

**DETERIORAÇÃO DO CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR, *In Natura* E
ESTERILIZADO COM E SEM ADIÇÃO DE *Leuconostoc mesenteroides*.**

MARION PATERSON

Pesquisadora (Área de Indústria) da Estação Experimental de Cana-de-
Açúcar de Carpina da UFRPE.

FRANCISCO DE ASSIS DUTRA MELO

Pesquisador (Área de Indústria) da Estação Experimental de Cana-
de-Açúcar de Carpina da UFRPE.

JOSILENE MARIA DE MORAES BORBA

Pesquisadora (Área de Indústria) da Coordenadoria Regional Norte do
IAA-Planalsucar.

Este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a deterioração do caldo de cana-de-açúcar, *in natura* e esterilizado, com e sem adição de *Leuconostoc mesenteroides*. Foi utilizada cana-de-açúcar, variedade CB 45-3, crua e manualmente colhida. Os colmos da cana-de-açúcar foram trituradas em uma forragelira e o caldo extraído em uma prensa hidráulica. O caldo foi dividido em quatro grupos: *in natura*; *in natura* com adição de *L. mesenteroides*; esterilizado (120 °C, 15 min); e esterilizado com adição de *L. mesenteroides*. As concentrações de *L. mesenteroides* adicionadas aos caldos, *in natura* e esterilizado, foram de ca. 2.8×10^6 células por mL. A deterioração dos caldos foi acompanhada durante 26.5 h através de análises de sacarose (pol), açúcares redutores, acidez, pH e contagem de colônias. As perdas totais de sacarose no caldo *in natura*, sem e com adição de *L. mesenteroides*, 6 h após a extração do caldo e inoculação dos microorganismos, foram de 0.20 e 0.24 kg por 100 kg de caldo, respectivamente. Estes valores correspondem a perdas de sacarose de 1.6 e 1.7%, respectivamente. Não foi possível determinar a pol no caldo *in natura* 7 h após a sua extração, devido a dificuldades durante a etapa de clarificação. O aumento dos açúcares redutores livres no caldo *in natura*, após 26.5 h, foi de ca. 135%. Os resultados da acidez no caldo *in natura*, com adição de *L. mesenteroides*, foram mais altos (4 a 19%) que os do caldo *in natura*, sem adição de *L. mesenteroides*. Os resultados das análises de pol, açúcares redutores, pH e acidez no caldo esterilizado, com e sem adição de *L. mesenteroides*, foram semelhantes e praticamente não variaram com o tempo. Isto indica que, nas condições estudadas, não foi possível detectar deterioração no caldo esterilizado contendo *L. mesenteroides*.

INTRODUÇÃO

Os efeitos negativos da deterioração da cana-de-açúcar pós-colheita tem atraído a atenção de muitos pesquisadores devido aos prejuízos causados pelo processamento industrial de matéria-prima de baixa qualidade.

Estudos realizados no Estado de Alagoas detectaram uma perda de oito a onze quilos de sacarose (pol) por tonelada de cana entre o corte e a moagem de cana (Oliveira et al., 1983).

A deterioração microbiológica do caldo, seja no campo ou na fábrica, produz polissacarídeos que reduzem os rendimentos de extração e cristalização, aumentam a viscosidade e diminuem os níveis de produção, além de produzir componentes formadores de ácidos e de corantes (Clarke et al., 1980).

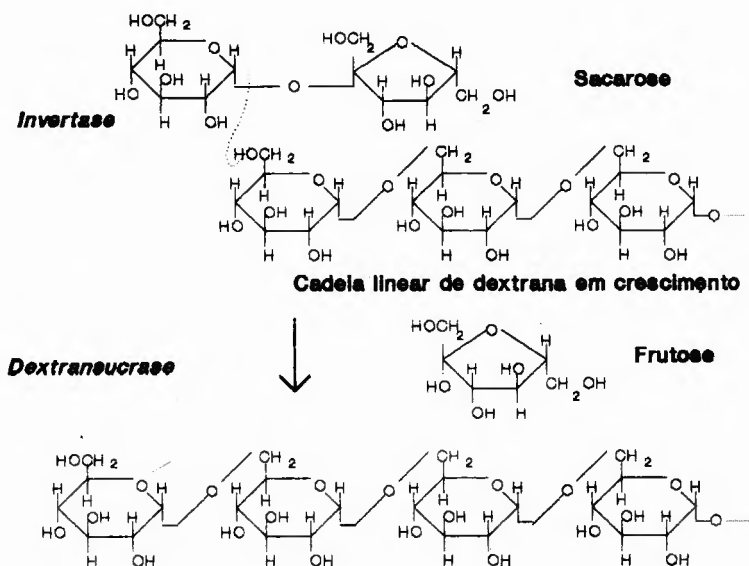


TABELA 1 - Degradação da sacarose e formação de dextrana pela dextranucrase

Um polissacarídeo largamente encontrado em cana deteriorada e que tem grande influência no desempenho do processo industrial é a dextrana. O termo dextrana é geralmente utilizado para a classe de polissacarídeos de D-glicose produzido por bactérias que crescem em substratos de sacarose. As principais bactérias que sintetizam dextrana pertencem a família Lactobacteriaceae, gênero *Leuconostoc*, espécies *mesenteroides* e *dextranicum*. O mecanismo de produção de dextrana da sacarose não é simples. A sacarose é biologicamente degradada em dextrose e levulose pelo *Leuconostoc*, que produz dextransucrase que causa a polimerização da dextrose em dextrana (Mead e Chen, 1977) (Figura 1).

A dextrana produzida pelo *L. mesenteroides* é um polímero de glicose contendo principalmente ligações glicosídicas $\alpha(1 \rightarrow 6)$ (cadeia principal retilínea) e algumas ligações $\alpha(1 \rightarrow 3)$ e $\alpha(1 \rightarrow 4)$ (cadeias laterais). As cadeias laterais são formadas por ca. 20% das unidades de glicose (Paturau, 1969). As dextranas tem um amplo intervalo de pesos moleculares. O grau de ramificação depende da força da bactéria que produz a dextrana (Jeanes et al. apud Clarke et al., 1980) e muitas das diferenças nas propriedades das dextranas são conseqüências destas diferenças estruturais.

O nível de dextrana na cana de açúcar fornecida a indústria está associado a forma de colheita (crua ou queimada; manual ou mecanizada), no tempo entre a colheita e o esmagamento e nas condições ambientais (Hidi et al., 1974).

Em estudos conduzidos na Jamaica, as contagens de células de *L. mesenteroides* em caldos de cana-de-açúcar, imediatamente após a colheita, variaram entre 5×10^4 e 5×10^5 células mL⁻¹, alcançando três a quatro dias após a colheita níveis de 10^7 a 10^8 células mL⁻¹ (Tilbury, 1972).

Este trabalho tem como objetivo a avaliação do comportamento do caldo de cana-de-açúcar, *in natura* e esterilizado, após a adição de *Leuconostoc mesenteroides*, em função do tempo, através de análises de sacarose, açúcares redutores, pH, acidez e contagem de colônias.

MATERIAL E MÉTODO

Material

O microorganismo *Leuconostoc mesenteroides* foi obtido da coleção de culturas do IAA-PLANALSUCAR, Coordenadoria Regional Sul, Araras, São Paulo.

O caldo utilizado nos ensaios foi extraído de colmos de cana-de-açúcar crua, variedade CB 45-3.

Os reagentes tartarato de sódio e potássio, hidróxido de sódio, sulfato de cobre, glicose e fosfato mono potássio foram obtidos da Reagen. O acetato básico de chumbo foi fornecido pela Merck. Os indicadores azul de metileno e fenolftaleína foram adquiridos da Merck e Carlo Erba, respectivamente. Agar, extrato de levedura e peptona foram obtidos da Difco.

Preparação de Amostras e Inoculação com *L. mesenteroides*

A cana foi triturada em uma forrageira (Codistil) e o caldo extraído por uma prensa hidráulica (Codistil) a uma pressão de 250 kgf, durante 1 min. Amostras de caldo (1000 mL) foram transferidas para 44 frascos de Erlenmeyer (2000 mL), previamente esterilizados em autoclave a 120 °C, durante 15 min. As amostras de caldo foram divididas em quatro grupos iguais, sendo que dois grupos foram esterilizados em autoclave a 120 °C, durante 15 min, enquanto que os outros dois permaneceram com o caldo *in natura*. As amostras de um grupo de caldo esterilizado e de um grupo de caldo *in natura* foram inoculadas com uma suspensão de células (0,5 mL) de *L. mesenteroides*. A concentração final de *L. mesenteroides* em cada amostra de caldo inoculada foi de ca. $2,8 \times 10^6$ células mL⁻¹. As amostras foram mantidas a temperatura ambiente (28 °C).

As primeiras análises (tempo: 0 h) foram realizadas, em uma amostra de cada grupo, imediatamente após a homogeneização de todas as amostras. As análises subsequentes foram conduzidas em intervalos iguais de uma hora (tempo: 1 a 9 h). As últimas análises foram realizadas 26,5 h após a extração do caldo e inoculação dos microorganismos.

Análise de Sacarose

A análise de sacarose aparente (pol) do caldo foi pelo método polarimétrico utilizando um sacarímetro, tipo Saccharomat III, da Schmidt - Haensch. O Brix foi determinado utilizando um refratômetro Abbe, da American Optical.

Acetato básico de chumbo (1,5 g) foi adicionado ao caldo (150 mL) em um frasco de Erlenmeyer e agitado vigorosamente com um agitador magnético. A suspensão foi filtrada através de papel de filtro acondicionado em funil de vidro sem haste e o filtrado recebido em um becker (250 mL). A porção inicial do filtrado (ca. 25 mL) foi utilizada para lavar o becker, sendo em seguida desprezada. O restante do filtrado foi utilizado para fazer a leitura da pol. O tubo polarimétrico (200 mm) foi previamente lavado com o filtrado antes de se proceder a leitura no sacarímetro.

A pol foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Pol (\%, p/p)} = L \cdot 0.26 / d$$

onde,

L é a leitura do sacarímetro e

d é a densidade do caldo encontrada em uma tabela de Brix versus densidade (Mead e Chen, 1977).

As análises foram realizadas com três repetições.

Análise de açúcares redutores

A análise de açúcares redutores livres foi pelo método volumétrico de Lane e Eynon (Schneider, 1979). As análises foram realizadas com três repetições.

Os açúcares redutores totais foram calculados pelo somatório dos açúcares redutores livres e a contribuição dos açúcares redutores provenientes da sacarose, considerando que 1 mol de sacarose produz 1.0526 mol de açúcares redutores.

Análises de pH e Acidez

O pH do caldo foi determinado utilizando um potenciômetro Mettler.

A acidez foi determinada pelo método titulométrico. Uma alíquota (20 mL) de caldo diluído com água destilada (1:1) foi transferida para um frasco de Erlenmeyer (500 mL) e, em seguida, água destilada (250 mL) foi adicionada e a amostra homogeneizada. O caldo diluído foi titulado contra hidróxido de sódio (0.025 mol L^{-1}) utilizando fenolftaleína (três gotas) como indicador. O resultado foi expresso em $\text{g H}_2\text{SO}_4 \text{ L}^{-1}$. As análises foram realizadas com três repetições.

Contagem de Colônias

O meio de cultura utilizado foi composto de fosfato mono potássico (0.5 g L^{-1}), extrato de levedura (10 g L^{-1}), peptona (10 g L^{-1}), glicose (20 g L^{-1}) e agar (20 g L^{-1}). Uma alíquota (1 mL) de cada amostra de caldo foi retirada assepticamente e diluída em água estéril (9 mL). Diluições sucessivas foram realizadas até 10^{-6} . Alíquotas (0.1 mL) foram transferidas das últimas diluições para placas de Petri. O meio de cultura (15 mL) foi vertido em cada placa contendo o inóculo e o conteúdo foi homogeneizado cuidadosamente. Após a solidificação do meio de cultura as placas foram incubadas a 30°C durante 48 horas. As colônias foram contadas e o resultado foi expresso em número de células por mL de caldo. As análises foram realizadas com três repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados médios das análises de pol, açúcares redutores livres e totais, pH e acidez dos caldos *in natura* e esterilizado, sem e com adição de *L. mesenteroides*, em função do tempo, estão apresentados nas Figuras 2 a 12.

Nas amostras de caldo *in natura*, sem e com adição de *L. mesenteroides*, os comportamentos da pol (sacarose aparente) foram semelhantes (Figura 2). As perdas de sacarose no caldo *in natura*, sem e com adição de *L. mesenteroides*, 6 h após a extração do caldo, foram de 0.20 e 0.24 kg por 100 kg de caldo, respectivamente. Estes valores correspondem a perdas de sacarose de 1.6 e 1.7%, respectivamente. Não foi possível determinar a pol no caldo *in natura* 7 h após a sua extração, devido a dificuldades durante a etapa de clarificação. Deve-se levar em conta que a análise polarimétrica de caldo em deterioração pode produzir medidas errôneas de perdas de sacarose devido as diferentes rotações específicas dos componentes presentes. Por exemplo, a característica dextrorrotatória da dextrana ($[\alpha]_{20}^{+199}$) resulta em teores artificialmente altos de sacarose.

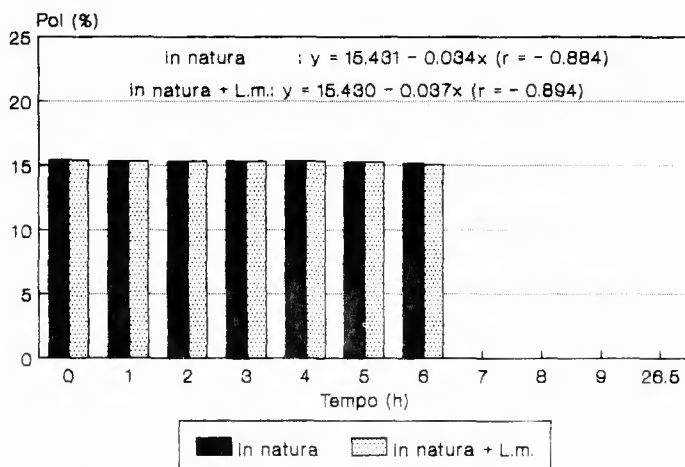


FIGURA 2 - Variação da pol (% p/p) no caldo *in natura*, com e sem adição de *L. mesenteroides*, com o tempo

Nas amostras de caldo esterilizado, sem e com adição de *L. mesenteroides*, praticamente não houve variação da pol com o tempo (Figura 3).

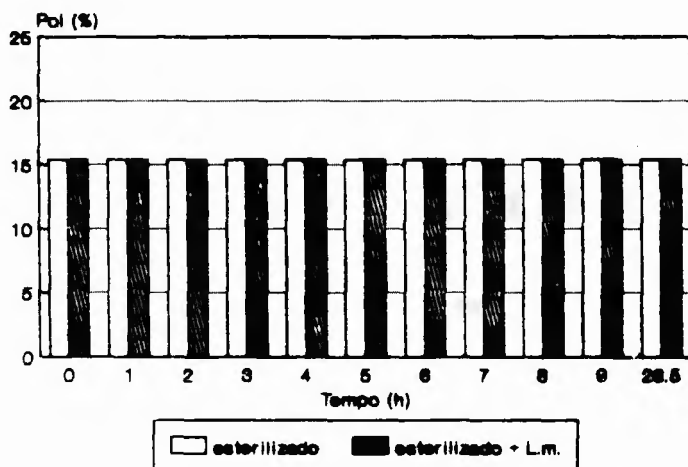


FIGURA 3 - Variação da pol (% p/p) no caldo esterilizado, com e sem adição de *L. mesenteroides*, com o tempo

Os comportamentos dos açúcares redutores livres e totais no caldo *in natura*, sem e com adição de *L. mesenteroides*, em função do tempo, também foram similares (Figuras 4 a 6). Após 26,5 h, o aumento de açúcares redutores livres no caldo *in natura* foi de ca. 135%. O resultado dos açúcares redutores totais no caldo esterilizado (Figura 6), tempo 0 hora, foi ligeiramente mais alto (ca. 0,6%) que o caldo *in natura* (Figura 6), indicando perda de água por evaporação durante a esterilização. Comparando com o caldo *in natura*, no tempo 0 h, o resultado dos açúcares redutores livres no caldo esterilizado (Figura 3) foi ca. 17% mais alto, sugerindo que, além de perda de água por evaporação, houve uma decomposição da sacarose.

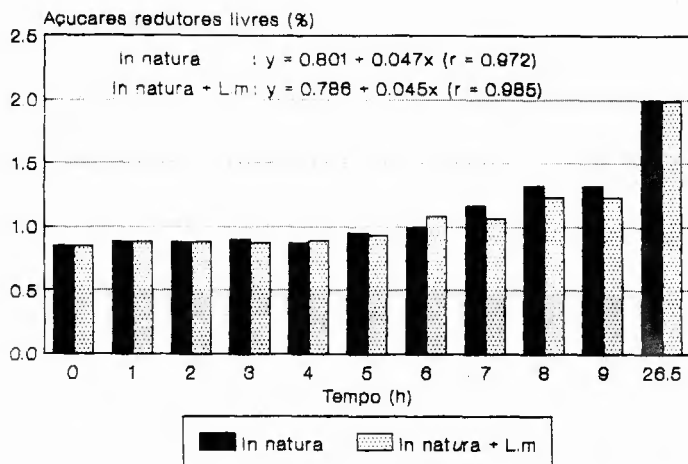


FIGURA 4 - Variação dos açúcares redutores livres (% p/p) no caldo *in natura*, com e sem adição de *L. mesenteroides*, com o tempo

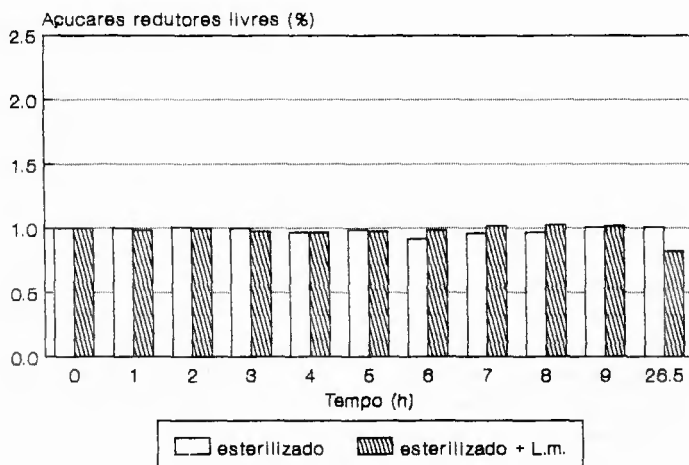


FIGURA 5 - Variação dos açúcares redutores livres (% p/p) no caldo esterilizado, com e sem adição de *L. mesenteroides*, com o tempo

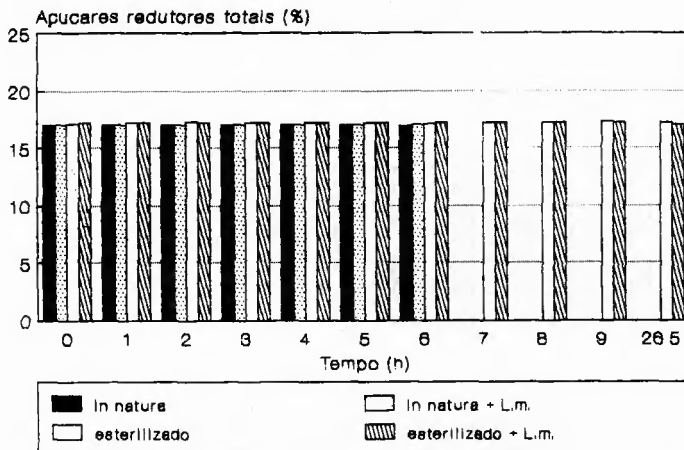


FIGURA 6 - Variação dos açúcares redutores livres (% p/p) no caldo *in natura* e esterilizado, com e sem adição de *L. mesenteroides*, com o tempo

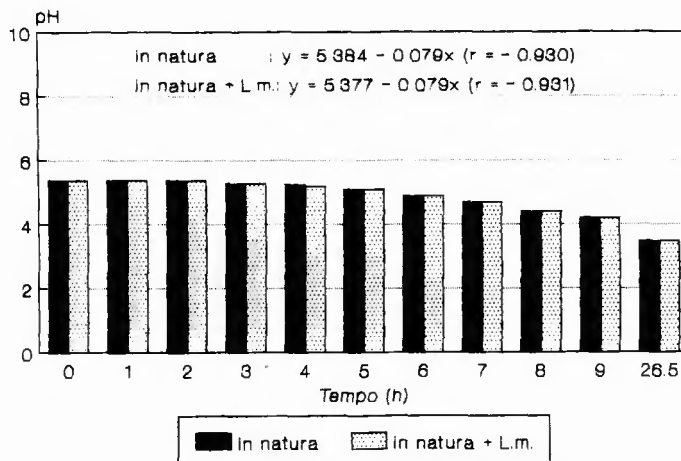


FIGURA 7 - Variação do pH do caldo *in natura*, com e sem adição de *L. mesenteroides*, com o tempo

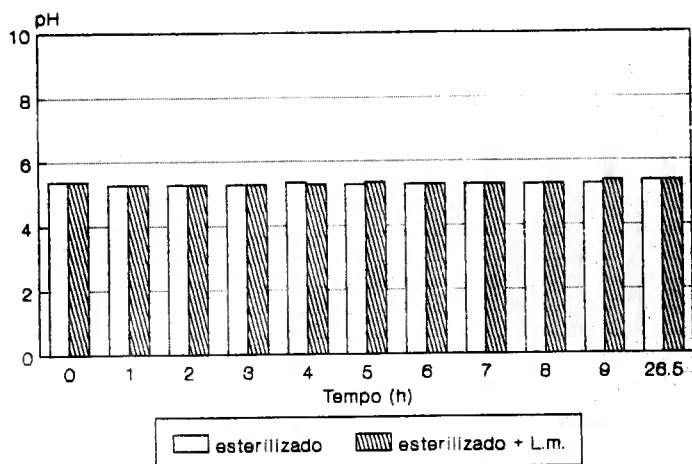


FIGURA 8 - Variação do pH do caldo esterilizado, com e sem adição de *L. mesenteroides*, com o tempo

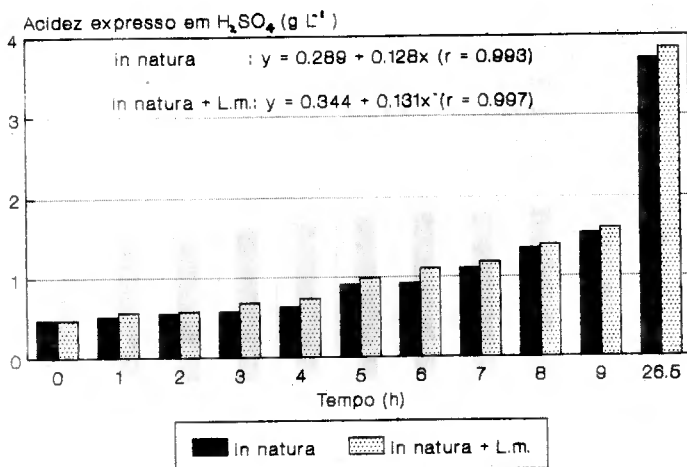


FIGURA 9 - Variação da acidez no caldo *in natura* (g H_2SO_4 L^{-1} , com e sem adição de *L. mesenteroides*, com o tempo

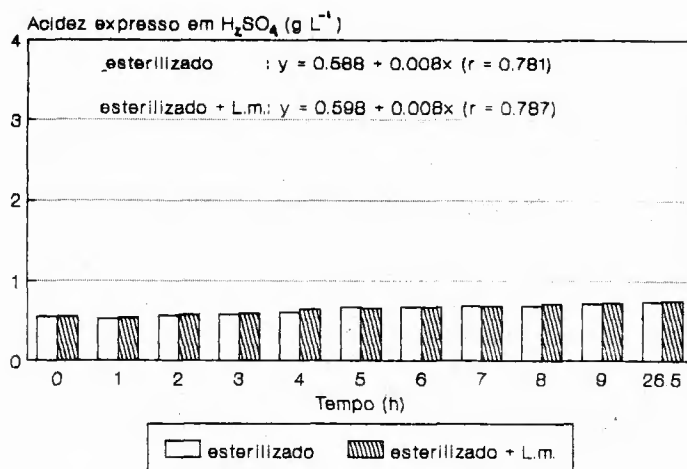


FIGURA 10 - Variação da acidez no caldo esterilizado ($\text{g H}_2\text{SO}_4 \text{ L}^{-1}$, com e sem adição de *L. mesenteroides*, com o tempo

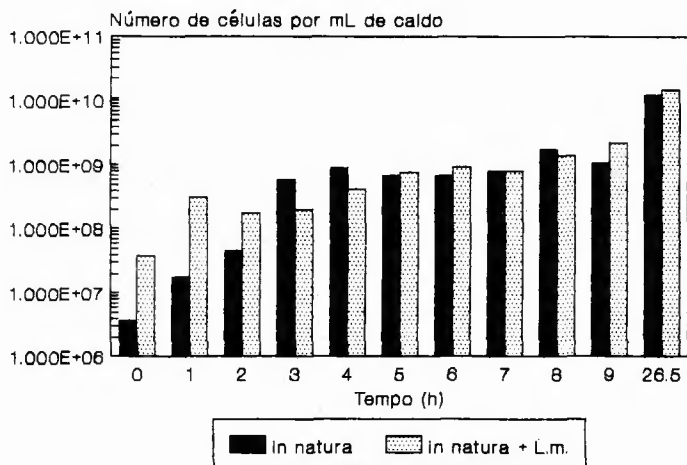


FIGURA 11 - Variação do número de células no caldo *in natura* (células mL^{-1}), com e sem adição de *L. mesenteroides*, com o tempo

Os comportamentos do pH e acidez do caldo *in natura*, sem e com adição de *L. mesenteroides*, foram similares (Figuras 7 e 9). Entretanto, as amostras de caldo *in natura* com adição de *L. mesenteroides* apresentaram valores de acidez mais altos (4 a 19%) que os do caldo sem adição de *L. mesenteroides* (Figura 9).

No caldo em deterioração a enzima invertase hidrolisa a sacarose (Figura 1). Por sua vez os ácidos orgânicos produzidos pela decomposição abaixam o pH. Esta queda de pH também contribui para a inversão da sacarose. A infecção por *L. mesenteroides* e a produção de dextrana é mais rápida sob condições ácidas. Para cada molécula de sacarose consumida, somente a glicose é utilizada na formação da dextrana, permanecendo a unidade de frutose. Esta frutose, por sua vez, se decompoe subsequentemente em ácidos orgânicos e corantes, ocasionando uma diminuição de pH (Clarke et al., 1980). Consequentemente, a queda de pH aumenta o nível de inversão, levando a uma perda adicional de sacarose e a formação adicional de ácidos e corantes a partir do açúcar invertido.

Os resultados de pH e acidez no caldo esterilizado, sem e com adição de *L. mesenteroides*, foram similares e praticamente não variaram com o tempo (Figuras 8 e 10). Estes resultados indicam que, sob as condições estudadas, muito pouca deterioração ocorreu no caldo esterilizado com adição de *L. mesenteroides*.

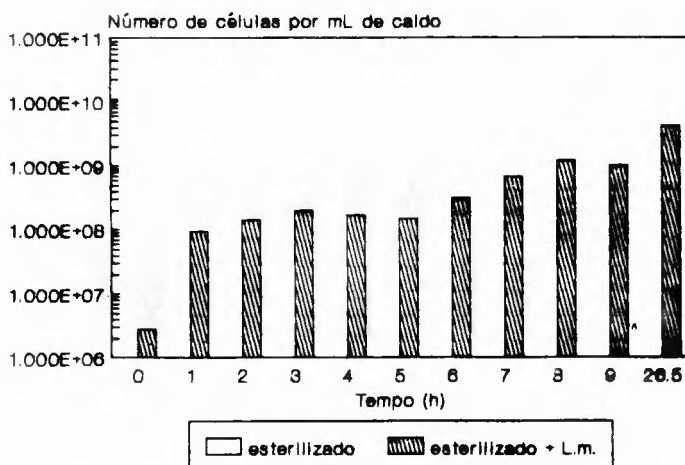


FIGURA 12 - Variação do número de células no caldo esterilizado (células mL⁻¹), com e sem adição de *L. mesenteroides*, com o tempo

Os resultados das contagens de colônias nos caldos *in natura* e esterilizado, sem e com adição de *L. mesenteroides*, estão apresentados nas Figuras 12 e 13, respectivamente. Durante o período estudado, o número de células por mL de caldo *in natura*, sem adição de *L. mesenteroides*, aumentou de 3.6×10^6 para 1.2×10^{10} (Figura 11). A concentração final de células no caldo *in natura* com adição de *L. mesenteroides* foi de 1.5×10^{10} células por mL. Por outro lado o crescimento de células por mL de caldo esterilizado, com adição de *L. mesenteroides*, foi de 2.8×10^6 a 4.2×10^9 (Figura 12).

CONCLUSÕES

As perdas totais de sacarose (pol) no caldo *in natura*, sem e com adição de *Leuconostoc mesenteroides*, 6 h após a extração do caldo e a inoculação dos microorganismos, foram de 0.24 e 0.26 kg por 100 de caldo, respectivamente. Estes valores correspondem a perdas de sacarose de 1.6 e 1.7%, respectivamente. Não foi possível determinar a pol no caldo *in natura* 7 h após a sua extração, devido a dificuldades na etapa de clarificação.

O aumento dos açúcares redutores livres no caldo *in natura*, com e sem *L. mesenteroides*, após 26.5 h, foi de ca. 135%.

Os resultados da acidez no caldo *in natura* com adição de *L. mesenteroides* foram mais altos (4 a 19%) que os do caldo *in natura* sem adição de *L. mesenteroides*.

Por outro lado, os resultados das análises de pol, açúcares redutores, pH e acidez no caldo esterilizado, sem e com adição de *L. mesenteroides*, foram semelhantes e praticamente não variaram com o tempo. Isto indica que, nas condições estudadas, não foi possível detectar deterioração no caldo esterilizado contendo *L. mesenteroides*.

ABSTRACT

The deterioration of sugarcane juice *in natura* and sterilized, with and without addition of *Leuconostoc mesenteroides*, was studied. Manually harvested sugarcane, variety CB 45-3, was used. The sugarcane stalks were shredded and the juice was extracted using a hydraulic press. The juice was divided into four groups: *In natura*; *in natura* inoculated with *L. mesenteroides*; sterilized (120 °C, 15 min); and sterilized inoculated with *L. mesenteroides*. The concentrations of *L. mesenteroides* in the *in natura* and sterilized juices were ca. 2.8×10^6 cells mL⁻¹. The deterioration of the juices was followed during 26.5 h by the analyses of sucrose (polarimetric), reducing sugars (Eynon an Lane), acidity (titration) and pH. Viable plate counts were also carried out. The total losses of sucrose (pol) in the *in natura* juice, with and without addition of *L. mesenteroides*, six h after the extraction of the juice and the addition of the microorganisms, were 0.24 and 0.20 kg per 100 kg of juice, respectively. These values correspond to sucrose losses of 1.7 and 1.6%, respectively. It was not possible to determine the pol in the *in natura* juice, seven h after its extration, due difficulties in the clarification step. The increase

of free reducing sugars in the *in natura* juice, after 26,5 h, was ca. 135%. The acidity of the *in natura* juice with addition of *L. mesenteroides* was higher (4 to 19%) than the acidity of the juice without addition of *L. mesenteroides*. On the other hand, the results of the analyses of pol, reducing sugars, pH and acidity in the sterilized juice, with and without *L. mesenteroides*, were similar and practically did not vary with time. This indicates that, under the studied conditions, it was not possible to detect deterioration of the sterilized juice containing *L. mesenteroides*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 CLARKE, M. A.; ROBERTS, E. J.; GODSHALL, M. A. et al. Perda de sacarosa en la fabricacion de la caña de azucar. *Sugar y Azucar*, Englewood, p. 70-78, out. 1980.
- 2 HIDI, P.; KENIRY, J. S.; MAHONEY, V. C. et al. Observations on the occurrence and nature of polysaccharides in sugar canes. In: CONGRESS OF THE ISSCT, 15., 1974, Durban. *Proceedings...* Durban, 1974. p. 1255-1265.
- 3 MEAD, G. P.; CHEN, J. C. P. *Cane sugar handbook*. London: J. Wiley, 1977. 947 p.
- 4 PATURAU, J. M. *By-products of the cane industry*. Amsterdam: Elsevier, 1969. p. 234-238.
- 5 SCHNEIDER, F. (Ed.) *ICUMSA sugar analysis*. Peterborough: The International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis, 1979. p. 52-54.
- 6 TILBURY, R. H. Dexteans and dexteanase. In: CONGRESS OF THE ISSCT, 14., 1972. Louisiana. *Proceedings...* Louisiana, 1972. p. 1444-1458.

Recebido para publicação em 04 de agosto de 1992