

Rodrigues, A.C.G.<sup>1</sup>; Sato, H.H.<sup>2</sup>; Figueira, J.A.<sup>3</sup>

Departamento de Ciência de Alimentos (DCA), Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA),  
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

E-mails: anacarlagr@gmail.com<sup>1</sup>, heliah@fea.unicamp.br<sup>2</sup>, joaf@fea.unicamp.br<sup>3</sup>

Agência Financiadora: CNPq/PIBIC

Palavras-chave: Amido - Cana de açúcar - Alfa-amilase

## INTRODUÇÃO

O amido é encontrado em caldo de cana de açúcar e pode causar problemas de filtração, baixa cristalização e menor rendimento de sacarose. O fornecimento de açúcar de cana com alto teor de amido não é aceito em muitos países. A  $\alpha$ -amilase bacteriana termoestável de *Bacillus licheniformis* é utilizada para hidrólise do amido de cana, no entanto a enzima pode ser encontrada no açúcar cristal bruto. Este trabalho visou a determinação da concentração de amido em algumas variedades de cana de açúcar; estudo de algumas características do amido de cana de açúcar e adequação de metodologia para determinação de  $\alpha$ -amilase residual em açúcar bruto.

## METODOLOGIA

A concentração de amido em caldo de cana de açúcar foi determinada de acordo com o método utilizado no Centro de Tecnologia Copersucar, utilizando-se amido de batata como padrão. O amido de caldo de cana foi extraído como descrito por PARK et al (1985).

### Caracterização do amido de cana de açúcar:

A estrutura dos grânulos de amido de cana de açúcar foi determinada em microscópio ótico. A temperatura de gelificação do amido de cana de açúcar foi determinada como descrito por PARK et al. (1985). Foi estudada a suscetibilidade do amido de cana às enzimas  $\alpha$ -amilases comerciais, pululanase e glicoamilase.

### Determinação de $\alpha$ -amilase residual em açúcar bruto:

Para determinação da  $\alpha$ -amilase residual em açúcar bruto, a enzima foi concentrada por precipitação com etanol. Foram testados três métodos para a determinação da  $\alpha$ -amilase.

A determinação de  $\alpha$ -amilase pelo método de BERNFELD modificado por BOURNE (1979) baseia-se na medida de açúcares redutores formados a partir do substrato amido solúvel. O método Novozymes Phadebas Amylase Test (2001) modificado por EGGLESTON baseia-se na hidrólise de polímero de amido insolúvel pela  $\alpha$ -amilase e liberação de fragmentos de coloração azul. A absorbância da solução azul, medida a 620 nm é proporcional à atividade de  $\alpha$ -amilase. O método Iodométrico determina a atividade da  $\alpha$ -amilase através da medida da descoloração da solução de amido com solução de iodo-KI.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

### Caracterização do amido de cana de açúcar:

Os grânulos de amido de cana de açúcar apresentam forma arredondada (Figura 1) e, quando comparados aos grânulos de amido de batata e mandioca apresentam um tamanho significativamente inferior (Figura 2).

Verificou-se que o intumescimento dos grânulos de amido de cana de açúcar ocorreu na faixa de temperatura 70-75°C.

No estudo de filtrabilidade, foi verificado que a suspensão de amido de cana de açúcar apresenta-se na forma de grânulos de tamanhos variados.

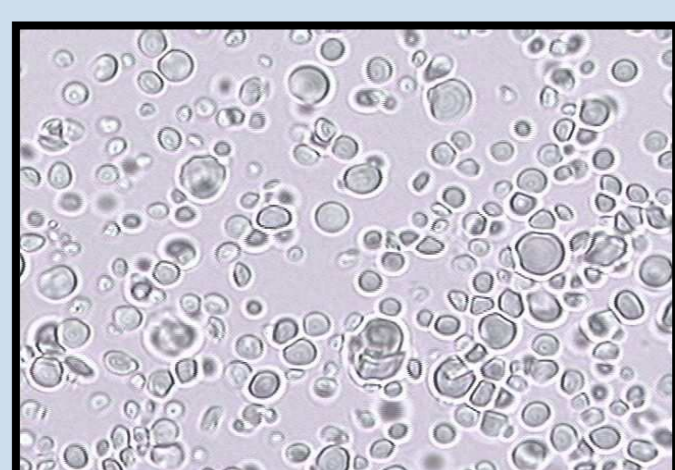


Figura 1: Grânulos de amido de cana de açúcar (aumento de 1000x).



Figura 2: Grânulos de amido de cana de açúcar (A), amido de batata (B) e amido de mandioca (C) (aumento de 400x).

A Figura 3 ilustra a produção de açúcares redutores a partir de amido de diferentes fontes gelificados utilizando-se glicoamilase. O amido de cana de açúcar mostrou maior susceptibilidade à enzima glicoamilase entre todos os amidos testados. As Figuras 4 e 5 mostram a susceptibilidade de diferentes amidos à enzima pululanase.

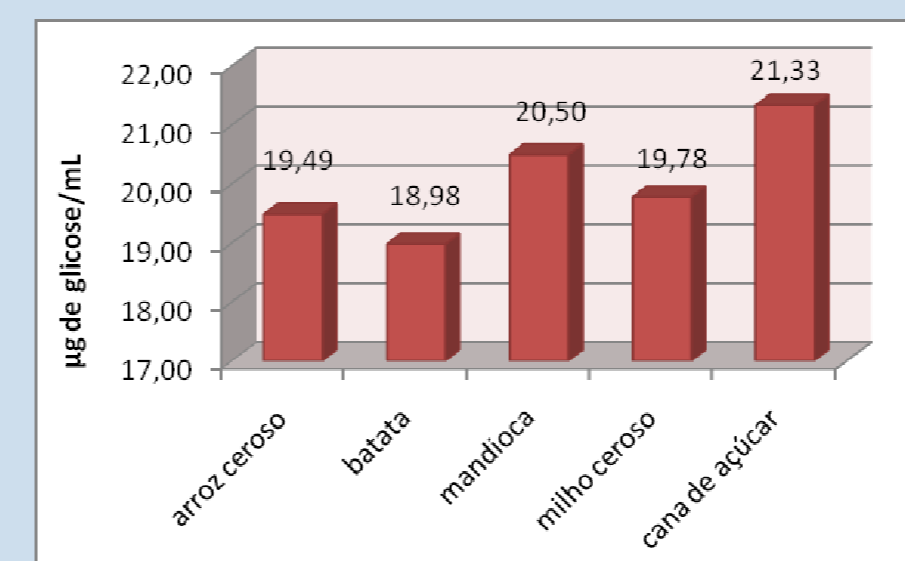


Figura 3: Hidrólise de diferentes amidos gelificados pela enzima glicoamilase.

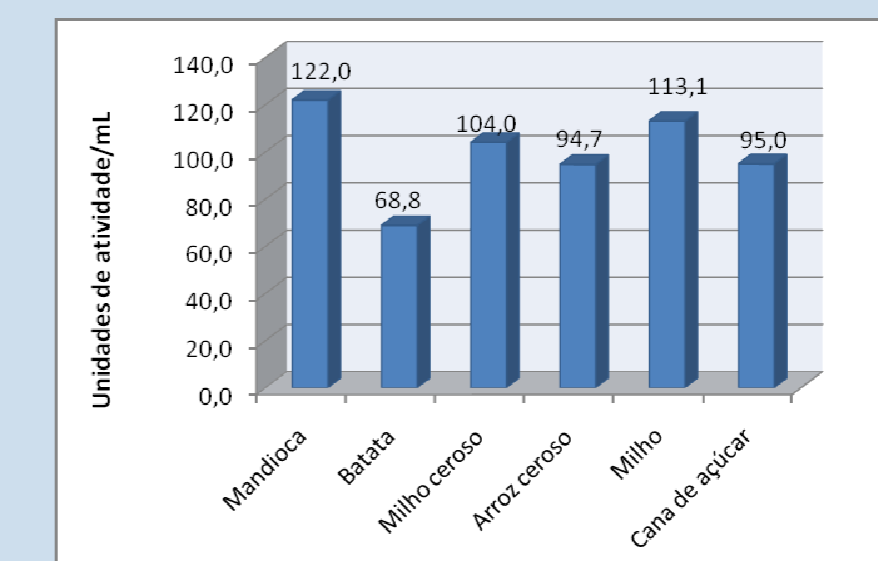


Figura 4: Hidrólise de diferentes amidos pela pululanase, determinada por coloração com iodo-KI.

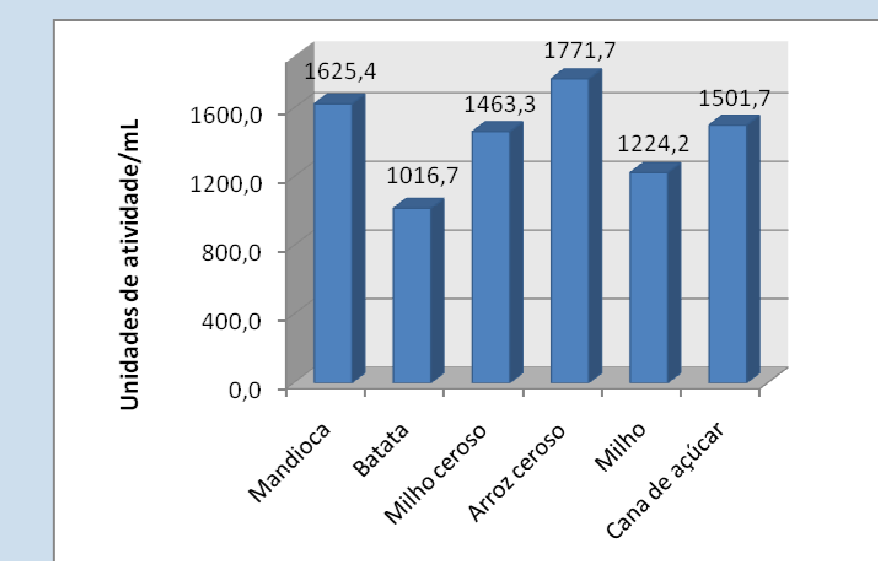


Figura 5: Hidrólise de diferentes amidos pela pululanase, determinada por açúcares redutores.

As Figuras 6, 7 e 8 ilustram os açúcares produzidos por hidrólise de diferentes amidos pela  $\alpha$ -amilase de *Bacillus licheniformis*,  $\alpha$ -amilase de *Bacillus subtilis* e  $\alpha$ -amilase de *Aspergillus oryzae*, respectivamente.

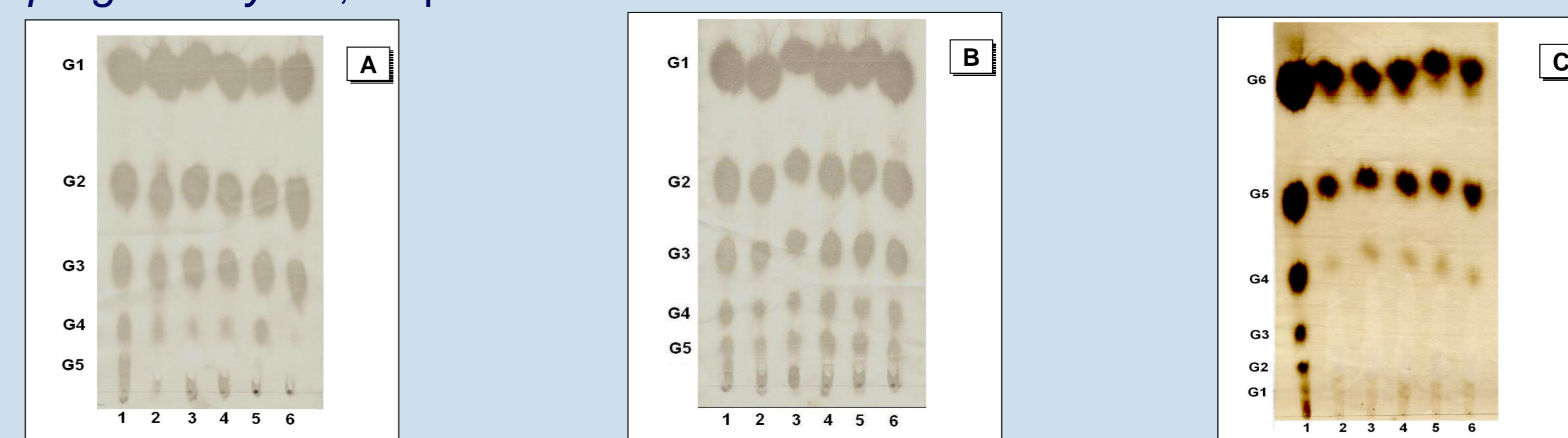


Figura 8: Açúcares redutores formados após hidrólise de diferentes amidos com  $\alpha$ -amilase de *Bacillus licheniformis* (A),  $\alpha$ -amilase de *Bacillus subtilis* (B) e  $\alpha$ -amilase de *Aspergillus oryzae* (C).

(1) açúcares padrão; (2) amido de arroz ceroso; (3) amido de batata; (4) amido de mandioca; (5) amido de milho ceroso; (6) amido de cana de açúcar.

(G1) glicose; (G2) maltose; (G3) maltotriose; (G4) maltotetraose; (G5) maltopentose; (G6) maltohexaose.

### Determinação de $\alpha$ -amilase residual em açúcar bruto:

A Figura 6 ilustra a curva padrão utilizada para determinar a enzima  $\alpha$ -amilase residual pelo método de Bernfeld Modificado. A amostra de açúcar bruto apresentou 1 ppm de  $\alpha$ -amilase.

Na determinação de  $\alpha$ -amilase residual através do método de Phadebas, foram obtidos os valores 0,19 ppm e 0,29 ppm de  $\alpha$ -amilase. A Figura 7 ilustra a curva de padrão de  $\alpha$ -amilase.

O método Iodométrico mostrou-se pouco sensível, não sendo adequado para quantificar  $\alpha$ -amilase residual em açúcar bruto.

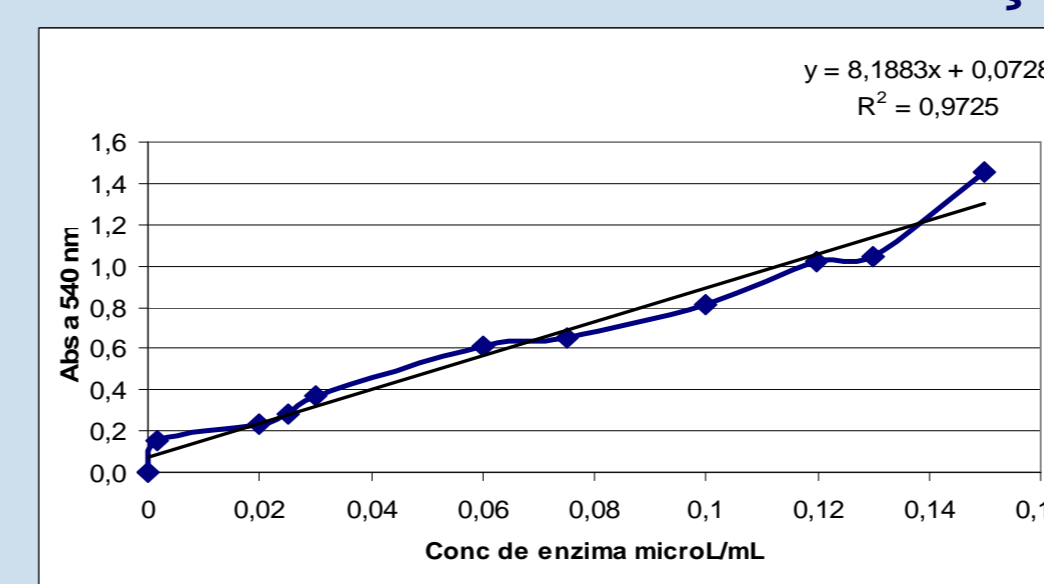


Figura 6: Determinação de  $\alpha$ -amilase residual amostra 1 – Método de Bernfeld Modificado.

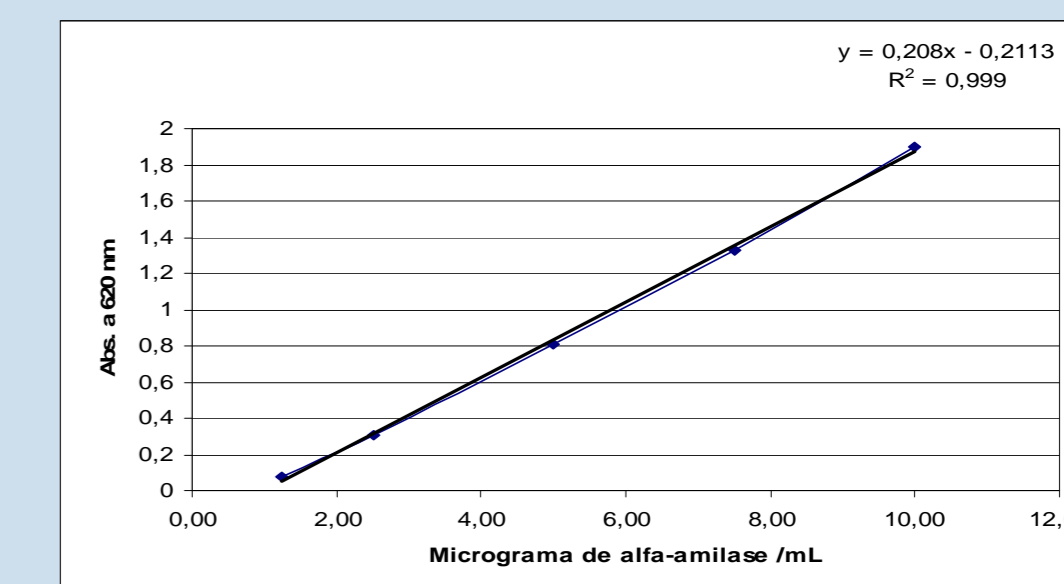


Figura 7: Curva de calibração de  $\alpha$ -amilase utilizando-se reagente de Phadebas.

## CONCLUSÕES

O amido de cana de açúcar mostrou-se susceptível à todas as enzimas  $\alpha$ -amilases, glicoamilase e pululanase. Na determinação de  $\alpha$ -amilase residual em açúcar bruto, o método de Bernfeld modificado e Phadebas se mostraram adequados para análise quantitativa de  $\alpha$ -amilase residual em açúcar bruto.

## BIBLIOGRAFIA

BOURNE, E.J., DAVIES, D.R., PRIDHAM, J.B.;  $\alpha$ -amylase activity in sugar cane (*Saccharum officinarum*) chloroplasts. **Phytochemistry** v.9, p.345-348, 1979.

EGGLESTON, G., MONTES, B., OGIER, B.E.; Preheating and incubation of cane juice prior to liming: a comparison of intermediate and cold lime clarification. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v. 50, p. 484-490, 2002.

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