagrama esquemático da produção de refrigerantes.	12
Figura 3. Diagrama esquemático da produção de açúcar.	13
Figura 4. Estrutura da amilose.	17
Figura 5. Estrutura da amilopectina.	18
Figura 6. Estrutura química da dextrana.	19
Figura 7. Precipitados de dextrana em aguardente.	22
Figura 8. Diagrama esquemático do processo.	25
Figura 9. Efeito da dextrana na cor do açúcar.	37

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

ABF	<i>Acid Beverage Floc;</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists;</i>
°C	grau Celsius;
Da	Dalton;
g	grama;
ICUMSA	<i>International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis;</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization;</i>
ISP	<i>Indigenous Sugarcane Polysacharide;</i>
Kg	kilograma;
µm	micrometro;
mL	mililitro;
mg/kg	miligrama por kilo;
mg/L	miligrama por litro;
MOPS	cido morfolinopropanosulfônico;
nd	não detectado;
nm	nanmetro;
NTU	Unidade nefelométrica de turbidez;
P.A.	Padrão Analítico;
PET	politereftalato de etileno;
ppm	parte por milhão;
TCA	cido Tricloroacético;
UFC	Unidade Formadora de colnia;
UI	Unidade ICUMSA;
UNICA	Uno da Agroindústria Canavieira de São Paulo;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
1.1 Objetivo Geral	10
1.2 Objetivos Específicos	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Refrigerante	11
2.2 Açúcar	12
2.3 Cana-de-Açúcar	15
2.4 Amido	17
2.5 Dextranas	18
2.6 Problemas Tecnológicos	21
2.7 Soluções Tecnológicas	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Material	24
3.2 Açúcar Cristal	24
3.3 Xarope Simples e Final e Refrigerante	24
3.4 Reagentes	24
3.5 Instrumentação	24
3.6 Métodos	25
3.6.1 Pontos de amostragem	25
3.6.2 Análises físico-químicas	27
3.6.3 Análise microbiológica	31
3.6.4 Análise sensorial	31
3.6.5 Ensaio	31
3.6.6 Tratamento de dados	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 Análises Físico-Químicas	33
4.1.1 Quantificação de amido	33
4.1.2 Quantificação de dextrana	34
4.1.3 Cor	35
4.1.4 Turbidez	37
4.1.5 Potencial de flocos	38
4.2 Análise Microbiológica	40
4.2.1 Contagem de bactérias lácticas	40
4.3 Análise Sensorial	40
4.3.1 Floco ácido	40
4.4 Ensaio	42
4.5 Aplicação Prática	44
5 CONCLUSÃO	45
6 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS	46
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1 INTRODUÇÃO

Os padrões de qualidade atuais nas indústrias exigem que os alimentos e bebidas, em geral, possuam uma qualidade definida e não apresente qualquer risco para a saúde dos consumidores. No entanto, além do cumprimento da legislação, as indústrias alimentícias estão preocupadas com sua imagem e reputação perante o consumidor e, por isso, vêm procurando cada vez mais caminhos para assegurar também a qualidade sensorial de seus produtos.

Na indústria de bebidas carbonatadas um defeito sensorial que ocorre é a formação de precipitados, denominados flocos ácidos, que apesar de não nocivos à saúde, conduzem a associação por parte do consumidor a falhas higiênicas e contaminação do produto ao longo do processo produtivo. Tais precipitados ocorrem em virtude da presença de polissacarídeos, como o amido e a dextrana, oriundos do açúcar, utilizado no processo de produção de refrigerantes.

No açúcar o amido, abundante no topo do colmo e nas folhas de cana-de-açúcar, é inevitavelmente incorporado na cana-de-açúcar durante a colheita. Contudo, seu conteúdo no açúcar depende de diversos fatores, como: variedade da cana, ocorrência de doenças na cana, maturidade e condições de processamento.

Dextrana é o nome genérico dado aos polissacarídeos da glicose produzidos a partir de sacarose. Seu conteúdo no açúcar é proveniente da presença da enzima dextrana-sacarase produzida principalmente por bactérias do gênero *Leuconostoc* que, através da sua penetração no colmo, contamina a cana-de-açúcar e permite a sua formação. O índice de contaminação da cana é influenciado por diversos elementos, como: clima, variedade da cana e tipo de colheita. Este índice pode ser incrementado pós-colheita, visto que as características de higiene da usina, tempo decorrente entre a colheita e processamento e o tamanho das pilhas de cana também possibilitam a contaminação e multiplicação microbiológica.

Além da percepção negativa diante do consumidor, a existência de amido e dextranas e a consequente formação de precipitados em bebidas podem acarretar em prejuízos econômicos na indústria.

O estudo sobre a presença de amido e dextranas no açúcar e a correlação com o desenvolvimento de precipitados no refrigerante durante sua vida útil contribuirá para melhorar a qualidade em bebidas ácidas carbonatadas e controlar as perdas de processo.

1.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência do amido e da dextrana, presentes no açúcar, no processo de formação de flocos ácidos em bebidas ácidas carbonatadas.

1.2 Objetivos Específicos

Avaliar a participação do amido e da dextrana nas principais etapas do processo de produção de bebidas ácidas carbonatadas, associando seus conteúdos com o surgimento de flocos ácidos no produto final.

Correlacionar a presença de dextranas com a cor, turbidez, contagem de bactérias lácticas e potencial floco do açúcar cristal. E associar o teor de amido com a turbidez e o potencial floco do açúcar.

Avaliar a quantidade mínima de amido e/ou dextrana capaz de produzir floco ácido no refrigerante utilizando ensaios de simulação da precipitação em refrigerante *diet* (ensaio branco).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Refrigerante

A indústria brasileira de refrigerantes possui considerável importância para economia nacional, tendo cerca de 830 fábricas produtoras de refrigerantes no país. Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes (ABIR, 2010), são produzidos, por ano, cerca de 16 bilhões de litros, valor que coloca o país na posição de terceiro maior produtor mundial. Os sabores mais conhecidos e consumidos no Brasil são os de cola, guaraná, laranja, uva e limão, sendo o refrigerante de sabor cola o preferido com consumo de 52% do total. A Figura 1 representa a divisão de refrigerantes por sabor no mercado brasileiro.

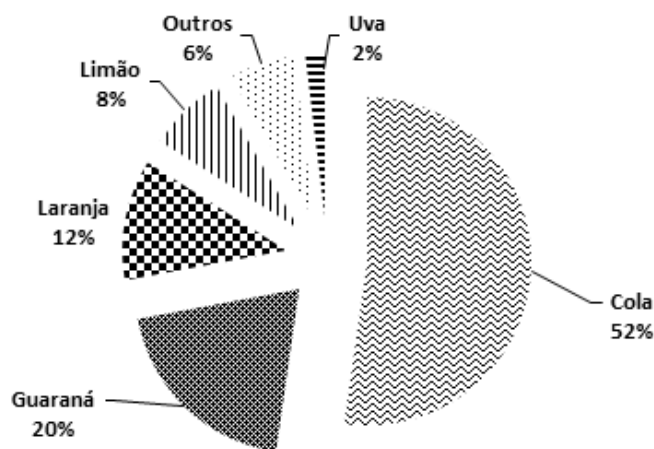


Figura 1. Divisão por sabores no mercado brasileiro de refrigerantes

Refrigerante é a bebida gaseificada, obtida pela dissolução, em água potável, de suco ou extrato vegetal de sua origem, adicionada de açúcar. A composição básica do refrigerante de cola deve conter noz de cola ou extrato de noz de cola, açúcar (sacarose) que poderá ser substituída total ou parcialmente por sacarose invertida, frutose, glicose e seus xaropes, água que atenda, obrigatoriamente, às normas e os padrões de potabilidade da água, aprovadas em legislação específica e dióxido de carbono que deverá ser industrialmente puro e na quantidade mínima dissolvida de 1,0 volume de dióxido de carbono (BRASIL, 2009).

O açúcar é o segundo ingrediente em quantidade no refrigerante. Confere o sabor adocicado, “encorpa” o produto e, juntamente com o acidulante, fixa e realça o paladar. A sacarose, dissacarídeo não-redutor de fórmula empírica $C_{12}H_{22}O_{11}$, é o açúcar comumente utilizado devido às suas propriedades sensoriais, excelente disponibilidade e baixo custo de produção (LIMA; AFONSO, 2009; CÂNDIDO; CAMPOS, 1996).

Na produção de refrigerante, o açúcar serve como base para a confecção do xarope simples. Este é obtido por meio da diluição do açúcar em água a temperatura final de 85°C por 20 minutos (GUBOLINO, 2007). A concentração varia entre 55 e 64% m/m (RODRIGUES et al, 2000). O xarope obtido é tratado com carvão ativado, com contato mínimo de 15 minutos, para a retirada de cor e odores. É adicionada, como elemento filtrante, terra diatomácea para auxiliar na retirada do carvão e fornecer brilho. O xarope simples então é corrigido com água decaída para 60°Brix e adicionado dos aditivos, formando o xarope denominado composto. O xarope composto é resfriado e diluído em água com posterior

injeção de gás carbônico (CO₂) na concentração desejada para obtenção da bebida final (GUBOLINO, 2007). Geralmente, refrigerante tipo cola tem níveis maiores de carbonatação (3-4 v/v) e sabores de frutas tendem a ter níveis mais baixos (2,5-2,8 v/v) (SCHACHMAN, 2005). O diagrama esquemático do processo de produção de refrigerantes é apresentado na Figura 2.

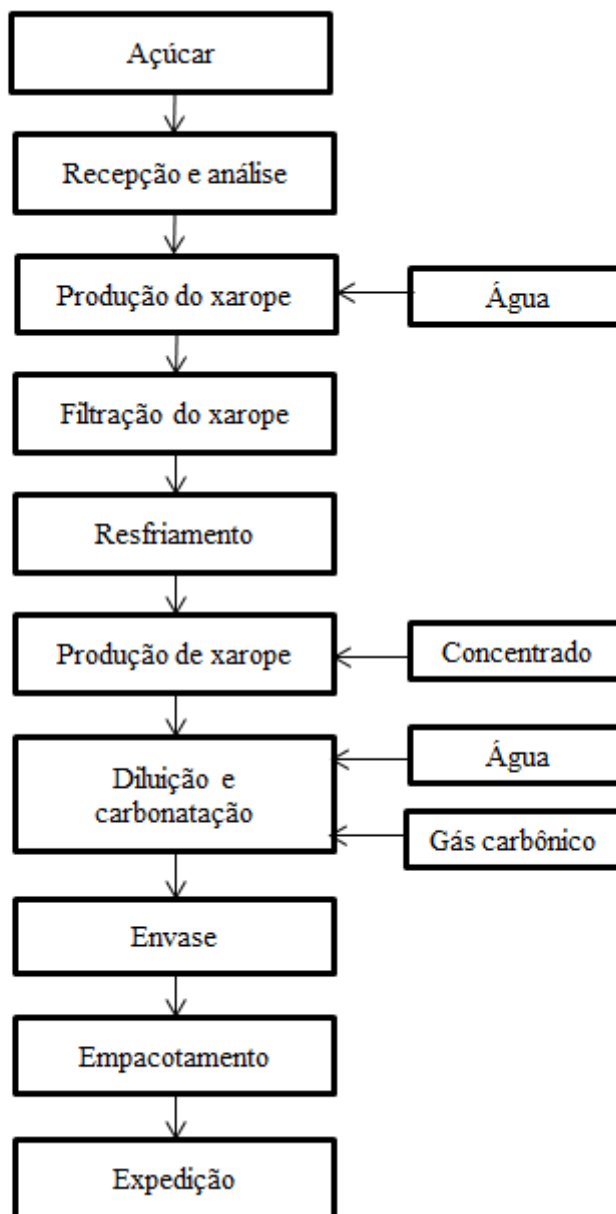


Figura 2. Diagrama esquemático da produção de refrigerantes.
Fonte: GUBOLINO, 2007.

2.2 Açúcar

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da resolução nº 271 de 2005 define o açúcar como a sacarose obtida a partir do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum L.*) ou de beterraba (*Beta alba L.*).

A produção de açúcar é obtida do caldo da primeira e segunda moagem, os quais são mais ricos em sacarose. O processo consiste em um tratamento químico para purificação,

seguido de evaporação e cozimento. Neste ponto, a sacarose já está cristalizada. Em uma centrífuga os cristais de açúcar são separados do melaço, o qual posteriormente pode ser fermentado para a produção de etanol. Os cristais passam por secadores, são peneirados e armazenados. São quinze horas de processamento entre a chegada da cana na usina e o armazenamento do produto final. Cada tonelada de cana produz aproximadamente 120 quilos de açúcar. O produto é empacotado para comercialização e o açúcar para fins industriais é acondicionado em embalagens de grande porte tipo big-bag. O diagrama esquemático do processo de produção de açúcar é apresentado na Figura 3 (UNICA, 2012).

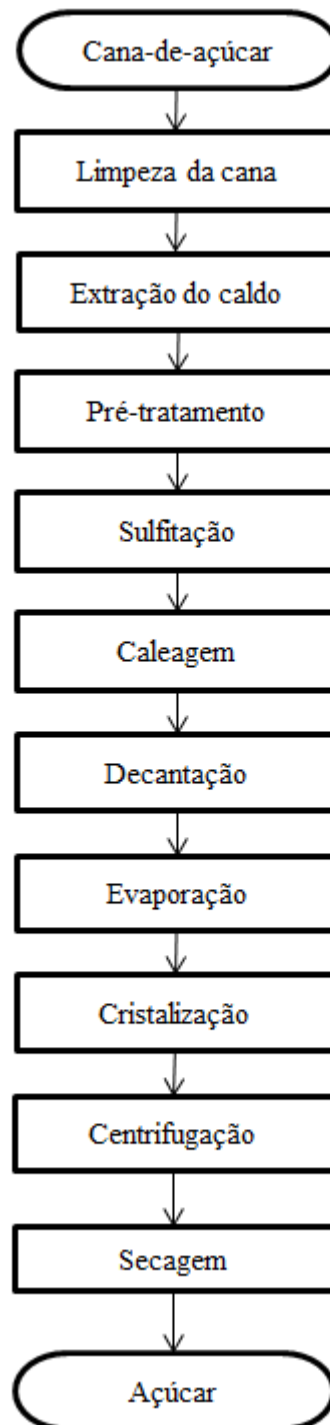


Figura 3. Diagrama esquemático da produção de açúcar.

O açúcar é classificado de acordo com seu teor de sacarose. O açúcar cristal contém no mínimo 99,3% de sacarose e o açúcar refinado contém no mínimo 98,5% de sacarose. O percentual de sacarose verifica a pureza do produto, que está relacionada à sua capacidade de adoçar (INMETRO, 2012).

No mercado açucareiro brasileiro, o açúcar cristal ofertado para fins industriais é classificado em tipos 1, 2, 3 e 4, diferindo entre si, fundamentalmente, pelo seu percentual de sacarose e pela sua cor (OLIVEIRA et al, 2007). O açúcar cristal tipo 2 que contém no mínimo 99,7% de sacarose e cor 150 ICUMSA e o açúcar cristal tipo 3 que contém no mínimo 99,7% de sacarose e cor 200 ICUMSA são, normalmente, os destinados a produção de bebidas carbonatadas.

A qualidade do açúcar cristal é monitorada através de parâmetros sensoriais, físico-químicos e microbiológicos, sendo suas especificações determinadas por contrato entre a usina e o cliente quando não definidas pela legislação.

Dentre os parâmetros sensoriais, o açúcar é avaliado quanto à sua aparência, sabor e odor. Para os itens físico-químicos, os considerados mais relevantes e que, portanto, são monitorados pelo controle de qualidade são (OLIVEIRA et al, 2007; OLIVEIRA, 2010):

- Polarização ou pol – A polarização do açúcar expressa em °Z (graus Zucker) determina a porcentagem de sacarose no açúcar;

- Cor – O parâmetro cor está diretamente associado à qualidade de açúcar, sendo medido pela maior ou menor capacidade de passagem da luz através de uma solução de açúcar na concentração de 50%, em um comprimento de onda definido. Quanto mais baixo este índice, mais claro ou mais branco, é o açúcar. À medida que este índice aumenta, os cristais de açúcar adquirem um tom mais amarelado;

- Umidade – A umidade pode levar a cristalização do açúcar, assim como, aumentar o risco de contaminação microbiológica;

- Pontos pretos - Materiais resultantes da caramelização e carbonização do açúcar, caracterizados como pontos pretos, que proporcionam má aparência no açúcar;

- Resíduo insolúvel – O resíduo insolúvel caracteriza as partículas insolúveis presentes no açúcar como partículas minúsculas de bagaço, sílica, sais minerais, gomas, partículas magnetizáveis e açúcar carbonizado. A presença destas partículas pode ser percebida sensorialmente em produtos como balas, sorvetes e refrigerantes, criando a imagem de produto de má qualidade ou deteriorado;

- Partículas magnetizáveis – As partículas magnetizáveis são provenientes das partes metálicas dos equipamentos de processo produtivo;

- Dióxido de enxofre – O enxofre é originado do processo de branqueamento do açúcar. A preocupação de eliminação do enxofre no açúcar está associada a possíveis efeitos alergênicos;

- Amido – O amido, polissacarídeo produzido pela cana e presente nas folhas, internódios e pontas da cana, é removido parcialmente no processo de fabricação de açúcar, e parte dele se deposita no interior dos cristais de açúcar. Sua presença no açúcar dificulta o processo de filtração das soluções de açúcar;

- Dextrana – A dextrana é um polissacarídeo proveniente da deterioração da sacarose;

- Granulometria - O tamanho médio do cristal e a sua uniformidade definem a granulometria do açúcar;

- Floco ácido e floco alcoólico – Os flocos são originados pela presença de resíduos de polissacarídeos da cana.

O Quadro 1 apresenta as principais especificações físico-químicas dos principais tipos comerciais de açúcar utilizados no Brasil (OLIVEIRA et al, 2007).

Quadro 1. Especificações físico-químicas de açúcar comercial do Brasil.

Parâmetro	Unidade	Limite	Tipo			
			1	2	3	4
Polarização	°Z	Mínimo	99,8	99,7	99,7	99,7
Cor ICUMSA	UI	Máximo	100	150	200	400
Sulfito	mg.kg ⁻¹	Máximo	15	10	15	20
Dextrana	mg.kg ⁻¹	Máximo	-	100	150	-
Amido	mg.kg ⁻¹	Máximo	-	180	180	-
Insolúveis	1 a 10	Máximo	5	5	9	-
Magnetizáveis	mg.kg ⁻¹	Máximo	2	1	5	-
Granulometria	AM (CV%)	Máximo	< 0,6 (< 35%)			

Onde: UI = unidades ICUMSA, AM = tamanho médio do cristal, CV = uniformidade do cristal.

Fonte: OLIVEIRA et al, 2007.

Para os parâmetros microbiológicos do açúcar cristal, a resolução n° 12 da ANVISA de 2001 estabelece os limites de tolerância para a amostra indicativa de coliformes a 45°C de 10² NMP/g (mL) e ausência de *Salmonella* sp/25g (mL).

2.3 Cana-de-Açúcar

A cana-de-açúcar é cultivada desde o ano 20 mil, antes de Cristo. Descoberta pelos habitantes das ilhas do sul do oceano pacífico foi cultivada pela primeira vez em Papua Nova Guiné, onde seguiu espalhando-se pelas ilhas vizinhas. A América do Sul só conheceu o açúcar quando Cristovam Colombo levou plantas de cana-de-açúcar das ilhas Canárias para São Domingos, atualmente conhecida como Republica Dominicana (MACIEL, 2010).

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, sua produção em 2011 alcançou recorde de 715 milhões de toneladas (IBGE, 2012). A safra da cana-de-açúcar é sazonal iniciando em maio e terminando em novembro (SANTOS et al, 2005). Durante este período, ocorre o amadurecimento da cana devido a fatores climáticos, como falta de umidade, luminosidade e frio (MACIEL, 2010).

A cana-de-açúcar destaca-se entre as espécies vegetais pela sua alta eficiência fotossintética e armazenamento de sacarose. Ela é constituída por um sítio de produção (folhas fotossinteticamente ativas), um sistema de escoamento e distribuição do produto, vários sítios de consumo (raízes, colmos, folhas jovens, tecidos meristemáticos e órgãos reprodutivos) e por um sítio de acúmulo e armazenamento da sacarose (vacúolos das células dos internódios dos colmos). O processo de maturação da cana-de-açúcar envolve um sistema metabólico complexo, que se inicia com a fotossíntese e define-se através do balanço entre os teores de fotoassimilados produzidos (fonte) e consumidos nos drenos metabólicos (respiração/crescimento). Fisiologicamente, a maturação é alcançada quando os colmos atingem seu potencial de armazenamento de sacarose, ou seja, o ponto de máximo acúmulo de açúcar possível. O amadurecimento dos colmos poderá ser natural ou, induzido por processos que resultem em restrição da velocidade de crescimento das plantas, através de estresses de natureza física, química ou biológica. O controle da produção e armazenamento da sacarose na planta envolve a ação de fitormônios e de diversas reações dependentes de enzimas, cofatores, catalisadores orgânicos, dentre outros, que são influenciados por produtos químicos denominados de maturadores (MUTTON, 2008). A partir do amadurecimento, a cana passa a

ser cortada de forma planejada, e um programa de corte é montado, baseado na maturação da cana (MACIEL, 2010).

A colheita de cana no Brasil é realizada pelos sistemas manual, semi-mecanizado e mecanizado. Entretanto, nos últimos anos, a colheita tem passado por uma fase de substituição do corte manual para o mecanizado. A mudança para o corte mecanizado se deve a escassez de mão-de-obra para a colheita, redução de custos e pela legislação ambiental, que reduz gradativamente a queima dos canaviais, inviabilizando a colheita manual (SALVI, 2006).

A cana-de-açúcar é industrialmente utilizada para produção de açúcar e álcool (SANTOS et al, 2005), sendo processada em 430 usinas concentradas principalmente na região Centro-Sul e Nordeste do Brasil (UNICA, 2012). Depois de colhida, a cana de açúcar é transportada para a usina, onde o processo de fabricação do açúcar é iniciado (MACIEL, 2010). A parte morfológica da cana-de-açúcar de interesse comercial é o colmo, que possui a sacarose industrializável (MARQUES M.O.; MARQUES T.O.; TASSO JÚNIOR, 2001).

O caldo de cana obtido através da moagem dos colmos possui, além da sacarose, diversos componentes. A composição básica do caldo de cana está descrita no Quadro 2. O perfil de caldo de cana é influenciado por diversos fatores, tais como: variedade e grau de maturidade, tipo de solo, adubação, condições climáticas, tipo de colheita, conteúdo de pontas e palha e forma de extração do caldo (SOUZA, 1988).

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

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

Fonte: CLARKE, 1988.

Na composição química do caldo de cana observa-se a presença de muitos tipos de polissacarídeos, como amido dextrana, levana, pectina, celulose, hemicelulose e gomas. Segundo IMRIE e TILBURY (1972) todos os polissacarídeos, em virtude de suas propriedades físicas, resultam em efeitos negativos sobre o processamento da cana-de-açúcar. Dentre os polissacarídeos, o amido e a dextrana são os mais frequentemente citados (CUDDIHY et al, 2001).

2.4 Amido

O amido é um homopolissacarídeo formado por duas macromoléculas, amilose e amilopectina, e apresenta-se na forma de grânulos, com formas bastante distintas. A amilose é linear e composta por unidades de glicose unidas com ligações $\alpha(1-4)$. A amilopectina é altamente ramificada e é formada por cadeias de resíduos de α -D-glicopiranosose (entre 17 e 25 unidades) unidos em $\alpha(1,4)$, sendo fortemente ramificada, com 4% a 6% das ligações em $\alpha(1,6)$ (FENNEMA, 1996; BILIADERIS, 1997). As estruturas apresentadas por essas moléculas estão representadas nas Figuras 4 e 5.

Os grânulos de amido são formados pela amilose e amilopectina, em variáveis proporções, de acordo com a fonte botânica (CEREDA, 2002). Apresentam variação de tamanho, com diâmetros menores de 1 μm até maiores que 100 μm . Em seu estado nativo é insolúvel em água fria (BELLO-PÉREZ et al, 2006).

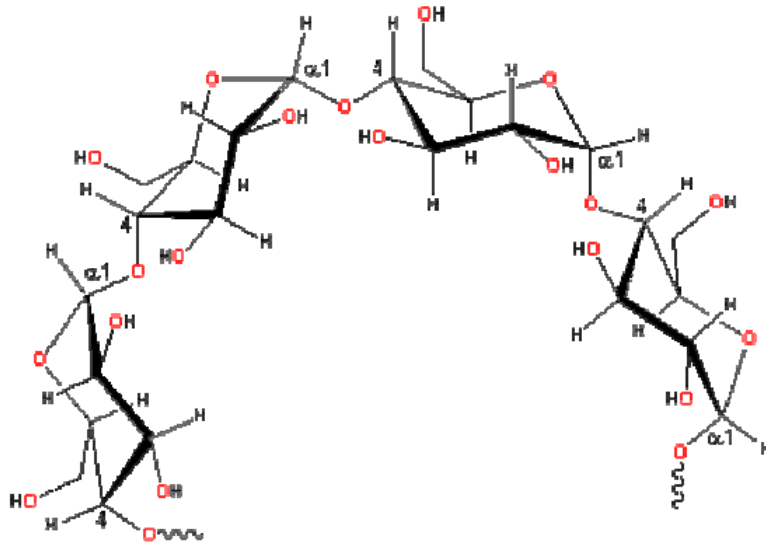


Figura 4. Estrutura da amilose.
Fonte: BILIADERIS, 1997.

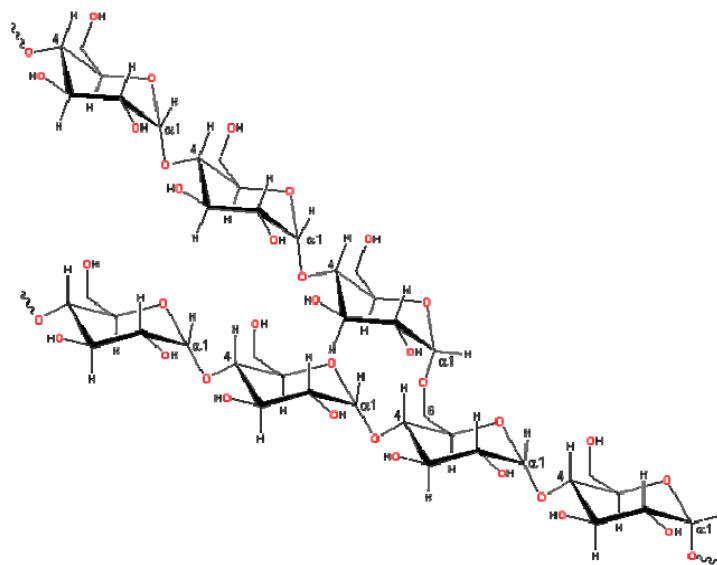


Figura 5. Estrutura da amilopectina.
 Fonte: BILIADERIS, 1997.

Na cana-de-açúcar, o amido, produto primário da fotossíntese, é temporariamente estocado nas folhas como fonte de reserva energética para a planta e pode ser convertido em açúcar (BOYES, 1958). Está presente no caule da cana, porém sua abundância é no topo do colmo e nas folhas de cana-de-açúcar (IMRIE e TILBURY, 1972).

O amido de cana-de-açúcar existe como grânulos semicristalinos que possuem tamanho de 1-10 μm e contém aproximadamente 19% de amilose e 81% de amilopectina (VIGNES, 1974).

No processo de fabricação de açúcar o amido é somente parcialmente removido e parte dele se deposita no interior dos cristais de açúcar (OLIVEIRA et al, 2007). Logo, amido é encontrado em todos os produtos da cana-de-açúcar, na usina e refinaria, incluindo açúcar bruto e refinado, porém a concentração varia amplamente dependendo da estação, variedade, ocorrência de doenças na cana, maturidade, condições de processamento e método de análise (IMRIE, TILBURY, 1972).

Estudos realizados por CUDDIHY et al. (2001) concluíram que o teor de amido é uma característica da variedade e que após o processo de extração cerca de 30 a 40% do amido presente no caldo de cana-de-açúcar ainda permanece no açúcar cristal branco. Observaram também que o teor de amido no açúcar bruto produzido no começo da safra pode apresentar altos níveis de amido.

O amido é considerado um fator importante de qualidade da cana-de-açúcar. Na África do Sul seu teor é monitorado no açúcar bruto, e caso o conteúdo no açúcar seja superior a 150 ppm são aplicadas penalidades como o pagamento de multas (MOHABIR e KHESWA, 2003).

A adoção de cana-de-açúcar colhida verde e mecanizada resultou em redução da qualidade da matéria-prima porque o conteúdo de amido é maior nas folhas verdes e nas ponteiros das plantas (ZHOU et al, 2008).

2.5 Dextranas

Dextrana é o nome genérico dado aos polissacarídeos da glicose; quimicamente são polímeros de alto peso molecular com fórmula empírica $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ cujo monômero é o α -D-

glucopiranosil, unidos predominantemente por ligações glicosídicas α -(1,6) na cadeia principal e α -(1,4), α -(1,3) e α -(1,2) nas ramificações (AQUINO, 2006; NAESSENS et al., 2005). O tipo, quantidade, comprimento e disposição das ramificações define as diferentes estruturas das dextranas e a influência em suas propriedades físico-químicas (AQUINO, 2006). A Figura 6 representa a estrutura química da dextrana (ABDEL-RAHMAN et al., 2008).

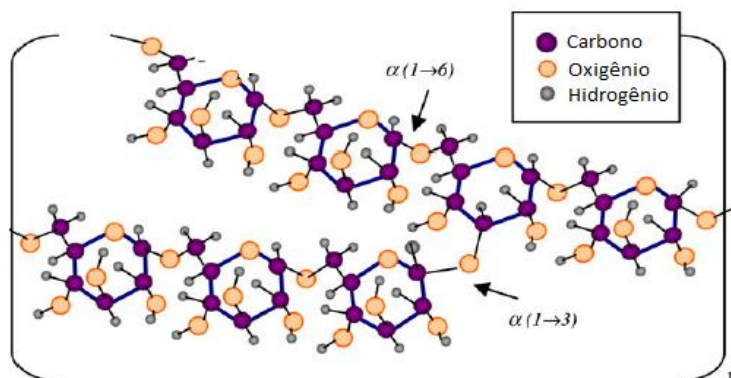


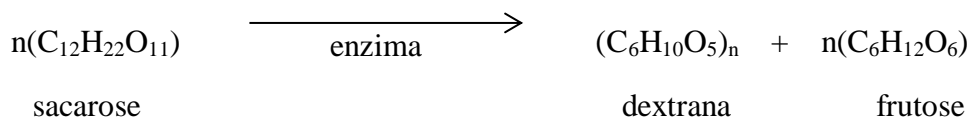
Figura 6. Estrutura química da dextrana.

A solubilidade das dextranas em água é influenciada pelo seu peso molecular e pela quantidade de ramificações. Dextranas com alto peso molecular apresentam menor solubilidade em água que as de menor peso molecular. E à medida que aumenta a quantidade de ramificações na cadeia principal diminui a solubilidade da dextrana (JIMENEZ, 2009).

A ampla distribuição de massa das dextranas propicia a estes compostos diversas aplicações nas indústrias alimentícia, farmacêutica, petroquímica e química. As dextranas de $1,0 \times 10^4$ a $2,5 \times 10^7$ Da são largamente utilizadas em formulação alimentícia como agente espessante, geleificante e emulsificante (RODRIGUES, 2003). Contudo, são consideradas contaminantes endêmicos da sacarose e tem sido reportada como indicador de deterioração do açúcar (AQUINO, 2006). Apesar das dextranas estarem presentes no açúcar, não são compostos naturais da cana-de-açúcar, seu conteúdo antes da colheita da cana-de-açúcar é muito baixo ou quase zero (JIMENEZ, 2009).

Estruturalmente as dextranas encontradas no caldo de cana ou no açúcar dele derivado são tipicamente lineares, apresentando em torno de 95% de ligações consecutivas α -(1,6) formando uma cadeia principal, com cadeias laterais originadas de ligações α -(1,3), ocasionalmente α -(1,4), α -(1,2) e apresentam distribuição de massa molar na faixa de 10^4 a 10^7 Da (NAESSENS et al., 2005). São, de forma geral, solúveis em água, metil sulfóxido e etileno glicol e insolúveis em metanol, etanol, isopropanol e acetona (AQUINO, 2006).

Dextranas são formadas pela ação da enzima dextrana-sacarase que utiliza sacarose como substrato para produzir dextrana e frutose de acordo com a seguinte equação (SANTOS et al, 2000):



A sacarose é o único substrato capaz de induzir a produção da enzima dextrana-sacarase. A enzima age transferindo o grupo glicosil do doador, a sacarose, para o receptor, a cadeia de dextrana em formação (ALSOP, 1983).

A enzima dextrana-sacarase é oriunda de bactérias contaminantes da cana-de-açúcar (JIMENEZ, 2009). Dentro do grupo das bactérias lácticas encontram-se os principais gêneros capazes de excretar esta enzima, que são *Leuconostoc*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*. A principal espécie deteriorante é *Leuconostoc mesenteroides*, contaminante natural do solo das plantações, é encontrado aderido nos colmos e folhas da planta. A infecção do tecido da cana ocorre, normalmente, no momento da colheita pelo contato com cortador de cana contaminado e com o solo. O colmo da cana é livre de *Leuconostoc mesenteroides* quando intacto, porém contaminação antes da colheita pode ocorrer, caso o tecido da cana possua danos físicos como, por exemplo, rachaduras. O micro-organismo penetra rapidamente o talo e coloniza o tecido. *Leuconostoc mesenteroides* é uma bactéria microaerófila e reproduz-se rapidamente sob condições anaeróbias, tais como bastões de cana revestidos de lama e armazenados em grandes pilhas com pouca ventilação (SOLOMON, 2009).

Sendo o caldo de cana um meio rico, que contém cerca 15-18% de sacarose, 0,5% de açúcares redutores, pH entre 5,0 e 5,5 e quantidades adequadas de nitrogênio orgânico e sais minerais, tornando-o seletivo para as bactérias lácticas (SOLOMON, 2009).

A presença de *Leuconostoc mesenteroides* está associada a fatores ambientais e de processamento, tais como temperatura e umidade no período da colheita, tempo decorrido do corte até a moagem, métodos de armazenamento (armazenamento aberto ou em pilhas), tamanho das pilhas e duração do armazenamento, prática de queimadas, corte mecanizado e más condições sanitárias do moinho (SOLOMON, 2009; EGGLESTON, 2008).

Segundo estudos realizados por OLIVEIRA et al (2002), o índice de infecção microbiana aumentou com o tempo de queima, mas existem outros fatores como a umidade; temperatura elevada; danos mecânicos na cana durante o corte; transporte e higiene no processo industrial, que propiciam maior contaminação e conseqüentemente, aumento da produção de dextrana.

BHATIA et al (2009) relataram que o conteúdo de dextrana depende do genótipo da cana e do clima. Na avaliação do teor de dextrana conduzida nos meses de novembro, janeiro e março, o aumento observado no mês de março foi atribuído ao efeito sinérgico da subida da temperatura com o crescimento de bactérias o que resultou na formação de dextrana. SOLOMON et al (2003) também relataram que o nível de síntese de dextrana varia com o clima e genótipo de cana.

Há evidências amplas que mostram que o clima é de primordial importância na determinação da taxa de deterioração. Quanto maior a temperatura e mais úmido o clima, maior é a deterioração. A umidade foi especialmente prejudicial em safra colhida mecanicamente e reiterou que, se possível, operações de colheita devem ser suspensas durante o tempo chuvoso. Chuvas, por si só não afetam a formação de dextrana, mas as condições de campo lamacento criados pela chuva afetam, pois favorece a multiplicação de bactérias produtoras de dextranas que vivem no solo e preferem um ambiente anaeróbio gerado quando o ar é bloqueado pela lama (SOLOMON, 2000).

Nos últimos anos observou-se aumento no conteúdo de dextrana nas usinas. Fator este atribuído pela substituição do sistema de colheita manual para o mecanizado. Na colheita mecanizada de cana de açúcar observa-se redução da qualidade da matéria-prima devido a interações solo-máquina-planta. A cana colhida tem sua qualidade microbiológica reduzida, visto que o cortador de base é sujeito à contaminação e incorporação de terra com a cana, caso as lâminas dos discos cortadores trabalhem em contato ou abaixo da superfície do solo, e se o sistema radicular de soqueiras arrancadas for carregado com a cana. A terra presente na cana a ser moída propicia a contaminação microbiológica do caldo que, por conseqüência, reduz a extração de sacarose e aumenta o conteúdo de dextranas (SALVI, 2006). Em relação à contaminação microbiológica, tem-se estabelecido que para cada grama de solo pode-se encontrar cerca de 10^8 bactérias (bastonetes – *Leuconostoc mesenteroides*), sendo que na

rizosfera da cana de açúcar a população de bactérias em um quilo de solo pode atingir 10^{10} (TROST; STEELE, 2002).

Outro fator a ser considerado na formação de dextrana é o método de armazenamento da cana colhida. Quanto maior o tamanho das pilhas e maior o tempo de estocagem, maior será o teor de dextrana no açúcar, uma vez que grandes pilhas com pouca ventilação favorecem ao crescimento do micro-organismo *Leuconostoc mesenteroides*, produtor da enzima dextrana-sacarase (SOLOMON, 2000).

Práticas inadequadas de limpeza e sanitização dos moinhos também favorecem a multiplicação das bactérias produtoras de dextrana. Segundo SOLOMON (2009), quando o saneamento nas usinas não é adequado a perda de sacarose pode ser de 2,5 Kg por tonelada de cana ou mais. Numa fábrica com programa de saneamento eficiente, as perdas devido à contaminação microbiana podem ser apreciavelmente reduzidas. O autor destaca que, além da limpeza, o acúmulo de cana velha na usina também contribui para o acréscimo da contaminação microbiológica. A rotatividade da cana deve ser assegurada, a cana inicialmente colhida deve ser direcionada ao processamento primeiramente. No entanto, a eliminação completa do micro-organismo na cana e/ou usina é quase impossível.

2.6 Problemas Tecnológicos

A presença de polissacarídeos como o amido e a dextrana proporciona diversos problemas para as usinas de açúcar e indústrias de bebidas.

A presença de amido, combinada ou não com a dextrana, exerce efeito negativo no processamento de açúcar, podendo resultar em aumento sinérgico de problemas de viscosidade. A molécula de amido que é insolúvel em temperaturas baixas, pode gelatinizar em altas temperaturas (em torno de 60°C), resultando em inchaço dos grânulos que passam ocupar maiores volumes (JOHNSON, 1989). Segundo ZHOUL et al (2008), este polissacarídeo pode ainda reduzir as taxas de cristalização e centrifugação, ficar ocluído no cristal de açúcar, aumentar a produção de melaço, reduzir a filtrabilidade do açúcar bruto e impedir os processos de descoloração da refinaria.

O maior impacto do amido na indústria alimentícia está associado com a maior dificuldade de filtração das soluções de açúcar. Sua presença pode ser percebida no produto acabado, seja sensorialmente pela língua (balas, doces, sorvete, comprimidos, etc.) ou visualmente (licores, refrigerante, isotônicos e líquidos transparentes), criando a imagem de produto acabado de má qualidade ou até mesmo deteriorado (OLIVEIRA et al, 2007).

Embora inócuas à saúde humana, a presença das dextranas em açúcares também contribui com efeitos negativos, sendo associada a problemas na usina de açúcar e na indústria alimentícia que conduzem a perdas na produção (AQUINO, 2006). Dentre os efeitos deste polissacarídeo na usina de açúcar destaca-se redução na recuperação de sacarose (cada 0,1% de dextrana produzida representa a perda de sacarose de 0,04%), a cristalização lenta pela menor eficiência do evaporador, o alongamento dos cristais de açúcar, leitura de “pol” (polarimetria) distorcida, o aumento da viscosidade das soluções açucaradas e o entupimento de filtros (SOLOMON, 2009).

O desenvolvimento de turvações e a formação de precipitados indesejados pela presença de dextrana são desafios na indústria de bebidas alcólicas. Em cachaça, a formação de depósitos é o principal problema decorrente da adição de açúcar na cachaça. Tais depósitos, denominados flocos alcóolicos desvalorizam comercialmente a cachaça, pela associação que os consumidores fazem dos mesmos a falhas de higiene durante o seu processo produtivo ou a baixa qualidade da matéria-prima (AQUINO, 2006). Segundo RODRIGUES-FILHO et al (2007), a adição de açúcar em cachaça, mesmo em valores que atendam à legislação, pode introduzir no produto dextranas em concentrações suficientes para

desencadear o aparecimento de flocos e a simples filtração após a adição de açúcar pode não ser suficiente para eliminar este problema. Na Figura 7 podem ser observados precipitados de dextrana contidos no açúcar utilizado na padronização da aguardente.



Figura 7. Precipitados de dextrana em aguardente.
Fonte: AQUINO, 2009.

Além dos efeitos indesejáveis que ocorrem em bebidas, o aumento da viscosidade de soluções açucaradas geradas pela presença de dextranas promove a deformação de balas dificultando a sua embalagem e aumenta o efeito “puxa – puxa” em barras de cereais (OLIVEIRA et al, 2007).

Nas indústrias de bebidas é bem conhecido que as dextranas e o amido podem conduzir à formação de precipitados e alterações na estabilidade do produto acabado. A presença destes polissacarídeos em açúcares utilizados na produção do xarope de bebidas é responsável pela formação de precipitados denominados flocos ácidos, os quais são considerados defeitos sensoriais (AQUINO, 2008; OLIVEIRA et al, 2007). Os flocos ácidos apesar de atóxicos, são indesejáveis sob o ponto de vista comercial podendo, inclusive, conduzir ao descarte do produto (AQUINO, 2006; AQUINO, 2008).

A formação do floco ácido, também denominado como “bola de algodão” ou turbidez, ocorre após vários dias da produção (CLARKE et al, 1999), sendo, por isso, sua presença observada apenas em bebidas ácidas carbonatadas que possuem prazo de validade extenso como as envasados em embalagem de vidro. AQUINO (2009) estima que aguardente adoçada demande tempo mínimo de 90 dias para a observação da formação de precipitados.

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

2.7 Soluções Tecnológicas

A solução tecnológica utilizada para redução do nível de amido na produção de açúcares é o uso da enzima α -amilase nos evaporadores. A amilase hidrolisa as ligações α 1-4,

em moléculas menores e mais solúveis (FIGUEIRA, 2009). Entretanto, a enzima α -amilase é cara e nem sempre eficaz. A solução preventiva, econômica e eficiente para redução do amido na cana-de-açúcar é o desenvolvimento de variedades com baixo teor deste polissacarídeo (ZHOU et al, 2008).

Os recursos tecnológicos empregados pela indústria de açúcar, até o momento, para minimizar a formação de dextrana e reduzir suas implicações no processo produtivo são:

- Implementação de programa de limpeza e sanitização regular na usina de cana-de-açúcar (SOLOMON, 2000). Segundo SOLOMON (2009) quando o saneamento das fábricas não é adequado as perdas de sacarose podem exceder 2,5 Kg por tonelada de cana moída. Em uma fábrica limpa seguindo normas sanitárias completas, as perdas microbiológicas podem ser sensivelmente reduzidas.

- Programa eficiente de processamento com a redução máxima de tempo entre corte e processamento (SOLOMON, 2000).

- Adição de biocidas de largo espectro, tais como compostos halogenados, formaldeído e peróxido de hidrogênio (SOLOMON, 2000). Contudo, seu uso deve ser controlado e monitorizado, do ponto de vista de custo e de resíduo (SOLOMON, 2009).

- Remoção de dextrana através do emprego da enzima dextranase. Dextranases, ou a 1-6-D glucan – 6 glucanohidrolases, ou E.C3.2.1.11, são enzimas que hidrolisam especificamente ligações α -1.6, nas quais as moléculas de dextrana são ricas (SOLOMON, 2000; SOUZA; OLIVEIRA, 1998; JIMENEZ, 2009; EGGLESTON et al, 2009). Todavia, o elevado preço das dextranases disponíveis no mercado tem um impacto direto no preço final do açúcar (OLIVEIRA, 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

Todas as amostras foram doadas por uma indústria de refrigerante do Rio de Janeiro, sendo coletadas durante o processo de produção da bebida.

3.2 Açúcar Cristal

Foram coletadas 15 amostras de açúcar cristal tipo 2 (peso estimado de 500 g por amostra), matéria-prima para fabricação de refrigerante. As amostras de açúcar foram coletadas na etapa de recepção e análise, conforme diagrama esquemático do processo representado na Figura 8.

As amostras foram produzidas por usinas do estado de São Paulo, sendo colhidas mecanicamente no ano de 2012 no período de julho a novembro e no ano de 2013 nos meses de maio e agosto.

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

3.3 Xarope Simples e Final e Refrigerante

Foram coletadas 15 amostras de xaropes e refrigerante (volume estimado de 1000 mL por amostra) diretamente na linha de produção no período de abril a agosto de 2013, conforme diagrama esquemático do processo representado na Figura 8. A amostragem de refrigerante compreendeu dois tipos de sabores, sendo 13 amostras de sabor cola e 2 amostras de sabor uva.

As amostras de xarope simples e final foram armazenadas em embalagem de politereftalato de etileno (PET) e as amostras de refrigerante foram armazenadas nas embalagens de vidro que foram envasadas. Todas as embalagens foram mantidas fechadas em ambiente seco e fresco, sob o abrigo da luz.

3.4 Reagentes

Os reagentes Ácido Tricloroacético (TCA) P.A. A.C.S., Álcool Etílico absoluto 99,8%, padrão P.A. de Sacarose, Cloreto de Cálcio dihidratado P.A., Ácido Acético P.A. A.C.S., Iodato de Potássio P.A., Iodeto de Potássio P.A., Ácido Morfolinopropanosulfônico (MOPS) P.A., Hidróxido de Sódio P.A. A.C.S., Benzoato de Sódio e Ácido Fosfórico 85% P.A. foram obtidos do fornecedor Vetec.

Os padrões p.a de dextrana (T500) e amido de batata foram obtidos do fabricante Sigma Aldrich. A enzima α -amilase (Termamyl 2X) foi adquirida do fabricante Novozymes. O meio Agar Man, Rogosa e Sharpe (MRS) foi obtido do fornecedor Difco (BBL). Foi utilizada água deionizada tipo II para preparo das soluções.

3.5 Instrumentação

A determinação de cor e quantificação de dextrana e amido foi realizada em espectrofotômetro UV/Visível, com leitura digital de absorvância, banda de passagem máxima de 10 nm e capacidade para uso de célula de 10 mm, 20 mm e 100 mm de percurso óptico, marca Hach, modelo DR/4500V.

Para análise de turbidez foi utilizado um turbidímetro da marca Hach modelo 2100Q. Os demais materiais seguem de acordo com as descrições dos métodos utilizados.

3.6 Métodos

As coletas e as análises das amostras (açúcar, xaropes e refrigerante) foram realizadas na Empresa doadora da matéria-prima e no Laboratório de Controle de Qualidade da mesma.

3.6.1 Pontos de amostragem

A Figura 8 apresenta o diagrama esquemático do processo de fabricação do refrigerante com a indicação dos pontos de coleta das amostras.

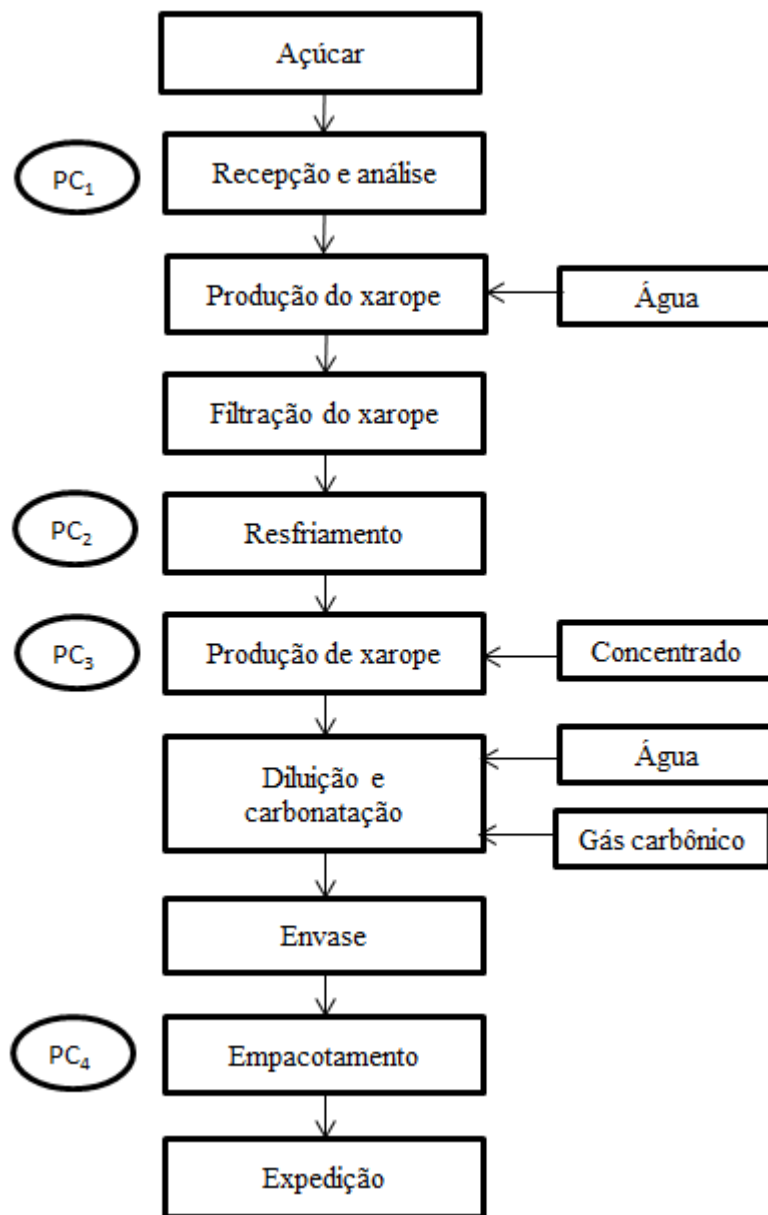


Figura 8. Diagrama esquemático do processo.

Onde: PC₁ – ponto de coleta de açúcar; PC₂ – ponto de coleta de xarope simples; PC₃ – ponto de coleta de xarope final; PC₄ – ponto de coleta de refrigerante.

a) Metodologia de coleta

O lote de açúcar coletado foi acompanhado durante todo o processo produtivo de refrigerantes. As coletas de xarope simples, xarope final e refrigerante ocorreram subsequentes ao lote de açúcar inicialmente coletado. Entende-se por lote amostras produzidas no mesmo dia.

b) Período de coleta

As coletas foram realizadas nos meses de abril, junho e agosto de 2013. As coletas foram em diferentes meses para compreender safras diferentes.

c) Identificação das amostras

As amostras foram identificadas de acordo com a safra da cana-de-açúcar, conforme Tabela 1. A codificação das amostras é representada pelo modelo 0000-00-X, onde os quatro primeiros números representam o ano, os dois números subsequentes indicam o mês e a letra é referente à matéria-prima.

Tabela 1. Identificação das amostras por safra de cana-de-açúcar.

Amostra	Matéria-Prima			
	Açúcar	Xarope Simples	Xarope Final	Refrigerante
1	2012-07-A	2012-07-Xs	2012-07-Xf	2012-07-Rc
2	2012-07-A	2012-07-Xs	2012-07-Xf	2012-07-Ru
3	2012-08-A	2012-08-Xs	2012-08-Xf	2012-08-Rc
4	2012-08-A	2012-08-Xs	2012-08-Xf	2012-08-Rc
5	2012-09-A	2012-09-Xs	2012-09-Xf	2012-09-Rc
6	2012-10-A	2012-10-Xs	2012-10-Xf	2012-10-Rc
7	2012-11-A	2012-11-Xs	2012-11-Xf	2012-11-Rc
8	2012-11-A	2012-11-Xs	2012-11-Xf	2012-11-Ru
9	2013-05-A	2013-05-Xs	2013-05-Xf	2013-05-Rc
10	2013-05-A	2013-05-Xs	2013-05-Xf	2013-05-Rc
11	2013-05-A	2013-05-Xs	2013-05-Xf	2013-05-Rc
12	2013-05-A	2013-05-Xs	2013-05-Xf	2013-05-Rc
13	2013-05-A	2013-05-Xs	2013-05-Xf	2013-05-Rc
14	2013-05-A	2013-05-Xs	2013-05-Xf	2013-05-Rc
15	2013-08-A	2013-08-Xs	2013-08-Xf	2013-08-Rc

Onde: A= açúcar; Xs= xarope simples; Xf= xarope final; Rc= refrigerante sabor cola; Ru= refrigerante sabor uva.

d) Frequência das análises

As amostras foram analisadas a cada coleta. As amostras de refrigerante também foram analisadas por até 180 dias após a coleta. O período de 180 dias compreende o prazo de validade do refrigerante envasado em embalagem de vidro.

Na Tabela 2 estão descritas as análises que foram realizadas em cada amostra, assim como o período do tempo da análise.

Tabela 2. Descrição das análises por amostra.

Análises	Frequência						
	t ₀	t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀	t ₁₅₀	t ₁₈₀
1 - Análises Físico-Químicas							
a) Amido	A, Xs, Xf e R						
b) Dextrana	A, Xs, Xf e R						
c) Cor	A						
d) Turbidez	A, Xs, Xf e R						
e) Potencial flocos	A						
2 - Análises Microbiológicas							
a) Bactérias lácticas	A						
3 - Análise Sensorial							
a) Floco ácido	R	R	R	R	R	R	R

Onde: A= açúcar; Xs= xarope simples; Xf= xarope final; R= refrigerante; t₀= momento da coleta; t₃₀, t₆₀, t₉₀, t₁₂₀, t₁₅₀ e t₁₈₀= período de tempo após 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias da coleta, respectivamente.

3.6.2 Análises físico-químicas

a) Quantificação de amido

A quantificação de amido foi realizada em triplicata segundo método ICUMSA GS1-16 (2009).

O padrão de amido utilizado foi o amido de batata conforme preconizado na metodologia. Estudo realizado por FIGUEIRAS (2009) verificou que as curvas de padrão de amido e de cana-de-açúcar são similares para quantificação do teor de amido em caldo de cana-de-açúcar.

Para a determinação da curva de calibração, foram pesadas amostras de $3,60 \pm 0,02$ g de sacarose em cada balão volumétrico de 50 mL de uma série de oito balões. Foram adicionados os volumes (mL) das soluções padrões e água, conforme indicados na Tabela 3.

Tabela 3. Soluções para preparação da curva de calibração de análise de amido.

Amostra (n°)	Solução A (mL)	Solução B (mL)	Solução C (mL)	Água (mL)	Concentração de amido (mg/Kg de açúcar)
1	-	-	-	7,0	0
2	2,0	-	-	5,0	25
3	-	1,0	-	6,0	50
4	-	2,0	-	5,0	100
5	-	3,0	-	4,0	150
6	-	4,0	-	3,0	200
7	-	5,0	-	2,0	250
8	-	7,0	-	-	350
9	-	-	2,0	5,0	500

Onde: Solução A – solução padrão de amido a 45 mg/L; Solução B – solução padrão de amido a 180 mg/L; Solução C – solução padrão de amido a 900 mg/L.

Após a completa dissolução do açúcar foram adicionados 15,0 mL da solução de cloreto de cálcio/ácido acético (solução 40% cloreto de cálcio ajustada para pH 3,0 com solução ácido acético 0,033 mol/L), sendo a mistura homogeneizada. Os balões foram tampadas e colocados em banho-maria com água em ebulição por 15 ± 1 minuto.

O tempo entre a adição de água para dissolver o açúcar e a entrada dos balões no banho-maria foram controlados para não exceder 30 minutos.

Após 15 minutos ± 1 minuto em banho-maria, os balões foram resfriados em água corrente até temperatura ambiente. Em cada balão, foram adicionados $15 \pm 0,05$ mL de solução de ácido acético 0,033 mol/L e $10 \pm 0,5$ mL da solução de iodeto de potássio, e posteriormente foi completado o volume com água deionizada e homogeneizado. As leituras de absorvância para cada solução foram realizadas a 700 nm, no intervalo de 10 a 20 minutos após a adição da solução de iodeto. Foi utilizada água deionizada como prova em branco. A curva de calibração obtida foi: $y = 2427,9x + 2,5858$ e $R^2 = 0,9988$.

Para a quantificação de amido nas amostras de açúcar, foram pesados $3,6g \pm 0,2$ g de açúcar em dois balões volumétricos de 50 mL, sendo o balão 1 a prova em branco e o balão 2 a amostra. Em seguida foi realizada a transferência de 7 mL de água deionizada para cada balão, com posterior adição de $15,00 \text{ mL} \pm 0,05\text{mL}$ da solução de cloreto de cálcio/ácido acético e homogeneizou-se a mistura.

Os balões foram fechados e colocados em banho-maria com água em ebulição por 15 ± 1 minuto. Os balões foram removidos do banho e resfriado em água corrente até temperatura ambiente. Adicionou-se em cada balão $15,00 \pm 0,05$ mL de solução de ácido acético 0,033 mol/L. No balão de prova do branco adicionou-se água deionizada até completar o volume. No balão da amostra adicionou-se $10,0 \pm 0,5$ mL da solução iodeto/iodato de potássio (composta por $10,0 \pm 0,5$ mL de solução 10% de iodeto de potássio em $90,0 \pm 0,5$ mL de água deionizada e $100,0 \pm 0,5$ mL de solução de iodato de potássio 0,00017 mol/L) e completou-se o volume com água deionizada.

O espectrofotômetro foi zerado com a prova de branco a 700 nm, em célula de 20 nm, e foi realizada a leitura da absorvância da solução, no intervalo de 10 a 20 minutos após a adição da solução de iodeto/iodato.

Para as análises de amido nas amostras de xarope simples, xarope final e refrigerante, a mesma rotina analítica foi empregada, diferindo apenas na tomada inicial de amostra. O

volume de amostra analisado foi corrigido de acordo com o °Brix da amostra para corresponder a 32 g de açúcar.

b) Quantificação de dextrana

Neste estudo a quantificação de dextrana foi realizada em triplicata segundo método GS1/2/9-15 definido pela ICUMSA (2011).

Para a determinação da curva de calibração, foram adicionados em 10 béqueres volumes (mL) conforme indicados na Tabela 4, das soluções de sacarose/TCA, dextrana 0,8 mg/mL e 0,08 mg/mL e água deionizada, obtendo-se respectivamente concentrações de dextrana de 0 mg/Kg, 10 mg/Kg, 20 mg/Kg, 30 mg/Kg, 40 mg/Kg, 50 mg/Kg, 60 mg/Kg, 80 mg/Kg e 100 mg/Kg de dextrana.

Tabela 4. Soluções para preparação da curva de calibração de análise de dextrana.

Amostra (n°)	Solução de Sacarose/TCA (mL)	Solução A (mL)	Solução B (mL)	Água (mL)	Concentração de dextrana (mg/Kg de açúcar)
1	16,0	0,0	-	9,0	0
2	16,0	1,0	-	8,0	10
3	16,0	2,0	-	7,0	20
4	16,0	3,0	-	6,0	30
5	16,0	4,0	-	5,0	40
6	16,0	5,0	-	4,0	50
7	16,0	6,0	-	3,0	60
8	16,0	8,0	-	1,0	80
9	16,0	-	1,0	8,0	100
10	16,0	-	-	34,0	Branco

Onde: Solução A – solução de dextrana 0,08 mg/mL; Solução B – solução de dextrana 0,8 mg/mL.

As amostras numeradas de 1 a 9 foram adicionadas de 25 mL de álcool etílico absoluto, seguido de agitação manual. A amostra número 10 foi considerada a prova em branco.

Após 20 minutos do término da adição do álcool etílico absoluto procedeu-se a leitura da absorvância das soluções a 720 nm, em célula de 100 mm, zerando o espectrofotômetro com a prova de branco.

A curva de calibração foi montada da correlação dos valores de absorvância obtidos das leituras e a concentração de dextrana (mg/Kg). A curva de calibração obtida para quantificação de dextrana foi: $y = 706,03x - 4,8495$ e $R^2 = 0,9986$.

Para a quantificação de dextrana em açúcar cristal, foram pesadas $32,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ em balão volumétrico de 100 mL, sendo adicionado de 50 mL de água deionizada para dissolver a amostra.

Adicionou-se 0,1 mL de enzima α -amilase na solução que foi mantida em banho a $55 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ por $15 \text{ min} \pm 2 \text{ min}$ e resfriada até temperatura ambiente em água corrente. Foi adicionada 10 mL da solução TCA, completado o balão volumétrico com água deionizada e homogeneizado.

A solução foi filtrada em conjunto de filtração conectado ao sistema de vácuo, composto de pré-filtro médio e diâmetro 47 mm e filtro membrana $0,45 \text{ } \mu\text{m}$ com diâmetro 47

mm. Com auxílio da pipeta volumétrica 25,0 mL do filtrado foi dividido em dois béqueres, adicionou-se vagarosamente 25,0 mL de álcool etílico para um dos béqueres e no outro béquer adicionou-se 25,0 mL de água deionizada para servir de prova em branco. As soluções foram agitadas e deixadas em repouso por 20 ± 1 minuto.

O espectrofotômetro foi zerado com a prova de branco a 720 nm, em célula de 100 nm, e foi realizada a leitura da absorvância da solução.

Para as análises de dextranas nas amostras de xarope simples, xarope final e refrigerante, a mesma rotina analítica foi empregada, diferindo apenas na tomada inicial de amostra. O volume de amostra analisado foi corrigido de acordo com o °Brix da amostra para corresponder a 32 g de açúcar.

c) Cor

A análise de cor foi realizada em triplicata segundo método analítico ICUMSA GS2/3-10 (2005).

Foram pesados $20,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ da amostra de açúcar e transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL com aproximadamente 50 mL a 80 mL de água deionizada. Foi agitado até completa dissolução. Foram adicionados 10 mL da solução tampão de MOPS 0,2 mol/L e completado o volume com água deionizada. A solução foi filtrada em pré-filtro e depois em membrana $0,45 \mu\text{m}$ em conjunto de filtração, conectando-o ao sistema de vácuo. O teor de sólidos solúveis (°Brix) do filtrado foi medido e corrigido a 20°C .

Para a prova do branco, 10 mL da solução de MOPS foi diluída a 100 mL com água deionizada e filtrada em membrana de $0,45 \mu\text{m}$.

O espectrofotômetro foi zerado com a prova de branco a 420 nm, em célula de 10 nm, e foi realizada a leitura da absorvância da solução.

d) Turbidez

A análise de turbidez foi realizada em triplicata segundo método analítico utilizado na rotina dos laboratórios de controle de qualidade da indústria de bebidas.

Preparou-se 400 mL de solução 50° Brix pela dissolução de 246 g de sacarose em 246 g de água destilada. Tomou-se uma alíquota da solução preparada em becher de 250ml, completamente dissolvida e homogeneizada. Eliminou-se o ar dissolvido da solução com auxílio do banho ultra-som.

Foi ajustado o zero do turbidímetro com água destilada e na faixa de leitura do padrão de referência. A solução foi transferida para o frasco do turbidímetro e realizou-se a leitura em unidades NTU (Unidades Nefelométricas de Turbidez).

e) Potencial de flocos

A análise de potencial de flocos foi realizada em triplicata segundo método GS2/3-40 definido pela ICUMSA (2007).

Foi dissolvido 55,0 g de açúcar em 60,0 mL de água destilada. Foram adicionados 5,0 mL de solução de benzoato de sódio a 0,1% p/v e 4,0 mL de ácido fosfórico 2N. A solução foi diluída com até 500 mL de água carbonatada. A solução foi mantida tampada em descanso por 10 dias à temperatura ambiente. Examinou-se a amostra com uma fonte luminosa de alta intensidade quanto à presença de flocos.

Os resultados visuais foram classificados de acordo com os seguintes critérios:
0 = Negativo: Completa ausência de particulado.

0 = Turvo: Sem partículas visíveis

1 = *Pintpoint*: Partículas discretas e muito pequenas, formato não definido, visível à luz.

2 = Leve: Diversas partículas agrupadas, semelhante a algodão.

3 = Médio: Diversas partículas grandes (cerca de 15 μm).

4 = Pesado: Aglomerado de partículas coloidais, visíveis sem o auxílio da luz.

Amostras com resultados “0”(negativo ou turvo), é considerada livre de flocos ácidos.

3.6.3 Análise microbiológica

a) Contagem de bactérias lácticas

A amostra foi previamente preparada através da técnica de filtração em membrana

Utilizou-se um conjunto de filtração, composto por um porta-filtro, um suporte triplo manifold de aço inoxidável e seis copos de filtração da marca Sartorius e modelo 16832. A parte inferior do porta-filtro é encaixado ao manifold e este ligado a um frasco de Kitasato com capacidade de 4000 mL que, conectado a uma bomba de vácuo da marca Millipore e modelo WP 6111560, recolhe o líquido filtrado.

A contagem de bactérias lácticas foi realizada conforme descrito na ISO 15.214 (1998).

Posteriormente à filtração, retirou-se o copo e, com a ajuda de uma pinça flambada e resfriada, a membrana de 0,45 μm foi transferida para a placa contendo meio com MRS, e incubadas em estufa da marca Solab e modelo BOD SL 200/334 a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas, sendo o resultado expresso em UFC/10g.

3.6.4 Análise sensorial

a) Floco ácido

A análise visual de presença de floco ácido foi baseada na rotina dos laboratórios de controle de qualidade da indústria de bebidas.

A amostra de refrigerante na posição vertical foi avaliada frente à iluminação de alta intensidade com a realização de movimento giratório suave verificou-se a presença ou ausência de floco ácido.

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

0 – Ausência de flocos (negativo).

1 – Leve presença: Partículas discretas e muito pequenas, visível à luz (positivo).

2 – Média presença: Diversas partículas agrupadas, visível à luz (positivo).

3 – Forte presença: Aglomerado de partículas coloidais, visíveis sem o auxílio da luz (positivo).

3.6.5 Ensaios

Devido à inexistência de correlação direta sobre o teor de dextrana e amido no açúcar capaz de provocar a formação de floco ácido em bebidas carbonatadas, foram realizados três ensaios com a adição de diferentes concentrações de dextrana e amido em refrigerante sem adição de açúcar (*diet*) com posterior avaliação da formação de precipitados. A avaliação visual da presença de floco ácido foi realizada mensalmente por período de 180 dias, conforme metodologia descrita anteriormente (3.6.4 a).

Os ensaios 1 e 2 foram realizados com diferentes concentrações de amido e dextrana, respectivamente. No ensaio 3 utilizou-se diferentes concentrações de amido e dextrana. As concentrações utilizadas estão apresentadas na Tabela 5. A amostra controle não apresentava adição de contaminantes.

Tabela 5. Ensaio com contaminantes.

Contaminante	Concentração (ppm)		
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3
Amido	75	0	75
Dextrana	0	75	75
Amido	100	0	100
Dextrana	0	100	100
Amido	150	0	150
Dextrana	0	150	150
Amido	200	0	200
Dextrana	0	250	250
Amido	250	0	250
Dextrana	0	300	300

3.6.6 Tratamento de dados

Foram coletadas 15 amostras de cada matéria-prima (açúcar cristal, xarope simples, xarope composto e refrigerante) que foram analisadas em triplicatas tendo os dados avaliados de acordo com a influência de duas variáveis, teor de dextrana e amido na formação de floco ácido, potencial floco, turbidez e cor.

O programa XLStat 7.5 a um nível de significância de 5% foi empregado para o cálculo de correlação entre as variáveis dependentes e independentes. O teste de Tukey a 95% de confiança foi utilizado para a comparação das médias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises Físico-Químicas

4.1.1 Quantificação de amido

A Tabela 6 apresenta os valores obtidos nas análises de quantificação de amido nas 15 amostras de açúcar, xarope simples, xarope final e refrigerante.

Tabela 6. Resultados das análises de amido das amostras testadas.

Amostra	Safra	Açúcar (mg/kg)	Xarope Simples (mg/L)	Xarope Final (mg/L)	Refrigerante (mg/L)
1	2012-07	nd	nd	nd	nd
2	2012-07	88,61 ± 4,26 ^b	113,70 ± 3,71 ^b	121,39 ± 2,53 ^b	121,79 ± 1,21 ^b
3	2012-08	31,96 ± 3,21 ^d	38,94 ± 5,21 ^d	37,22 ± 2,53 ^{de}	36,41 ± 3,06 ^{ef}
4	2012-08	55,83 ± 1,85 ^c	44,1 ± 3,64 ^d	50,17 ± 1,21 ^c	48,95 ± 3,21 ^d
5	2012-09	35,31 ± 4,74 ^d	nd	27,51 ± 5,99 ^f	37,22 ± 4,26 ^{ef}
6	2012-10	61,90 ± 5,47 ^c	61,09 ± 4,86 ^c	49,36 ± 2,53 ^c	76,06 ± 6,69 ^c
7	2012-11	36,83 ± 0,76 ^d	37,62 ± 2,53 ^d	40,46 ± 2,43 ^d	42,88 ± 3,21 ^{de}
8	2012-11	36,12 ± 4,09 ^d	29,93 ± 2,53 ^d	36,81 ± 3,21 ^{de}	27,10 ± 1,21 ^f
9	2013-05	180,46 ± 7,90 ^a	187,70 ± 13,17 ^a	168,21 ± 1,85 ^a	184,11 ± 5,99 ^a
10	2013-05	nd	nd	nd	nd
11	2013-05	nd	nd	nd	nd
12	2013-05	nd	nd	nd	nd
13	2013-05	nd	nd	nd	nd
14	2013-05	33,17 ± 3,21 ^d	35,60 ± 3,64 ^d	31,55 ± 2,53 ^{ef}	53,00 ± 3,71 ^d
15	2013-08	nd	nd	nd	nd

Médias dos resultados obtidos ± desvio padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 95% de significância.

nd – não detectado (valor abaixo do limite de detecção do método de 25 mg/Kg e/ou 25 mg/L).

As amostras testadas apresentaram diferentes valores na concentração de amido. Os menores valores encontrados foram os caracterizados como abaixo do limite de detecção do método, 40% das amostras de açúcar e 47% das amostras de xarope simples, xarope final e refrigerante enquadram-se neste patamar. Os maiores teores de amido foram observados em uma das amostras da safra de maio de 2013 (número 9). Entretanto, as amostras 10, 11, 12 e 13, das mesmas safras que as amostras 9, apresentaram valores abaixo do limite de detecção do método. Neste estudo, a avaliação por safra para quantificação de amido não é representativa, uma vez que a coleta de açúcar cristal foi aleatória, abrangendo açúcares de diferentes usinas. Como o teor de amido é uma característica da variedade da cana-de-açúcar (CUDDIHY et al., 2001), a utilização de diferentes cultivares de cana justifica as variações observadas. Segundo IMRIE e TILBURY (1972), a concentração do amido na cana-de-açúcar varia amplamente dependendo da estação, variedade, ocorrência de doenças na cana, maturidade, condições de processamento e método de análise.

De acordo com OLIVEIRA et al (2007), os açúcares comerciais brasileiros classificados como tipo 2 e 3 possuem o limite máximo de 180 mg de amido/Kg de açúcar, 100% das amostras de açúcar cristal analisadas estão dentro desta especificação. LEMOS (2012) quantificou amido em amostras de açúcar cristal e encontrou valores acima desta especificação, os valores encontrados variaram de 49,11 mg/kg a 299,92 mg/kg.

Não foram encontrados dados na literatura sobre a quantificação de amido em xarope simples, xarope final e/ou refrigerantes. Observou-se que pelos resultados encontrados que o teor de amido sofreu variação de até 60% entre as diferentes etapas do processo produtivo. Estas variações podem ser explicadas pela adição de outro lote de açúcar no processo de produção com maior ou menor concentração de amido. Em função da dinâmica produtiva da fábrica este item não pode ser controlado.

4.1.2 Quantificação de dextrana

A Tabela 7 apresenta os resultados das análises realizadas para quantificação de dextrana nas 15 amostras de açúcar, xarope simples, xarope composto e refrigerante.

Tabela 7. Resultados das análises de dextrana das amostras testadas.

Amostra	Safra	Açúcar (mg/kg)	Xarope Simples (mg/L)	Xarope Final (mg/L)	Refrigerante (mg/L)
1	2012-07	29,95 ± 1,03 ^d	34,51 ± 5,34 ^c	36,26 ± 2,87 ^c	30,37 ± 0,92 ^c
2	2012-07	nd	nd	nd	nd
3	2012-08	26,91 ± 3,35 ^d	22,01 ± 2,03 ^d	23,19 ± 1,90 ^d	23,64 ± 1,59 ^{cd}
4	2012-08	55,82 ± 3,40 ^b	62,60 ± 3,25 ^a	55,87 ± 2,89 ^b	58,41 ± 9,64 ^b
5	2012-09	63,40 ± 3,44 ^a	56,25 ± 4,24 ^a	68,55 ± 8,30 ^a	71,86 ± 8,62 ^a
6	2012-10	nd	nd	nd	nd
7	2012-11	14,29 ± 1,94 ^e	10,48 ± 1,97 ^e	10,17 ± 1,03 ^c	10,18 ± 0,22 ^e
8	2012-11	45,95 ± 2,11 ^c	44,40 ± 0,47 ^b	45,04 ± 2,25 ^c	46,24 ± 2,84 ^b
9	2013-05	16,62 ± 3,28 ^e	11,19 ± 1,27 ^e	10,06 ± 0,28 ^e	10,20 ± 1,02 ^e
10	2013-05	nd	nd	nd	10,68 ± 1,89 ^{de}
11	2013-05	nd	nd	nd	nd
12	2013-05	nd	nd	nd	nd
13	2013-05	nd	nd	nd	nd
14	2013-05	12,38 ± 0,64 ^e	nd	nd	10,15 ± 2,92 ^e
15	2013-08	nd	nd	nd	nd

Médias dos resultados obtidos ± desvio padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 95% de significância.

nd – não detectado (valor abaixo do limite de detecção do método de 10 mg/Kg ou 10 mg/L).

As amostras analisadas apresentaram diferentes concentrações de dextranas. Em 47% das amostras de açúcar, 53% das amostras de xaropes simples e final e 40% das amostras de refrigerante encontraram-se os menores teores de dextrana, caracterizados como abaixo do limite de detecção do método. As maiores concentrações de dextrana foram observadas nas amostras rotuladas como 5.

Diversos fatores ambientais e de processamento contribuem para formação de dextrana. Segundo SOLOMON (2009), a presença de dextransas está associada à temperatura e umidade no período da colheita, procedimento de colheita (cana queimada ou cana verde), tempo decorrido do corte até a moagem, métodos de armazenamento (armazenamento aberto ou em pilhas), tamanho das pilhas e duração do armazenamento e más condições sanitárias do moinho. O conteúdo de dextrana também depende do genótipo da cana (BHATIA et al, 2009). Neste estudo não foi possível correlacionar se o baixo índice de dextrana encontrado está associado aos fatores relatados na literatura. Na avaliação de 21 amostras de açúcar cristal do estudo de LEMOS (2012) encontrou-se valores de dextrana que variaram de 15,39 mg/kg a 337,22 mg/kg. Os menores valores de dextrana foram observados na cana crua colhida mecanicamente e no período de menor índice pluviométrico. Na cana-de-açúcar colhida em período sem registro de chuva na região, os valores de dextrana variaram de 15,39 mg/kg a 73,55 mg/kg.

Considerando os dados de especificação dos açúcares comerciais brasileiro de OLIVEIRA et al 2007, todas as amostras de açúcar cristal analisadas estão dentro do limite estabelecido para açúcar tipo 2.

RODRIGUES FILHO et al (2007) quantificaram dextrana totais em açúcares e cachaças industriais e artesanais. Os valores quantificados em açúcar cristal variaram de 100 mg/kg a 820 mg/kg e os valores encontrados em cachaça industriais e artesanais foram na ordem de mediana de 5,6 mg/L e 7,6 mg/L, respectivamente. Os açúcares analisados não foram coletados junto aos produtores de cachaça.

Não foram encontrados dados na literatura sobre o índice de dextrana em xarope simples, xarope final e/ou refrigerantes. Observou-se que pelos resultados encontrados que o teor de dextrana sofreu variação de até 60% entre as diferentes etapas do processo produtivo. Estas variações podem ser explicadas pela adição de outro lote de açúcar no processo de produção com maior ou menor concentração de dextrana. Em função da dinâmica produtiva da fábrica este item não pode ser controlado.

4.1.3 Cor

As amostras de açúcar cristal apresentaram diferentes valores individuais na determinação de cor. O maior e menor valor encontrado foram $171 \pm 9,2$ UI e $74 \pm 1,4$ UI. Todos os valores encontrados estão dentro das especificações de recebimento de açúcar cristal para indústria de refrigerantes (máximo de 200 UI). Das amostras testadas 73% podem ser classificadas como açúcar do tipo 2 (máximo de 150 UI), 20% como tipo 1 (máximo de 100 UI) e 7% como tipo 3 (máximo de 200 UI). A Tabela 8 expõe os valores obtidos nas análises de determinação de cor em açúcar cristal.

Tabela 8. Resultados das análises de cor das amostras de açúcar cristal.

Amostra	Safra	Cor (UI)
1	2012-07-A	98 ± 1,4 ^{ef}
2	2012-07-A	171 ± 9,2 ^a
3	2012-08-A	74 ± 1,4 ^g
4	2012-08-A	108 ± 1,4 ^{cdef}
5	2012-09-A	108 ± 0,7 ^{cdef}
6	2012-10-A	111 ± 0,7 ^{bcde}
7	2012-11-A	142 ± 9,9 ^b
8	2012-11-A	111 ± 0,7 ^{bcde}
9	2013-05-A	119 ± 1,4 ^{bcd}
10	2013-05-A	128 ± 1,4 ^b
11	2013-05-A	112 ± 0,7 ^{bcde}
12	2013-05-A	126 ± 4,2 ^{bc}
13	2013-05-A	96 ± 2,8 ^f
14	2013-05-A	117 ± 0,7 ^{bcd}
15	2013-08-A	103 ± 6,4 ^{ef}

NOTA: Médias em UI (unidade ICUMSA) ± desvio padrão da média.
Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 95% de significância.

De acordo com AMORIM (2013), existe uma correlação direta entre a cor do açúcar e a quantidade de dextranas. A Figura 9 ilustra essa afirmativa. De acordo com os dados observados na Figura 9 quanto maior a cor do açúcar, maior o teor de dextrana. As dextranas dificultam a remoção do material em suspensão durante a etapa de clarificação do açúcar (NAESSENS et al, 2005). Esses dados corroboram com os resultados encontrados de dextrana, uma vez que foram observados baixos teores de dextrana e cor nos açúcares cristal analisados.

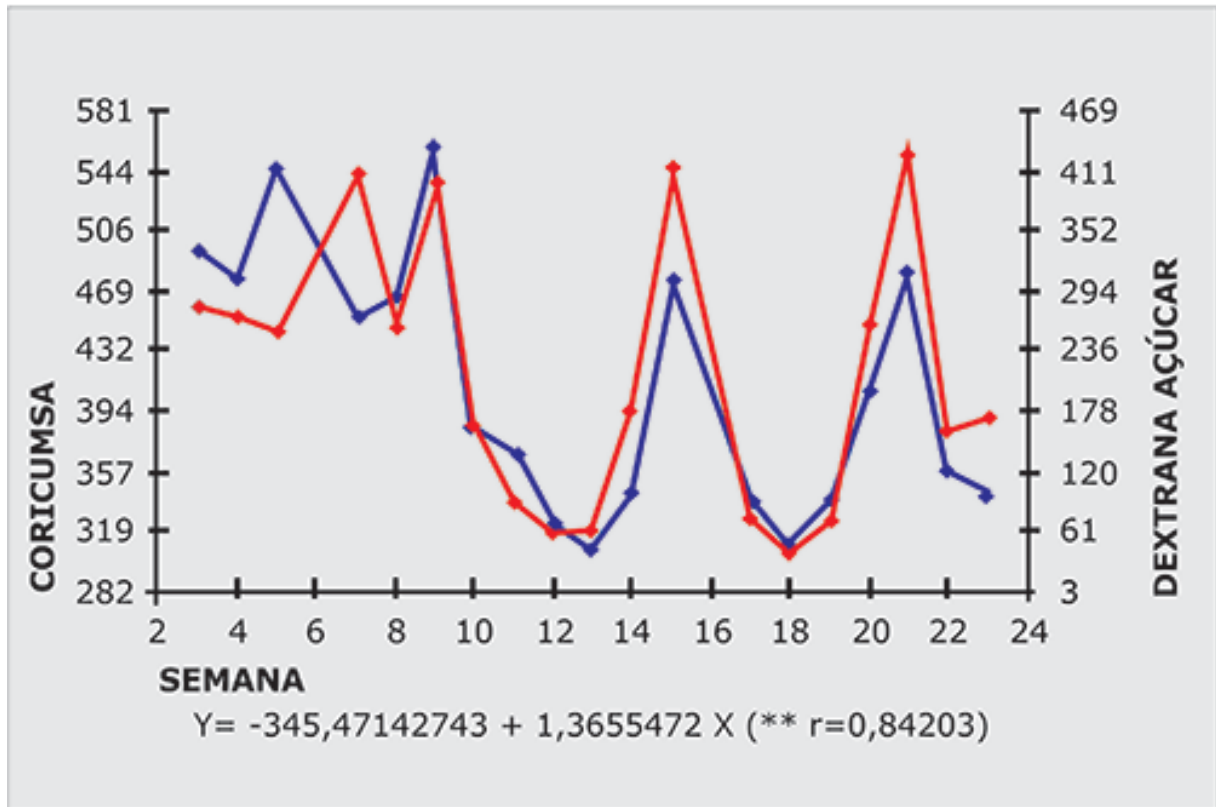


Figura 9. Efeito da dextrana na cor do açúcar.
 Fonte: Revista Opiniões, 2013.

4.1.4 Turbidez

Os valores observados na análise de turbidez encontram-se dentro da especificação máxima de 20 NTU utilizada pelos produtores de açúcar, porém os resultados não mostram correlação com as concentrações de amido e dextrana. Os resultados da amostra 9 e 5 com maior teores de amido e dextrana, respectivamente, apresentaram menor turbidez que as amostras 1 e 2 onde as concentrações de amido e dextrana encontradas foram abaixo do limite de detecção do método, respectivamente. Na Tabela 9 são apresentados os resultados de turbidez das amostras de açúcar cristal, xarope simples, xarope final e refrigerante.

Tabela 9. Resultados de turbidez das amostras testadas.

Amostra	Açúcar (NTU)	Xarope simples (NTU)	Xarope final (NTU)	Refrigerante (NTU)
1	6,13 ± 0,25 ^{ab}	6,90 ± 0,40 ^{ab}	5,93 ± 0,21 ^b	5,93 ± 0,21 ^a
2	5,60 ± 0,36 ^{bc}	6,27 ± 0,47 ^{bc}	5,10 ± 0,2 ^c	5,10 ± 0,20 ^b
3	6,57 ± 0,15 ^a	7,40 ± 0,36 ^a	6,67 ± 0,32 ^a	6,63 ± 0,31 ^a
4	4,10 ± 0,26 ^d	4,83 ± 0,31 ^{de}	4,27 ± 0,21 ^{de}	4,23 ± 0,25 ^{cd}
5	3,87 ± 0,15 ^{de}	4,67 ± 0,40 ^{def}	4,03 ± 0,29 ^{ef}	4,03 ± 0,29 ^{de}
6	3,67 ± 0,21 ^{de}	4,23 ± 0,06 ^{ef}	3,70 ± 0,20 ^{efg}	3,60 ± 0,10 ^{def}
7	6,80 ± 0,30 ^a	7,67 ± 0,49 ^a	6,60 ± 0,44 ^{ab}	6,60 ± 0,44 ^a
8	4,37 ± 0,25 ^d	5,43 ± 0,15 ^{cd}	4,87 ± 0,21 ^{cd}	4,80 ± 0,30 ^{bc}
9	4,20 ± 0,36 ^d	4,40 ± 0,46 ^{ef}	3,10 ± 0,20 ^g	3,03 ± 0,21 ^f
10	5,20 ± 0,30 ^c	6,27 ± 0,47 ^{bc}	5,17 ± 0,15 ^c	5,17 ± 0,15 ^b
11	3,73 ± 0,21 ^{de}	5,10 ± 0,20 ^{de}	4,13 ± 0,15 ^e	4,13 ± 0,15 ^{cd}
12	4,10 ± 0,17 ^d	5,07 ± 0,21 ^{de}	3,83 ± 0,12 ^{ef}	3,67 ± 0,15 ^{def}
13	4,27 ± 0,15 ^d	5,00 ± 0,09 ^{de}	4,33 ± 0,15 ^{de}	4,30 ± 0,10 ^{cd}
14	3,30 ± 0,20 ^e	3,70 ± 0,2 ^f	3,40 ± 0,30 ^{fg}	3,40 ± 0,30 ^{ef}
15	4,13 ± 0,15 ^d	4,73 ± 0,15 ^{de}	4,20 ± 0,17 ^{de}	4,30 ± 0,10 ^{cd}

NOTA: Médias em NTU ± desvio padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 95% de significância.

Não foram encontrados dados na literatura sobre a turbidez de açúcar, xarope simples, xarope final e/ou refrigerantes.

4.1.5 Potencial de flocos

Todas as amostras testadas apresentaram resultado negativo sem formação de floco, porém algumas amostras apresentaram turvação. As amostras que expuseram resultados abaixo do limite de detecção do método na quantificação de amido e dextrana não apresentaram turbidez. Em todas as amostras em que foram quantificados amido e/ou dextrana, independentemente da quantidade, foram observadas turvação. Os resultados de potencial floco nas amostras de açúcar cristal são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Resultados do ensaio de potencial floco no açúcar cristal.

Amostra	Safra	Potencial Floco
1	2012-07-A	0 = Turvo
2	2012-07-A	0 = Turvo
3	2012-08-A	0 = Turvo
4	2012-08-A	0 = Turvo
5	2012-09-A	0 = Turvo
6	2012-10-A	0 = Turvo
7	2012-11-A	0 = Turvo
8	2012-11-A	0 = Turvo
9	2013-05-A	0 = Turvo
10	2013-05-A	0 = Negativo
11	2013-05-A	0 = Negativo
12	2013-05-A	0 = Negativo
13	2013-05-A	0 = Negativo
14	2013-05-A	0 = Turvo
15	2013-08-A	0 = Negativo

Os resultados obtidos estão de acordo com o estudo de LEMOS (2012) que não observaram formação de floco na análise de amostras de açúcar cristal, entretanto, algumas amostras apresentaram turvação.

Os valores observados demonstram que o amido e a dextrana apresentam alta contribuição para a formação de turbidez nas soluções ácidas carbonatadas. Todavia, o mecanismo de formação do floco ácido ainda não é totalmente conhecido.

Segundo Clarke et al. (1999), o floco de bebida carbonatada ácida, conhecido como floco ácido ABF (Acid Beverage Flocc), decorre de uma agregação coloidal de compostos do açúcar (dotados de carga), dos quais ressaltam-se as proteínas e o polissacarídeo ISP (Indigenous Sugarcane Polysaccharide). Após a formação deste “floco intermediário”, há interação com amido, dextranas, silicato, substâncias coloidais solúveis e outros polissacarídeos. Devido ao ácido glucônico, o ISP carrega uma carga negativa em faixa ampla de pH e é responsável por esta desestabilização. Como a carga do ácido glucurônico é oposta ao pH de bebidas, através da atração de carga, ocorre uma combinação para formar um coacervato como a base para formação de uma rede de flocos.

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

Em consonância com os dois modelos de formação de floco ácido descritos na literatura, somente a presença de amido e/ou dextrana não é suficiente para a formação do floco ácido. A turvação observada pode está relacionada à precipitação das dextranas no meio.

4.2 Análise Microbiológica

4.2.1 Contagem de bactérias lácticas

Nenhuma amostra analisada de açúcar cristal apresentou contagem de bactérias lácticas. Os resultados encontrados também foram observados nos estudos de FARIA et al (2012) que quantificaram bactérias lácticas em açúcar cristal de canas-de-açúcar colhidas manualmente e mecanicamente, uma vez que os resultados obtidos variaram de 0 a 10 UFC/10g, porém uma contaminação maior foi observada nos lotes produzidos por cana-de-açúcar colhida manualmente.

A enzima dextrana-sacarase, responsável pela formação das dextranas, é oriunda de bactérias contaminantes da cana-de-açúcar (JIMENEZ, 2009). Dentro do grupo das bactérias lácticas, o micro-organismo *Leuconostoc mesenteroides*, contaminante natural do solo das plantações, é o principal deteriorante (SOLOMON, 2009).

Os critérios de qualidade microbiológicos das indústrias compradoras de açúcar são estabelecidos de acordo com a sua própria necessidade, fábricas de refrigerantes necessitam que as análises realizadas para bactérias lácticas apresentem resultados ausentes, pois a presença desse microrganismo pode alterar o produto. O açúcar com contagem positiva de bactérias lácticas pode ser direcionado a fabricantes de balas, pois a presença mínima desse micro-organismo não afeta de forma brusca a qualidade desse produto (FARIA et al, 2012).

4.3 Análise Sensorial

4.3.1 Floco ácido

As amostras de refrigerantes analisadas apresentaram diferentes resultados na avaliação mensal de presença floco ácido em até 180 dias de estocagem. Os valores encontrados estão dispostos na Tabela 11.

Tabela 11. Avaliação da formação de floco ácido em refrigerantes.

Amostra	Matéria-Prima	Dextrana (mg/L)	Amido (mg/L)	Período (dias)					
				30	60	90	120	150	180
1	2012-07-Rc	30,37 ± 0,92 ^c	nd	0	0	0	0	0	1
2	2012-07-Ru	nd	121,79 ± 1,21 ^b	0	3	3	3	3	3
3	2012-08-Rc	23,64 ± 1,59 ^{cd}	36,41 ± 3,06 ^f	0	0	2	2	2	2
4	2012-08-Rc	58,41 ± 9,64 ^b	48,95 ± 3,21 ^d	0	0	0	0	0	2
5	2012-09-Rc	71,86 ± 8,62 ^a	37,22 ± 4,26 ^{ef}	0	0	0	0	0	0
6	2012-10-Rc	nd	76,06 ± 6,69 ^c	0	1	1	1	1	1
7	2012-11-Rc	10,18 ± 0,22 ^e	42,88 ± 3,21 ^{de}	0	0	1	2	2	2
8	2012-11-Ru	46,24 ± 2,84 ^b	27,10 ± 1,21 ^f	0	3	3	3	3	3
9	2013-05-Rc	10,20 ± 1,02 ^e	184,11 ± 5,99 ^a	0	1	1	1	2	2
10	2013-05-Rc	10,68 ± 1,89 ^{de}	nd	0	0	0	0	0	0
11	2013-05-Rc	nd	nd	0	0	0	0	0	0
12	2013-05-Rc	nd	nd	0	0	0	0	0	0
13	2013-05-Rc	nd	nd	0	0	0	0	0	0
14	2013-05-Rc	10,15 ± 2,92 ^e	53,00 ± 3,71 ^d	0	0	1	1	1	1
15	2013-08-Rc	nd	nd	0	0	0	0	0	0

Onde: Rc= refrigerante sabor cola; Ru= refrigerante sabor uva.

Amostras com resultados de dextrana e amido abaixo do limite de detecção dos métodos não foram observados presença de floco ácido (resultado negativo). A amostra 10 que apresentou amido abaixo do limite de detecção do método e resultado de dextrana próximo do limite de detecção (10,18 mg/L) também não ocorreu formação de floco ácido. Sendo assim, verifica-se que a formação de floco ácido está diretamente ligada a presença de dextrana e/ou amido.

Em nenhuma amostra com resultado positivo, independente da concentração de amido e dextrana, ocorreu formação de floco ácido antes do período de estocagem de 30 dias.

A amostra 9 com maior teor de amido apresentou resultado positivo a partir de 60 dias de estocagem e até o período máximo observado (180 dias) a amostra apresentou presença média de floco ácido. Como esta amostra apresentou baixa quantidade de dextrana, pode-se considerar que a presença de floco ácido foi influenciada pela concentração de amido presente. Segundo JOHNSON (1989), a presença de amido, combinada ou não com a dextrana, exerce efeito negativo no processamento de açúcar, podendo resultar em aumento sinérgico de problemas de viscosidade.

A amostra 2 apresentou menor teor de amido que a amostra 9 e com nível de dextrana abaixo do limite de detecção do método, porém foi observada forte presença de floco ácido desde os 60 dias após sua produção. A amostra 2, diferentemente da amostra 9, é do sabor uva. Portanto, observa-se que a formulação do refrigerante sabor uva é mais susceptível que o sabor cola para formação de floco ácido. Corrobora com esta análise o resultado encontrado na amostra 8 (sabor uva) que também apresentou forte presença de floco ácido desde os 60 dias de estocagem. Somente as amostras do sabor uva apresentaram forte presença de floco ácido.

A amostra 5 até o período máximo de avaliação apresentou resultado negativo para a presença de floco ácido. O resultado observado na amostra 5, assim como, a falta de correlação direta da concentração de amido e/ou dextrana com a característica de floco observados nas amostras 1, 3, 4, 6, 7 e 14 pode ser explicado pelo mecanismo de formação de floco ácido descrito por CLARKE et al (1999) que relata que a formação do floco ácido inicia com a formação do “floco intermediário”, através da interação de proteínas com polissacarídeos ISP. Sendo assim, não é somente a dextrana e/ou amido os responsáveis pela formação de floco ácido. Para melhor avaliação dos contribuintes de formação de floco ácido em refrigerante, seria necessário a determinação do teor do polissacarídeo ISP e proteínas presentes na composição da formulação da bebida.

Nos resultados encontrados de todas as amostras testadas com presença positiva de floco não foram observadas correlação direta da influência das concentrações dos contaminantes, amido e dextrana, no tempo de estocagem necessário para a formação do floco ácido (exemplo das amostras 3 e 4). Este resultado também pode ser justificado pelo mecanismo de formação floco ácido descrito por Clarke et al (1999). E, portanto, para melhor avaliação do tempo decorrente necessário para a formação de floco ácido em refrigerante, seria necessário a determinação do teor do polissacarídeo ISP e proteínas presentes na composição da formulação da bebida.

De acordo com AQUINO (2006), a formação de depósitos é o principal problema decorrente da adição de açúcar na cachaça. Tais depósitos, denominados flocos alcóolicos desvalorizam comercialmente a cachaça, pela associação que os consumidores fazem dos mesmos a falhas de higiene durante o seu processo produtivo ou a baixa qualidade da matéria-prima (AQUINO, 2006). A adição de açúcar em cachaça, mesmo em valores que atendam à legislação, pode introduzir no produto dextranas em concentrações suficientes para desencadear o aparecimento de flocos (RODRIGUES-FILHO et al, 2007).

Em estudos realizados por AQUINO (2009), a redução da acidez de aguardente de 29,48 para 13,91 mg ácido acético/100 mL de aguardente, demonstraram claramente a

influência da acidez total quanto ao favorecimento da precipitação de dextranas de alta massa molecular numa mesma temperatura. Estimou-se, ainda, que a aguardente adoçada com acidez próxima dos valores medianos encontrados no mercado, mantidas sob estocagem na faixa de 25–30°C e contendo dextranas com massa molar da ordem de 10⁶ Da, demandará um tempo mínimo de 90 dias para formação de precipitados.

4.4 Ensaios

A amostra controle dos ensaios não apresentou presença de floco ácido durante todo o período de avaliação.

Todas as amostras testadas no ensaio 1, realizado para correlacionar o teor de amido no açúcar capaz de provocar a formação de floco ácido em bebidas carbonatadas, apresentaram presença positiva de floco ácido. Os resultados observados durante o período de 180 dias de teste estão dispostos na Tabela 12.

Tabela 12. Resultados do ensaio 1 de formação de floco ácido em refrigerantes.

Ensaio	Concentração (ppm)		Período (dias)					
	Amido	Dextrana	30	60	90	120	150	180
1	75	0	0	1	2	2	3	3
	100	0	0	1	2	3	3	3
	150	0	0	2	3	3	3	3
	200	0	0	3	3	3	3	3
	250	0	0	3	3	3	3	3

Após 180 dias de estocagem todas as amostras do ensaio 1 foram pontuadas no critério 3 (forte presença) com formação de aglomerado de partículas coloidais, visíveis sem o auxílio da luz. Independente da concentração testada nenhuma amostra precipitou com 30 dias decorridos da fabricação e com 60 dias todas as amostras apresentaram resultado positivo, porém com diferentes níveis de formação de precipitado. A concentração de 75 ppm de amido é suficiente para formar flocos ácidos em bebidas carbonatadas do sabor cola. Como era esperado, quanto maior o teor de amido, maior o grau de precipitação. Não houve diferença nas amostras com 200 e 250 ppm de amido.

O ensaio 2, realizado com diferentes concentrações de dextrana para avaliar em que grau este contaminante no açúcar é capaz de gerar a formação de floco ácido em refrigerantes, apresentou resultado negativo em todo o período de avaliação nas amostras com concentrações de 75 e 100 ppm. Os resultados obtidos no ensaio 2 estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Resultados do ensaio 2 de formação de floco ácido em refrigerantes.

Ensaio	Concentração (ppm)		Período (dias)					
	Amido	Dextrana	30	60	90	120	150	180
2	0	75	0	0	0	0	0	0
	0	100	0	0	0	0	0	0
	0	150	0	0	0	0	1	1
	0	250	0	0	0	0	1	1
	0	300	0	0	1	1	1	1

No ensaio 2 os resultados positivos para presença de floco ácido foram observados a partir da concentração 150 ppm. Sendo assim, considerando apenas o contaminante dextrana, a concentração de dextrana 150 ppm é suficiente para provocar a formação de precipitados indesejados em refrigerantes sabor cola após 150 dias de estocagem. Todas as amostras do ensaio 2 que apresentaram resultado positivo (150 a 300 ppm) foram classificadas na pontuação 1 (leve presença), as partículas observadas foram discretas e muito pequenas e somente visíveis à luz. A diferença observada nestas amostras está relacionada ao período de tempo necessário para a observação do floco ácido. A amostra com maior teor de dextrana (300 ppm) apresentou precipitação após 90 dias de estocagem. No entanto, as amostras com as maiores concentrações do contaminante (250 e 300 ppm) apresentaram resultado positivo após 150 dias de estocagem.

Comparando os resultados observados nos ensaios 1 e 2, verifica-se que o amido possui maior contribuição na formação de floco ácido que a dextrana.

No ensaio 3, realizado com diferentes concentrações de amido e dextrana para avaliar a influência conjunta destes dois contaminantes em bebidas carbonatadas, apresentaram resultado positivo para a presença de floco ácido em todas as amostras testadas, conforme apresentado na Tabela 14.

Tabela 14. Resultados do ensaio 3 de formação de floco ácido em refrigerantes.

Ensaio	Concentração (ppm)		Período (dias)					
	Amido	Dextrana	30	60	90	120	150	180
3	75	75	0	2	3	3	3	3
	100	100	0	3	3	3	3	3
	150	150	0	3	3	3	3	3
	200	250	0	3	3	3	3	3
	250	300	0	3	3	3	3	3

Após 180 dias de estocagem todas as amostras do ensaio 3 foram pontuadas no critério 3 (forte presença) com formação de aglomerado de partículas coloidais, visíveis sem o auxílio da luz. Independente da concentração testada nenhuma amostra precipitou com 30 dias decorridos da fabricação e com 60 dias todas as amostras apresentaram resultado positivo. O ensaio 3 comprova que a presença de amido e dextrana em conjunto proporcionam maior influência na formação de precipitados em refrigerantes do que quando os contaminantes estão isolados na amostra (ensaio 1 e 2).

Os resultados observados nos ensaios comprovam que as dextranas, consideradas contaminantes endêmicos da sacarose, podem ser reportadas como indicador de deterioração do açúcar (AQUINO, 2006) e devem ser controladas ao longo do processo de produção de açúcar de modo a reduzir ao máximo sua formação evitando, assim, a formação de flocos.

A presença de amido exerce efeito negativo no processamento de açúcar, podendo, portanto, resultar em problemas de viscosidade (JOHNSON, 1989). Segundo OLIVEIRA et al (2007), sua presença pode ser observada visualmente em licores, refrigerante, isotônicos e líquidos transparentes, criando a imagem de produto acabado de má qualidade ou até mesmo deteriorado. Os resultados dos ensaios corroboram com estas afirmações.

Os resultados obtidos nos ensaios confirmam que existe tempo mínimo de estocagem para o surgimento de defeito sensorial de refrigerantes provocado pela presença de amido e/ou dextrana, sendo, portanto, este tipo de defeito mais comumente observado em bebidas ácidas

carbonatadas que possuem prazo de validade extenso como as envasados em embalagem de vidro.

Como para a elaboração dos ensaios as amostras foram coletadas sequencialmente da linha de produção, utilizou-se o mesmo lote de concentrado e portanto, os teores de outros polissacarídeos capazes de provocar precipitação em bebidas carbonatadas são semelhantes em todas as amostras analisadas. Entretanto, neste estudo não quantificou-se a concentração destes polissacarídeos.

4.5 Aplicação Prática

O estoque regulador tem como propósito compensar as incertezas entre a demanda e o ressuprimento. Ele protege a empresa contra dois tipos de incertezas. O primeiro é o do excesso da demanda sobre as quantidades projetadas, e o segundo diz respeito ao tempo de espera no ciclo de atividades (PINTO et al, 2003). A política de estoque regulador é amplamente utilizada no mercado econômico de grãos, neste caso, com o objetivo de minimizar as variações bruscas de preços decorrentes da sazonalidade anual da agricultura.

No âmbito da qualidade, a política de estoque regulador é utilizada no processo de produção no intuito de manter os padrões de qualidade do produto, principalmente no que tange aos produtos agrícolas que sofrem naturalmente a influência climática no decorrer do ano e, portanto, podem apresentar alterações nas suas especificações. A prática de mescla de diferentes lotes de insumos possibilita a padronização do seu produto final. Sabendo-se que existe variação ao longo do ano no conteúdo de amido e dextranas no açúcar, a alternativa de adoção de estoque regulador desta matéria-prima pode minimizar os problemas que estes polissacarídeos possam causar. Como o prazo de validade do açúcar cristal é de dois anos, a alternativa de estoque regulador torna-se uma alternativa viável para a indústria de refrigerantes.

5 CONCLUSÃO

○ Amido e dextranas influenciam diretamente na formação floco ácido em refrigerante e sem a presença destes polissacarídeos não há ocorrência de precipitados na bebida, todavia apenas estes polissacarídeos não são os únicos responsáveis por este tipo de defeito sensorial.

○ Não há barreiras ao longo do processo produtivo de bebidas carbonatadas para minimizar a presença dos contaminantes estudados, uma vez que os seus conteúdos não foram eliminados ao longo do processo produtivo.

○ A cor do açúcar é fortemente influenciada com os teores de dextranas ao contrário da turbidez que não se relaciona com os conteúdos de dextrana e amido.

○ A análise de potencial floco do açúcar não é um controle efetivo da matéria-prima para o aparecimento de floco ácido.

○ A ocorrência em conjunto de amido e dextrana proporciona maior influência na formação de precipitados do que quando os contaminantes estão isolados na bebida, entretanto, comparativamente, parece que o amido exerce maior influência do que as dextranas no surgimento do floco ácido.

○ O desenvolvimento do floco ácido, assim como, sua característica de formação depende dos componentes da formulação da bebida.

○ Ao longo do ano existe variação do teor de amido e/ou dextrana no açúcar, isso possibilita a indústria a adoção de estoques e a mescla de produtos, padronizando assim a concentração aceitável desses dois contaminantes endêmicos do produto e minimizando os problemas que eles possam causar.

6 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Realizar estudo para identificação e quantificação de amido e dextrana em xarope de açúcar invertido comercial, para fins de viabilizar a produção de bebidas carbonatadas acidificadas estáveis durante o seu período de conservação.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-RAHMAN, E.A.; SMEJKAL Q.; SCHICK, R.; EL-SYIAD, S.; KURZ, T. Influence of dextran concentrations and molecular fractions on the rate of sucrose crystallization in pure sucrose solutions. **Journal Food Engineering**, v. 84, p. 501-508, 2008.
- ABIR, Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcoólicas. Disponível em <<http://www.abir.org.br>>. Acesso em 02 de dezembro de 2012.
- ALSOP, R. M. Industrial production of dextrans. **Progress in industrial Microbiology**. v. 18, p. 1-44, 1983.
- AMORIM, H. V. A qualidade da matéria-prima sob a óptica do homem da indústria. **Revista Opiniões**. Disponível em <<http://www.revistaopinioes.com.br/aa/materia.php?id=1185>>. Acesso em: 11 jan. 2014.
- AQUINO, D. S. **Produção de dextranas por novas linhagens de bactérias isoladas da cana-de-açúcar**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2006.
- AQUINO, F. W. B. E.; FRANCO, D. W. Dextranas em açúcares do estado de São Paulo. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1034-1037, 2008.
- AQUINO, F. W. B. **Dextranas em açúcares do estado de São Paulo**. Tese de Doutorado. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.
- AQUINO, F. W. B.; CARDOSO, D. R.; FRANCO, D. W. A presença de dextranas no açúcar brasileiro e suas implicações na formação de flocos na cachaça. **31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Águas de Lindóia, São Paulo, 2008.
- AOAC, Association Of Official Agricultural Chemists. Dextran in Raw Cane Sugar. **Roberts Copper Method. Official methods of analysis**, 2006.
- AOAC. Association Of Official Agricultural Chemists. **Official methods the AOAC International**. 18.ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.
- BARNABÉ, D.. VENTURINI FILHO, W. G.. Refrigerantes. **Bebidas não alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo, 2010. V. 2, p. 177-196.
- BELLO-PÉREZ, L. A. MONTEALVO, M. G. M.; ACEVEDO, E. A. Almidón: definición, estructura y propiedades. In: LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. **Carboidratos em alimentos regionales iberoamericano**. cap. 1, p. 17-46. São Paulo, 2006.
- BHATIA, S.; JYOTI; UPPAL, S.K., THIND K.S.; BATTA, S.K. Post harvest quality deterioration in sugarcane under different environmental conditions. **Sugar Tech**, v. 11, n. 2, p. 154-160, 2009.

BILIADERIS, C. G., ARVANITOYANNIS, I., IZYDORCZYK, M. S., & PROKOPOWICH, D. J. Effect of hydrocolloids on gelatinization and structure formation in concentrate waxy maize and wheat starch gels. **Starch/Starke**, 49, 278–283, 1997.

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

BRASIL, Decreto-lei nº 6.871 de 04 de Junho de 2009. Regulamenta a lei nº 8.918, de 14 de Julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF, 05 de junho de 2009. Seção 1, p. 20.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução CNNPA nº 271, 22 de setembro de 2005. Disponível em <<http://www.anvisa.org.br>>.

CÂNDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. **Alimentos para Fins Especiais: Dietéticos**. São Paulo: Ed. Varela, 1996, 411 p.

CEREDA, M. P. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. 221 p. (Série: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino-Americanas).

CLARKE, M. A.; ROBERTS, E. J.; GODSHALL, M. Acid Beverage Flocc from Sugar Beets. **Sugar Processing Research Institute**, New Orleans, v. 36, n. 3, p. 15-27, 1999.

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

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

DAY, D.; CUDDIHY, J. A.; RAUH, J. S: Versatility of the Antibody Dextran Test Method. **Midland Research Laboratories**, Lenexa, Kansas, USA, 2002.

EGGLESTON, G., KARR, J., PARRIS, A., LEGENDRE B. Viability of an enzymatic mannitol method to predict sugarcane deterioration at factories. **Food Chemical**, p. 476-482, 2008.

EGGLESTON, G., MONGE, A., MONTES, B., STEWART, D. Application of dextranases in sugarcane factory: Overcoming practical problems. **Sugar Tech**, v. 11, n. 2, p. 135-141, 2009.

FARIA, C.; CARNEIRO, S. D.; RAUECKER, U. N. Estudo comparativo da colheita da cana de açúcar em relação a qualidade microbiológica do açúcar cristal. **IV Seminário de Pesquisas e TCC da Faculdade União de Goyazes**, Trindade, Góias, 2012.

FIGUEIRAS, J. A. **Amido de cana-de-açúcar: determinação quantitativa e caracterização**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

GUBOLINO, S. I. F. **Qualidade físico-química e microbiológica de refrigerantes sabor guaraná em embalagens pet - 2000 ml e ocorrência de leveduras.** Dissertação de mestrado, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, São Paulo, 2007.

HORWITZ, W., Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists. 14.ed. Washington: **A.O.A.C.**, p. 1141, 1984.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acessado em: 11/10/12.

ICUMSA, Methods Book - GS 2/3-40, **The ICUMSA 10-day acid beverage floc test for white sugar – Official B – The ICUMSA 24-hour acid beverage floc test for beet white sugar**, 2007.

ICUMSA, Methods Book - GS 1/2/9-15, **The determination of dextran in raw sugar by a modified alcohol haze method**, 2011.

ICUMSA – Methods Book - Method GS1-16 (2009) - **The Determination of Starch in Raw Sugar by a Modified the BSES Method**. Published by Verlag Dr. Albert Bartens KG, Berlin, Germany, 2009.

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

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

LEMOS, L. R. **Influência de diferentes teores de dextrana e amido em açúcar cristal na formação de flocos em soluções ácidas carbonatadas e soluções alcoólicas.** Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, 2012.

LIMA, A. C. S; AFONSO, J. C. A Química do refrigerante. **Química nova na escola**, v. 31, n. 3, 2009.

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

MACIEL, A. C. A extração do açúcar da cana e da beterraba. **Revista Engarrafador Moderno**, Outubro, 2010.

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

MOHABIR, R; KHESWA, Y. A study of enzyme activity and starch reduction. **Tongaat-Hulett Sugar Limited TMD**, nº. 49/03, Durban, South Africa.

MUTTON, M. J. R. Reflexos da qualidade da matéria-prima sobre a fermentação etanólica. **Workshop “PRODUÇÃO DE ETANOL: QUALIDADE DE MATÉRIA-PRIMA”**. Lorena, 2008.

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

OLIVEIRA, A. S.; RINALDI, D. A.; TAMANINI, C.; VOLL, C. E.; HAULY, M. C. O. Fatores que interferem na produção de dextrana por microrganismos contaminantes da cana-de-açúcar. **Ciências Exatas e Tecnológica**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 99-104, 2002.

OLIVEIRA, D. T., ESQUIAVETO, M. M. M., SILVA-JÚNIOR, J. F. Impacto dos itens da especificação do açúcar na indústria alimentícia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, supl. 1, p. 99-102, 2007.

OLIVEIRA, M. C. **Controle microbiológico do açúcar cristal**. Trabalho de conclusão de curso, Ciências Biológicas, Faculdades Integradas Fafibe, Bebedouro, 2010.

PINTO, P. A. V.; PEREIRA, M. M.A; ROMAGNH, M. J. F; NOSSA, V. Gestão estratégica de estoques: o caso de uma indústria de alimentos no estado do Espírito Santo. **X Congresso Brasileiro de Custos**, Espírito Santo, 2003.

RAUH, J. S.; CUDDIHY, J. A.; FALGOUT R. N.; MARQUETTE M. L. Dextran test method provides versatility for sugar factory process monitoring. **International Sugar Journal**, v. 105, n. 1251, p. 100-103, 2003.

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

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

RODRIGUES, M.V.N.; RODRIGUES, R.A.F.; SERRA, G.E. Produção de xarope de açúcar invertido obtido por hidrólise heterogênea, através de planejamento experimental. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 103-109, 2000.

RODRIGUES, S. **Estudo da síntese enzimática de dextrana na presença de maltose como acceptor I**. Tese de doutorado. Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2003.

SALVI, J.V. **Qualidade do corte de base de colhedoras de cana de açúcar**. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2006.

SANTOS, M.; TEXEIRA J.; RODRIGUES, A. Production of dextransucrase, dextran and fructose from sucrose using *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512(f). **Biochemical Engineering Journal**, v. 4, p. 177-188, 2000.

SANTOS, R. V. et al, Composição química da cana-de-açúcar (*saccharum spp.*) e das silagens com diferentes aditivos em duas idades de corte, 2005.

SASKA, M.; GODSHALL, M.; DAY, D. F. Dextran Analysis with Polarimetric, Immunological, **Roberts' and Haze Methods**. **Conference on Sugar Processing Research**. New Orleans, 2002.

SCHACHMAN, M.; **The Soft Drinks Companion, A Technical Handbook for the Beverage Industry**, p. 73-95, 2005.

SCHOONEES, B. M. A Dextran test for VHP sugars. **Proc. S. Afr. Sug. Technol. Ass.**, 79, p. 314, 2005.

SINGLETON, V., HORN, J., BUCKE, C. AND ADLARD, M: A New Polarimetric Method for the Analysis of Dextran and Sucrose. **International Sugar Journal**, 103(1230), 251-254, 2001.

SOLOMON, S. Post-harvest deterioration of sugarcane. **Sugar Tech**. v. 11, p. 109-123, 2009.

SOLOMON, S. Post-Harvest Cane Deterioration and its Milling Consequences. **Sugar Tech**. v. 2, p. 1-18, 2000.

SOUZA, A. M. G. F.; OLIVEIRA, M. C. F. L. O Emprego da Dextranase de *Penicillium herquei* na Remoção de Dextrana em Caldos Contaminados. **Revista STAB**, v. 16, n. 6, p. 34 - 37, 1998.

SOUZA, J. **Estudo da eficiência de alguns polielitrólitos utilizados na clarificação do caldo de cana**. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

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

UNICA, União da Indústria da Cana de Açúcar. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/>>. Acessado em 20/10/2012.

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

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