

**ATIVIDADE DE ENZIMAS OXIDATIVAS EM CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR EM
FUNÇÃO DO SISTEMA DE PLANTIO**

ÉRICK MALHEIROS RAMPAZO

**ATIVIDADE DE ENZIMAS OXIDATIVAS EM CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR EM
FUNÇÃO DO SISTEMA DE PLANTIO**

ÉRICK MALHEIROS RAMPAZO

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Tadeu Alcides Marques

633.611
R177a

Rampazo, Érick Malheiros
Atividade de Enzimas Oxidativas em Caldo de
Cana-de-Açúcar / Rampazo, Érick Malheiros. –
Presidente Prudente, 2011.
66 p. : il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) –
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste:
Presidente Prudente – SP, 2011.

Bibliografia.

Orientador: Tadeu Alcides Marques

1. *Saccharum* 2. Enzimas. 3. Polímero.
I. Título.

ÉRICK MALHEIROS RAMPAZO

**ATIVIDADE DE ENZIMAS OXIDATIVAS EM CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR EM
FUNÇÃO DO SISTEMA DE PLANTIO**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Presidente Prudente, 29 novembro de 2011

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Tadeu Alcides Marques
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof. Dr. Carlos Henrique dos Santos
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof. Dr. Hermas Amaral Germek
Faculdades de Tecnologia do Centro Estadual de Educação Tecnológica - FATEC
Piracicaba - SP

DEDICATÓRIA

A todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho, com atenção especial aos que cito abaixo:

À Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, pela oportunidade de aperfeiçoamento concedida para realização do curso;

Ao professor Dr. Tadeu Alcides Marques, pela amizade, apoio, orientação, por todos os ensinamentos e confiança depositados em mim durante a realização deste trabalho;

Aos professores e funcionários por terem proporcionado um ótimo ambiente acadêmico durante a realização do curso;

Aos amigos do programa de pós-graduação em Agronomia, pela ajuda e carinho que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente e especialmente a Deus pela ajuda, força e perseverança que este tem me proporcionado.

A meus pais, Iraide e Pedro pelo apoio e compreensão nos momentos difíceis.

A minha tia Neuraci, meu agradecimento.

Ao professor orientador, Dr. Tadeu Alcides Marques, pelos ensinamentos e confiança no desenvolvimento deste trabalho, pela amizade e carisma e que com alegria e dedicação, fez aprimorar meus conhecimentos.

A todos os professores, sem exceção, pelos conhecimentos a mim passados e por todos os momentos que passamos juntos.

Aos amigos Felipe, Reginaldo, Willian, Evelize, Emil, Rosimar, Ellen, Maria Dolores e Maria Celeste nos quais sempre pude contar e pelo exemplo de amizade.

Aos amigos do CENTEC, Fernando, Arleto, Fabio, Elvis, Larissa, Priscila, Luis Eduardo, Suriani e Marcos pela alegria, ajuda e, sobretudo, pela amizade.

A todos os colegas que conviveram comigo durante o decorrer do curso de Mestrado em Agronomia.

Aos funcionários Aparecido, Éderson, Edna, Aparecida, Sirlei, Clélia, Renata, Amilton, Andréia e Mara nos quais sempre pude contar e pelo exemplo de amizade.

À Universidade do Oeste Paulista em especial ao CENTEC onde pude desenvolver minha pesquisa.

Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente ajudaram na elaboração deste trabalho.

“O poder nasce do querer. Sempre que o homem aplicar a veemência e perseverante energia de sua alma a um fim, vencerá os obstáculos, e, se não atingir o alvo fará, pelo menos, coisas admiráveis”.

Dale Carnegie

RESUMO

Atividade de enzimas oxidativas em caldo de cana-de-açúcar em função do sistema de plantio

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar e álcool de cana, e atrai interesse mundial devido à diversidade de produtos que dela podem ser produzidos. O etanol derivado da cana-de-açúcar mostra-se como alternativa energética ao petróleo, por ser uma fonte de energia renovável e menos poluente. O objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito do palhicho depositado no solo, em soqueiras de cana-de-açúcar, cultivar RB 86 7515 plantadas em dois sistemas diferentes (leira e sulco) e que recebeu tratamentos diferenciados do polímero hidrogel (0,00; 26,66; 53,33 e 80,00 kg ha⁻¹), nos teores das enzimas polifenoloxidase (PFO) e peroxidase (POD). A cultivar RB 86 7515 foi plantada em dezembro de 2007 e colhida em junho 2009 (18 meses), o acompanhamento desta variedade instalada, foi nas condições edafoclimáticas de Presidente Prudente no Campus II da UNOESTE. O solo do experimento classifica-se como Argissolo Vermelho-Amarelo Distroférrico, típico a moderado, textura médio-argilosa (Embrapa, 1999). O clima da região se classifica em Aw, sendo a estação chuvosa no verão e estação seca no inverno. Avaliou o teor de polifenoloxidase e peroxidase durante o período safra. A parcela foi constituída de cinco linhas com cinco metros de comprimento, sendo o espaçamento de 1,5 (área de 37,5 m²) as amostras foram coletadas nas três linhas internas, desprezando o primeiro e o último metro das extremidades. Foram amostrados aleatoriamente colmos, sendo retirado o primeiro entrenó da parte superior. (primeiro colmo sem folhas verdes). O Polímero sintético adicionado ao solo promove alterações nas enzimas estudadas. Cobertura com palhicho não promove alterações nas enzimas estudadas. O sistema de plantio não promove alterações nas enzimas estudadas. As enzimas apresentam alterações de atividade enzimática no ciclo.

Palavras-chave: *Saccharum*. Cobertura. Enzimas.

ABSTRACT

Oxidative enzymes activity in sugarcane's juice in relation to the cropping system

The Brazil is the largest producer of sugarcane and sugarcane's ethanol, and attracting worldwide interest because of the diversity of products that it can be produced. The ethanol derived from sugarcane is shown as an energy alternative to oil, being a source of renewable energy and less polluting. The aim of the research will evaluate the effect of straw deposited in the soil, stumps of sugarcane, RB 86 7515 cultivar was planted in two different systems (windrow and groove) and received different treatment of the hydrogel polymer (0,00; 26,66; 53,33 e 80,00 kg ha⁻¹), in the levels of the enzyme polyphenoloxidase (PPO) and peroxidase (POD). The RB 86 7515 cultivar was planted in december 2007, harvested june 2009 (18 months), the monitoring installed this cultivar was at Presidente Prudente's conditions, Campus II, UNOESTE. The soil of the experiment was characterized as Ultisol Red Yellow Distroferric typical to moderate, medium-loamy texture (Embrapa, 1999). The climate is classified as Aw, with the summer rainy season and dry season in winter. The levels of polyphenol oxidase and peroxidase were evaluated during the harvest period. The experiment consisted of five lines with five meters long, with spacing of 1.5 (area of 37.5 m²) the samples were collected at three internal lines and analyzed, ignoring the first and last meters of the extremities. This area was sampled randomly a stem, which removed the first internode from the top. (First bud without green leaves). The synthetic polymer added to the soil promotes changes in the studied enzymes. The coverage with crop residue does not promote changes in the studied enzymes. The planting system does not promote changes in the studied enzymes. The enzymes showed enzymatic activity changes in vegetative cycle.

Keywords: *Saccharum*. Straw. Enzymes.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01	- Fluxograma do processo da fabricação de açúcar.....	14
FIGURA 02	- Regiões brasileiras com o cultivo de cana-de-açúcar.....	15
FIGURA 03	- Extração do caldo de cana em moendas.....	16
FIGURA04	- Dados meteorológicos do período de condução do experimento 2010.....	36
FIGURA 05	- Croqui da área experimental.....	38
FIGURA 06	- Atividade da PFO durante os meses de ensaio.....	43
FIGURA 07	- Atividade da POD durante os meses de ensaio.....	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 01	- Composição da Cana-de-açúcar e Sólidos Solúveis no Caldo.....	17
TABELA 02	- Classificação das partículas dispersas no caldo de cana.....	18
TABELA 03	- Análises Classificatórias de açúcares.....	28
TABELA 04	- Resultados da análise do solo realizada na área do experimento.....	37
TABELA 05	- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para PFO, para os sistemas de plantio e doses do polímero, análise global dos meses.....	41
TABELA 06	- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para POD, para os sistemas de plantio e doses do polímero, análise global dos meses.....	41
TABELA 07	- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para PFO, para os sistemas de plantio e quantidades de cobertura (MS – matéria seca), análise global dos meses.....	42
TABELA 08	- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para POD, para os sistemas de plantio e quantidades de cobertura (MS – matéria seca), análise global dos meses.....	42

LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

Al_2O_3	- Óxido de alumínio
ACC	- Ácido 1 amino ciclopropano-1-ácido carboxílico
AR	- Açúcares redutores
ANOVA	- Análise de variância
APX	Composto peroxidado do ascorbato
BRIX	- % de Sólidos solúveis em uma solução açucarada correlacionando ao teor de açúcar
CAT	Catalase
Cu^{++}	Ion cúprico
Fe^{++}	- Ion ferroso
H_2O_2	- Peróxido de Hidrogênio
ICUMSA	- International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis
nm	- Nanômetro (comprimento de onda)
O_2	- Oxigênio
Pol	- % de açúcar aparente
PPM	- Parte por milhão
PFO	- Polifenoloxidase
POD	- Peroxidase
pH	- Potencial hidrogenionico
P_2O_5	- Fosfato
TVD	Top Visible Dewlap
VHP	Very High Polarization
VVHP	- Very Very High Polarization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Produção do Açúcar.....	14
2.2 Unidades Produtoras de Açúcar e Álcool	15
2.3 Extração do Caldo.....	15
2.4 Caldo de Cana-de-açúcar.....	16
2.4.1 Propriedades dos principais componentes do caldo de cana-de-açúcar.....	18
2.5 Clarificação do Caldo de Cana-de-açúcar.....	20
2.5.1 Sulfitação e calagem.....	21
2.5.2 Fosfatação.....	23
2.6 Escurecimento do Caldo.....	23
2.6.1 Compostos fenólicos e ácidos aconítico.....	24
2.7 Qualidade da Matéria -prima.....	25
2.8 Cor ICUMSA.....	26
2.9 Enzimas.....	28
2.9.1 Atividade Enzimática.....	29
2.10 Peroxidase (POD).....	31
2.11 Polifenoloxidase (PFO).....	33
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5 CONCLUSÕES.....	46
REFERÊNCIAS.....	47
APÊNDICE.....	55

1 INTRODUÇÃO

Na primeira década do século XXI ocorreram aumentos na produção e áreas cultivadas de cana-de-açúcar, tendo como agentes causadores a demanda por combustíveis renováveis, como o etanol de cana, e a procura no mercado internacional por açúcar, fato que contribuiu para a elevação dos valores desta mercadoria.

Os aumentos da produção da cana-de-açúcar ocorreram sobre áreas ocupadas, principalmente, por pecuária de baixa eficiência.

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com 8,43 milhões de hectares e produção estimada de 588,9 milhões de toneladas, em 2012. A produção estimada, em toneladas, é inferior 5,64% a colheita anterior (2009/2010), que foi, 623,9 milhões de toneladas. A região Centro-Sul é responsável por 88,18% da colheita no País e em São Paulo espera-se 320,6 milhões de toneladas em uma área de 4,4 milhões de hectares (CONAB, 2011).

No processo de fabricação do açúcar cristal oriundo de cana-de-açúcar existe a necessidade de tratamentos físicos e químicos, visando à clarificação do caldo e produção de açúcares mais claros, com maior valor no mercado. A produção de pigmentos escuros em vegetais pode ter origem não enzimática ou enzimática, sendo esta última resultante das atividades de oxidases presentes no processo industrial.

A hipótese deste experimento é que a utilização de polímeros hidroabsorventes e cobertura vegetal, na área agrícola, bem como sistema de plantio diferente, com relação a profundidade de sulcos, interferem na fisiologia de crescimento de plantas, e assim sendo promovem alterações nos teores enzimáticos.

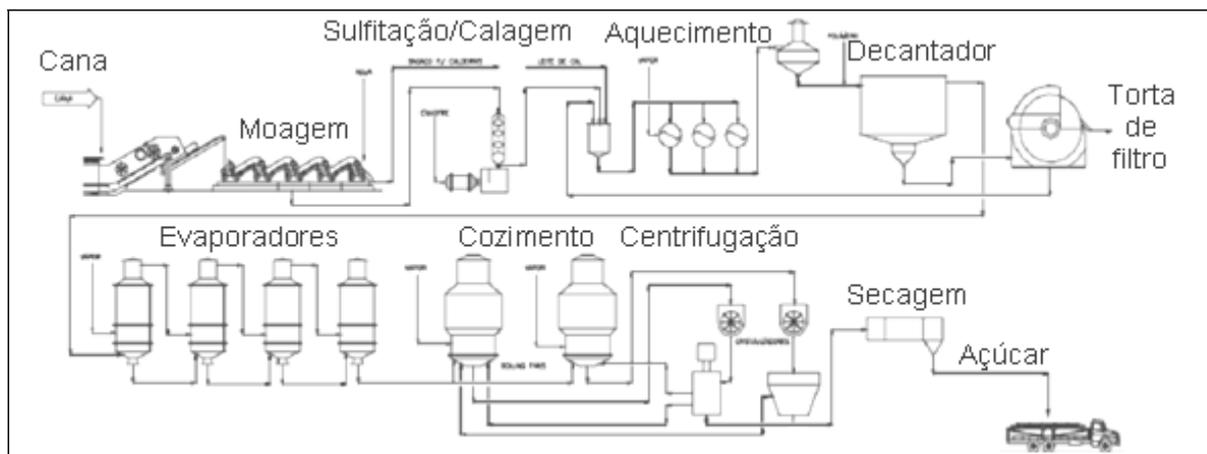
O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do palhço, doses de polímeros hidroabsorvente, sistema de plantio e suas interações com as atividades das enzimas polifenoloxidase e peroxidase, extraídas do caldo da cana-de-açúcar após a colheita, similar ao processo industrial utilizado no Brasil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção de Açúcar

A produção brasileira de açúcar é mais eficiente em termos financeiros e apresenta excelentes perspectivas para o mercado mundial, destinando-se, principalmente, a adoçar bebidas e alimentos, o fluxograma de processamento industrial pode ser observado na Figura 1. O açúcar é obtido por meio do tratamento industrial do caldo da cana, clarificação, evaporação e beneficiamento podendo ser produzidos diferentes tipos de açúcar, quais sejam: cristal, demerara, refinado, VHP e VVHP.

FIGURA 01- Fluxograma do processo da fabricação de açúcar



Fonte: Modificado de Santos (2008).

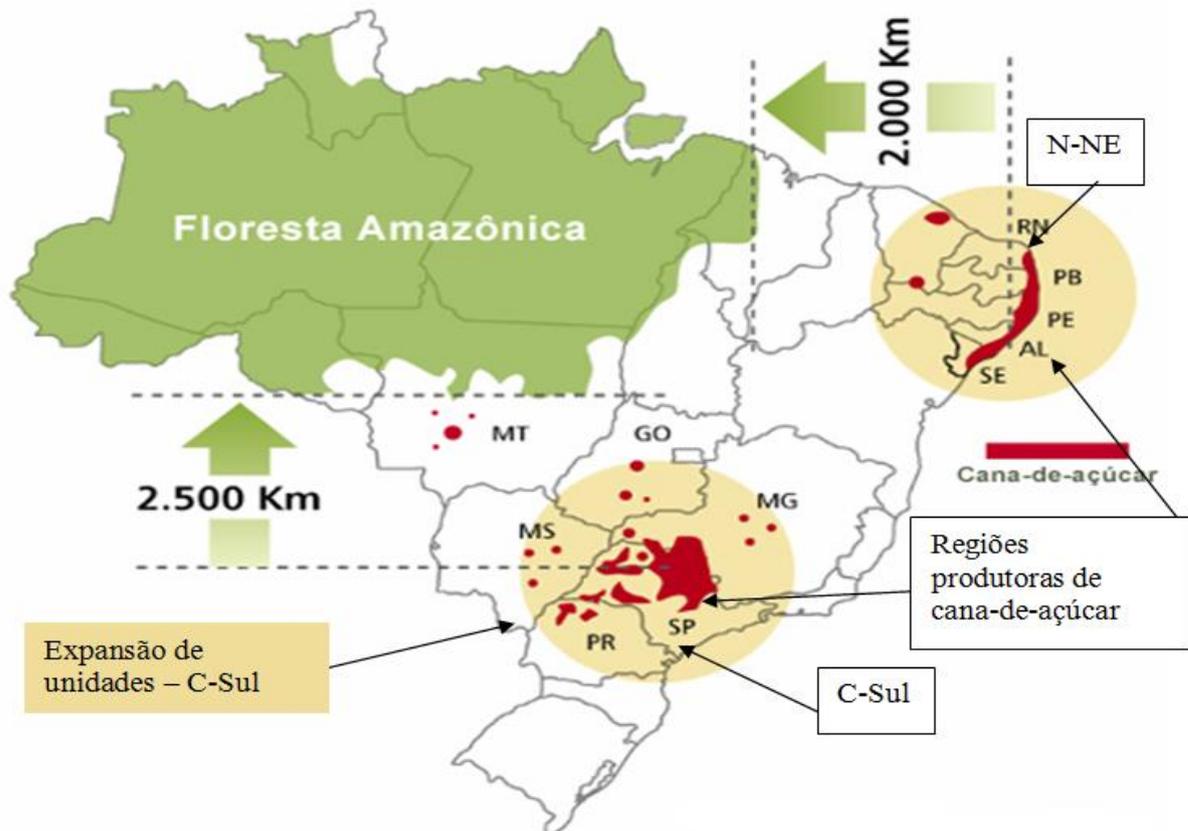
No Brasil, o transporte rodoviário é o predominante para levar a cana até as agroindústrias, chegando à usina a cana é transferida para uma mesa alimentadora para ser limpa e lavada, visando à retirada de impurezas vegetais, terra, areia. Depois de lavada, a cana passa pelo processo de preparo e posteriormente segue para tornos de moenda, onde ocorre à extração do caldo. Para aumentar a eficiência de extração, adiciona-se água quente ao bagaço (embebição), permitindo a extração efetiva da sacarose, obtendo o chamado caldo misto. O caldo misto com temperatura relativamente alta, devido a embebição, é retirado na caixa de caldo misto, bombeado passando por tratamentos físicos (peneiragem) e tratamentos químicos (sulfitação e caleagem), para posteriormente sofrer aquecimento e ser encaminhado à decantação, durante este

tempo de processo alterações enzimáticas podem ocorrer. O caldo decantado segue para o setor de concentração (evaporação e cozimento). Em seguida, a massa cozida já cristalizada segue para a centrifugação e secagem, e posterior armazenamento (SANTOS, 2008).

2.2 Unidades Produtoras de Açúcar e Álcool

Nos anos 2008, 2009 e 2010 ocorreram aumentos significativos no número de unidades produtoras de açúcar e álcool. No Brasil existem duas importantes regiões produtoras de cana-de-açúcar, o norte-nordeste e o centro-sul. Nesta última, com expansão de unidades, principalmente nos estados de Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Goiás, Paraná e no Oeste do estado de São Paulo como pode ser observado na Figura 2.

FIGURA 02 - Regiões brasileiras com o cultivo de cana-de-açúcar

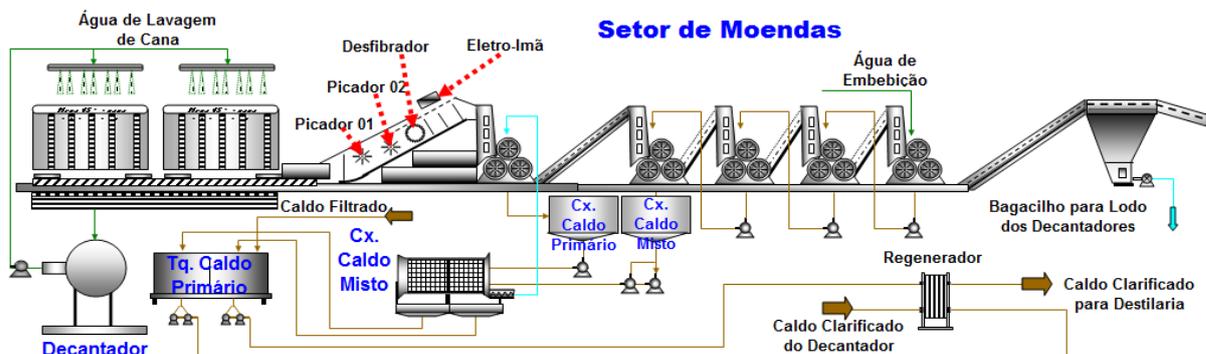


Fonte: Modificado de UNICA (2011).

2.3 Extração do Caldo

A extração do caldo de cana-de-açúcar, nas usinas brasileiras, em sua maioria, realiza-se a partir da moagem. As moendas convencionais são constituídas basicamente de três rolos (ternos), dispostos em triângulo, de modo que a fibra seja comprimida duas vezes: entre o rolo superior (móvel) e o de entrada (fixo), e entre o rolo superior e o de saída (fixo). No entanto, somente a pressão não expele mais do que 90% do caldo contido nas fibras, e torna-se necessário fazer a embebição do bagaço para recuperar maior volume de caldo. Um esquema completo destas etapas pode ser observado na Figura 03.

FIGURA 03 – Extração do Caldo de Cana em Moendas



Fonte: Modificado de Santos (2008).

A embebição pode ser simples ou composta. A simples consiste em adicionar apenas água em um ou mais pontos dos conjuntos de ternos, sobre a cana em processo. Enquanto que na embebição composta, a água é distribuída transversalmente ao bagaço da esteira intermediária que alimenta o último terno. O último caldo extraído é então retornado à penúltima esteira e assim até o segundo terno. O caldo do segundo terno é misturado ao caldo da moagem seca do primeiro terno, constituindo o caldo misto.

Outro sistema de extração, Difusão, é amplamente empregado na Europa em usinas que processam beterraba açucareira, de acordo com Marques; Marques; Tasso Júnior, (2001) e Marques et al. (2006).

No processo de difusão, o caldo é deslocado da cana desintegrada por um fluxo contracorrente de água quente. O equipamento que se convencionou chamar de difusor é na realidade um lixiviador de cana (SANTOS, 2008).

2.4 Caldo de Cana-de-Açúcar

O caldo de cana está situado principalmente nos entrenós, fase líquida, na cana-de-açúcar, considerando que esta seja um composto bifásico sólido – líquido. A fase sólida da cana é constituída por um complexo pentoxan e lignocelulósico integrado por fibras celulósicas. Já a fase líquida, o caldo de cana propriamente dito, é uma solução aquosa contendo uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos sendo que destes 90%, aproximadamente, são os açúcares (SPENCER; MEADE, 1967). A composição das variedades comerciais de cana-de-açúcar e constituintes do caldo de cana variam dentro de certos limites conforme o apresentado na Tabela 01.

TABELA 01- Composição da Cana-de-açúcar e Sólidos Solúveis no Caldo

Componentes da cana-de-açúcar	(%) em massa na cana-de-açúcar
Água	73 - 76
Sólidos	24 -27
Sólidos solúveis	10 - 16
Fibra	11 - 16
Constituintes do caldo de cana	(%) em sólidos solúveis
Açúcares	75 - 92
Sacarose	70- 88
Glicose	2 - 4
Frutose	2 - 4
Sais	3,0 - 4,5
Ácidos orgânicos	1,5 - 5,5
Ácidos carboxílicos	1,1 - 3,0
Aminoácidos	0,5 - 2,5
Outros não-açúcares orgânicos	
Proteínas	0,5 - 0,6
Amido	0,001 - 0,100
Gomas	0,30 - 0,60
Ceras, gorduras, fosfolípídeos	0,05 - 0,15

Fonte: Modificado de CHEN; CHOU (1993).

O caldo da cana pode ser descrito como um líquido opaco, variando da cor parda ao verde escuro, espumoso e viscoso. É uma mistura complexa, constituída por uma suspensão estável a qual contém um grande número de partículas com diferentes faixas de tamanho e 21 composições químicas heterogêneas (AOKI, 1987). O pH do caldo de cana também apresenta variação, situado-se na faixa entre 4,7 e 5,6 (ANDRADE, 1998). A classificação das partículas suspensas é apresentada na Tabela 02. O material suspenso, em sua maioria, consiste de fragmentos de celulose (bagacilho), terra, areia, argila, amido, ceras,

gorduras e gomas. Entre os componentes solúveis do caldo encontram-se a sacarose, glicose, frutose, proteínas, oligossacarídeos, polissacarídeos, ácidos orgânicos, aminoácidos e sais (DOHERTY; RACKEMANN, 2008).

TABELA 02- Classificação das Partículas Dispersas no Caldo de Cana

Dispersões	DIÂMETRO (μm)	% MASSA	ESPÉCIE
Grosseiras	$> 0,1$	2 - 5	Bagacilho, areia, terra, gravetos.
Coloidais	$0,001 < \phi < 0,1$	0,05 - 0,3	Cera, gordura, proteínas, gomas, corantes, dextrana, amido
Moleculares e Iônicas	$\phi < 0,001$	8 - 21	Açúcares (sacarose, glicose, frutose, manose) Sais minerais (sulfatos, cloretos, silicatos, fosfatos: K, Ca, Mg e Na). Ácidos orgânicos aconíticos, oxálico, málico, etc.

Fonte: DELGADO e CESAR (1977).

A diferença na composição do caldo é um dos fatores que afetam as diversas operações unitárias do processo industrial, em especial a purificação do caldo (CESAR et al., 1987). Destaca-se a influência de inúmeros parâmetros na formação da composição do caldo de cana, a variedade da cana, tipo de solo, adubação, condições climáticas, grau de maturidade da cana, tipo de colheita, tempo entre a queima, corte e o processamento, conteúdo de pontas e palha e sua forma de extração (SOUZA, 1988). A qualidade da cana para a indústria não pode ser avaliada simplesmente pelo seu teor de sacarose, ainda que seja o parâmetro mais importante, mas por todos os fatores citados, que têm conseqüências diretas da composição tecnológica da cana (PARANHOS, 1987).

2.4.1 Propriedades dos principais componentes do caldo de cana

O componente de maior interesse no processamento da cana, e o qual deseja obter na forma cristalizada, é a sacarose, a qual é susceptível às reações importantes, dentre as quais podem ser citadas as reações de decomposição em meio ácido e básico, por efeito da temperatura, microorganismos e enzimas (MANTELATTO, 2005). Em meio ácido, a sacarose sofre reação de inversão, resultando em açúcares redutores, glicose e frutose. A inversão ocorre em condições ácidas ($\text{pH} < 7,0$), e o grau de inversão da sacarose, em um determinado pH, é favorecido por altas temperaturas, longos tempos de exposição e baixa concentração de sacarose na solução (CHEN; CHOU, 1993). Em meio alcalino, a degradação da sacarose sob aquecimento pode levar a formação de furfural,

acetona, gliceraldeídos, ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico e dióxido de carbono entre outras substâncias (EDYE; CLARKE, 1995). Para minimizar as perdas de sacarose, por inversão e degradação alcalina as condições de trabalho durante o processamento do caldo de cana-de-açúcar são monitoradas, de maneira que o pH permaneça o maior tempo possível próximo da neutralidade pH 7,0 (ANDRADE, 1998).

O aquecimento da sacarose, a temperaturas elevadas (>140°C), desencadeia um grupo complexo de reações químicas originando produtos fortemente coloridos. A termólise causa a desidratação das moléculas de açúcar com a introdução de dupla ligação e formação de anéis anidros. Ligações duplas conjugadas absorvem luz e produzem cor. Os anéis insaturados condensam-se formando polímeros de coloração escura, denominados caramelos (FENNEMA, 1996).

O caramelo é uma mistura complexa de anidridos, com composição diferenciada dependente de tempo, temperatura e valor de pH no qual a reação ocorre. De acordo com Bourzutschky (2005), aumentando-se os valores do pH, a formação da cor é mais acentuada do que com o aumento da temperatura. A formação da cor é dez vezes maior em pH 8,0 quando comparado ao pH 5,9. Além da formação dos anidridos um grande número de produtos voláteis é obtido incluindo monóxido e dióxido de carbono, ácido fórmico, aldeídos, cetonas, acroleína e furfural (HONIG,1953). Outro fator relacionado às perdas de sacarose é a presença de microorganismos. Os quais metabolizam a sacarose em ácido láctico, ácido acético, etanol, manitol, polissacarídeos (dextranas e levanas) pois produzem enzimas que catalisam as reações de degradação da sacarose (MICHELENA et al., 2006).

O microorganismo *Leuconostoc mesenteroides* é um dos mais relevantes por sintetizar a dextransucrase. Esta enzima polimeriza a sacarose em dextrana, polissacarídeo altamente viscoso, constituído de mais de 50% de moléculas de glicose ligadas linearmente na posição α - (1→6). A incidência deste fenômeno tem grande impacto nas etapas de filtração, além de reduzir o grau de pureza no produto final (OLIVEIRA; ESQUIAVETO; SILVA JÚNIOR, 2007).

Eggleston (2002), em testes laboratoriais, comparou a deterioração microbiológica, enzimática e química (degradação ácida) da sacarose, em caldo de cana-de-açúcar. Os resultados deste trabalho indicam que a presença de

microorganismos no caldo de cana-de-açúcar é relevante do ponto de vista de perdas de sacarose, visto que, após 14 horas do estudo da deterioração da sacarose, a maior contribuição foi de ordem microbiológica, sendo responsável por 93% das perdas, enquanto que, a degradação enzimática contribuiu com 5,7% das perdas e a química com 1,3%.

Certos componentes do caldo de cana-de-açúcar apresentam-se em pequenas quantidades, porém, seu impacto no processamento e na qualidade do produto final é de extrema significância. Neste sentido, destacam-se os corantes, os quais representam apenas 17% de 1% dos não açúcares contidos no caldo de cana (HONIG, 1953). Dentre os principais corantes da cana-de-açúcar que aparecem no caldo misto, destacam-se as clorofilas (pigmentos fotossintéticos verdes), caroteno (amarelo), xantofilas (amarelo) e os flavonóides (flavonas, flavonóis, chalconas, catequinas e antocianinas) (MERSAD et al., 2003). Do ponto de vista do processamento do açúcar o grupo dos flavonóides é o mais crítico, sendo responsável por 30%, em pH 7,0, da cor no açúcar mascavo.

A cor ou os corantes presentes no açúcar também podem derivar de certos não açúcares da cana, que em condições normais, são incolores, porém, ao reagirem com outras substâncias formam matéria colorida. Gillett (1953) indica três grupos principais de precursores de cor, a saber, polifenóis (reagem com o oxigênio e íons ferro), aminoácidos (reação de Maillard) e compostos ferrosos (reagem com compostos orgânicos).

Durante o processamento da cana-de-açúcar, determinadas condições (enzimática, alcalinidade, temperatura), podem levar a formação de compostos coloridos. Basicamente, quatro grupos destes compostos são distinguidos: as melaninas (escurecimento enzimático), melanoidinas (reação de Maillard), caramelos (sacarose e monossacarídeos em temperaturas superiores a 200°C) e produtos de degradação alcalina da hexose e/ou frutose (BOURZUTSCHKY, 2005).

2.5 Clarificação do Caldo de Cana-de-açúcar

O caldo de cana-de-açúcar, matéria-prima para fabricação do açúcar, contém sólidos em suspensão, que podem modificar a cor do produto final Arms et al. (1999), possuindo composição extremamente variável, em função principalmente da variedade, idade e sanidade da cana (DELGADO; CÉSAR, 1977). O principal

objetivo da clarificação ou purificação do caldo é a máxima remoção da quantidade de impurezas do caldo extraído (EGGLESTON et al., 2002).

A tecnologia empregada na clarificação consiste na coagulação máxima dos colóides do caldo e na formação de um precipitado insolúvel, que adsorve e arrasta as impurezas (DELGADO; CESAR, 1977). Assim o P_2O_5 , sequeióxidos de Fe_2O_3 , Al_2O_3 e MgO são precipitados através do efeito da alcalinização provocado pela caleagem (KAMPEN, 1996). O nível de clarificação tem impacto importante nas etapas de evaporação, cozimento e na produção e qualidade do açúcar, Eggleston et al. (2002), sendo necessários elevados níveis de desestabilização de colóides acompanhados de rápida decantação com perda mínima de sacarose (KAMPEN, 1996). Deve-se considerar ainda que existem diversos sistemas de purificação desenvolvidos ao longo dos anos, incluindo a caleagem a frio, quente, intermediária, fracionada e com adição de sacarato (EGGLESTON et al., 2002).

2.5.1 Sulfitação e caleagem

A purificação do caldo se inicia com sua sulfitação e caleagem. A sulfitação (dióxido de enxofre) é amplamente usada na fabricação de açúcar. Consiste na absorção do dióxido de enxofre pelo caldo, baixando o pH para 4,0 – 4,5 inibindo a formação de cor por oxidação (LEITE, 2000; CLARKE; LEGENDRE, 1996). A caleagem tem como objetivo elevar o pH do caldo para 6,8 - 7,2. O ajustamento do pH assegura uma remoção satisfatória dos compostos indesejáveis no caldo e fornece condições adequada para a recuperação do açúcar, ou seja, há uma boa floculação da matéria em suspensão, decantação rápida e fluxo de caldo limpo para as próximas etapas da fabricação.

Em seguida, o caldo é aquecido a uma temperatura de 105°C, com a finalidade de eliminar microrganismos, acelerar e facilitar a coagulação e floculação dos colóides, não-açúcares protéicos, e remover os gases, aumentando a eficiência no processo químico da decantação.

O clarificador ou decantador é um equipamento que possui vários compartimentos, com finalidade de remover as impurezas dos tratamentos anteriores e aumentar a superfície de decantação (PAYNE, 1989). O caldo decantado é retirado da parte superior do decantador e transferido para os

evaporadores. Os resíduos sedimentados também conhecidos como o lodo é retirado do decantador pela parte inferior e enviado para os filtros, objetivando recuperar o açúcar nele contido e produzindo a torta de filtro que vai para o campo e o caldo filtrado que retorna à caleagem. A etapa de evaporação tem por finalidade concentrar o caldo clarificado até cerca de 65° Brix, eliminando aproximadamente 75% da água nele contida. O caldo concentrado ou xarope é transferido para uma outra etapa de concentração quando ocorrerá a formação dos cristais de açúcar (SANTOS, 2008).

Há dois tipos de cristalização: cozimento e cristalização por resfriamento. O cozimento se dá pela evaporação da água contida no xarope em uma mistura de cristais envolvidos em mel, chamados de massa cozida. A cristalização por resfriamento visa recuperar parte da sacarose contida no mel, pelo resfriamento lento com auxílio de água ou ar. A massa cozida resfriada segue para a centrifugação fazendo com que o mel atravesse as perfurações da centrífuga, ficando retidos, em seu interior, somente os cristais de sacarose. O mel retorna para os cozedores para que todo o açúcar seja recuperado. A partir deste ponto, o mel passa a ser denominado de melaço composto principalmente por frutose e glicose, açúcares redutores, não cristalizáveis - sendo enviado para a fabricação de álcool nas destilarias anexas ou vendido para indústrias de gêneros alimentícios, principalmente de sucos e refrigerantes. O açúcar, cristais de sacarose, é levado para um secador a uma temperatura de 35° - 40°C e umidade na faixa de 0,03% a 0,04% e posteriormente ensacado, pesado e armazenado (EID et al., 1998; PAYNE, 1989).

Está cada vez mais evidenciado que as indústrias de gêneros alimentícios estão exigindo que o açúcar apresente padrões de qualidade físico-químicos e microbiológicos adequados às exigências de seus mercados, principalmente para o mercado externo. Para tanto, é necessário o conhecimento referente à produção de matéria-prima, ao seu processamento e à obtenção de produtos com qualidade. Logo, se faz necessária uma ação conjunta dos setores agrícola e industrial (MUTTON; MUTTON, 2005).

A quantidade e o tipo de impurezas presentes na cana-de-açúcar têm influência sobre diversos parâmetros da composição do caldo, tais como Brix, Pol, açúcares redutores, compostos orgânicos e inorgânicos, compostos fenólicos e outros compostos que influem na qualidade final do açúcar (SIMIONI et al., 2006).

2.5.2 Fosfatação

A clarificação do caldo de cana empregando-se o processo de fosfatação consiste na adição de ácido fosfórico combinado à caleagem. Quantidades que varia entre 50 e 200 ppm, expresso em pentóxido de fosfato (P_2O_5), são adicionada dependendo do conteúdo de fosfato presente no caldo. Geralmente, realiza-se fosfatação antes da caleagem para que o ácido precipite parte dos colóides, enquanto que, a cal neutraliza o meio e permite a formação dos flocos de fosfato de cálcio, os quais agregam as impurezas coloidais e adsorvem os compostos coloridos. O precipitado é então separado por sedimentação ou por flotação (HUGOT, 1977).

O desempenho da fosfatação, na clarificação do caldo de cana, segundo El- Kader, Mansour e Yassin (1983), é superior à sulfitação, pois, remove maior quantidade de cinzas, ceras, gomas e proteínas, apresenta menor percentual de óxido de cálcio no caldo clarificado e cor menos intensa, quando comparada à carbonatação, são similares na remoção de cor, porém, a velocidade de sedimentação é menor e a filtração do precipitado apresenta maior dificuldade.

2.6 Escurecimento do Caldo

A cor do caldo de cana-de-açúcar tem sua origem em vários compostos, como: compostos fenólicos, antocianinas, flavonóides, melanoidinas, melaninas e produtos de degradação alcalina (SANTOS, 2008). No caldo, o desenvolvimento da cor se deve à presença de compostos orgânicos e inorgânicos que fazem parte da composição da cana e estão presentes em seus colmos e cascas. A cor está ainda relacionada com a maturação, variedade e tipo de solo (SANTOS, 2008). De acordo com Payne (1989), os compostos coloridos resultam da reação entre aminoácidos e açúcares redutores, da decomposição dos açúcares redutores e de muitas reações do tipo condensação.

A cor é intensificada quanto mais verde ou deteriorada for à cana e quanto maior a quantidade introduzida de impurezas vegetais no processo de extração (PAYNE, 1989). Assim, a presença de impurezas coloridas no açúcar pode ser um impedimento no processo de cristalização, devido à falta de homogeneidade e pureza dos grãos, implicando rendimento e qualidade mais

baixos, além do aumento dos custos de refinamento e dificuldade de comercialização (CLARKE et al., 1985).

A pureza é um indicador importante do estágio de maturação da cana-de-açúcar, indicando a percentagem de sacarose (POL) contida nos sólidos solúveis (BRIX). Quanto mais madura a cana, maior será a pureza, pois terá maior acúmulo de sacarose. Com a deterioração e envelhecimento da cana, a pureza tende a diminuir ocasionando um aumento na cor do açúcar. Quando a cana colhida se deteriora, os níveis de açúcar invertido aumentam. Esses açúcares invertidos vão se decompondo e formam ácidos orgânicos e moléculas de compostos coloridos (CLARKE; LEGENDRE, 1999). A pureza sendo alta é prenúncio de facilidade de fabricação, e melhor qualidade de açúcar e de altos rendimentos industriais. Isto pela baixa quantidade de não sacarose como componentes normais do caldo, aminoácidos, ácidos orgânicos, amido, açúcares redutores, além de outros compostos formadores de cor (STUPIELLO, 2000). Os açúcares redutores da cana (AR) afetam diretamente a pureza, o que vai refletir na recuperação do açúcar pela fábrica e participam de reações que aumentam a cor do açúcar depreciando sua qualidade (RIPOLI; RIPOLI, 2004; FERNANDES, 2003; LEITE, 2000; PAYNE, 1989;).

Durante o processo de produção de açúcar, há formação de caramelos provenientes de reações de degradação e condensação da glicose e frutose e açúcares redutores, catalisadas por ácido ou base (ARAÚJO, 2007; SHORE et al., 1984). Em meio ácido ocorre à inversão da sacarose em glicose e frutose, seguida por uma série de reações de desidratação formando compostos coloridos (RIFFER, 1988).

2.6.1 Compostos fenólicos e ácido aconítico

Alguns compostos coloridos e precursores de cor oriundos da própria planta têm importância fundamental nos problemas de processamento e na qualidade dos produtos, podendo influenciar a cor do açúcar e aumentando os custos de refinamento (STUPIELLO, 2002; JIMENEZ; SAMANIEGO, 1981).

Os compostos fenólicos possuem em comum um anel aromático ligado a uma ou mais hidroxila. São altamente reativos e se oxidam com facilidade, conferindo uma coloração escura ao açúcar. No processo de fabricação do

açúcar, os pigmentos e corantes, como os compostos fenólicos e flavonóides, representam cerca de 2/3 da cor do caldo de cana, e podem se oxidar, conferindo cor indesejável ao açúcar (CLARKE et al., 1984; GOODACRE; COOMBS, 1978).

De acordo com Stupiello (2002) e Simioni et al. (2006), tem sido observado nas usinas que a matéria-prima que mostra maior teor de compostos fenólicos, acaba levando mais compostos precursores de cor no processo de fabricação do açúcar.

O aporte destes compostos na cor é marcante na moagem ou desintegração de cana-de-açúcar integral, pela liberação de compostos fenólicos presentes em maior concentração na gema apical e folhas e palmito, com obtenção de um caldo mais escuro (LEITE, 2000).

O ácido orgânico encontrado em maior quantidade na cana-de-açúcar é o ácido aconítico, ele resulta do metabolismo da própria planta a partir do ácido cítrico. Assim como os compostos fenólicos, suas concentrações podem oscilar de acordo com a variedade e o estágio de maturação (RIPOLLI; RIPOLLI, 2004). Quanto mais altas as concentrações de ácido aconítico no caldo, pior será para clarificação devido à competição com o ácido fosfórico pelo cálcio (STUPIELLO, 2001). Concentrações elevadas de ácido aconítico aumentam os problemas de incrustação, em boa parte porque haverá necessidade de usar mais cal na decantação.

2.7 Qualidade da Matéria-prima

As pesquisas sobre qualidade da matéria-prima têm demonstrado a importância dos fatores intrínsecos e extrínsecos e a necessidade de mensurar os indicadores da qualidade da cana-de-açúcar e seu impacto na indústria canavieira. Dentre os fatores intrínsecos, existem aqueles relacionados com a composição da cana (teores de sacarose, açúcares redutores, fibras, compostos fenólicos, amido, cor do caldo, ácido aconítico e minerais). Os fatores extrínsecos são aqueles relacionados com materiais estranhos ao colmo (terra, pedra, restos de cultura, plantas invasoras) ou compostos produzidos por microorganismos devido à sua ação sobre os açúcares do colmo (AMORIM, 2003).

Considerando-se que a qualidade da matéria-prima é definida como o conjunto de características exigidas pela indústria no processamento. Verifica-se

que há uma variação natural destes parâmetros. Neste contexto, quanto melhor e mais adequadas forem às condições de cultivo, melhor será a qualidade da matéria-prima, com maior acúmulo de sacarose e conseqüentemente maior rentabilidade nos produtos finais da indústria sucroalcooleira. O setor sucroalcooleiro passa por transformações no que diz respeito ao sistema de colheita da cana-de-açúcar, sendo queima do canavial prática comum no Brasil e principal objetivo de limpeza parcial do canavial a fim de facilitar a operação de corte manual ou mecânico, com conseqüências na velocidade e economia da colheita (FURLANI et al., 1996). Mas segundo Ripoli e Ripoli (2004), a queima do canavial afeta a qualidade da matéria-prima, levando à perdas de sacarose por exsudação e aumento de matéria estranha (terra) que fica aderida ao colmo, resultando em desgastes, embuchamentos, entupimentos, incrustações, enfim, reduzindo a vida útil dos equipamentos e também prejudicando a fermentação, a fabricação de açúcar e influenciando na sua cor (IDEA, 2001).

A colheita mecanizada da cana-de-açúcar, sem queima (cana crua) que está cada vez mais presente nos sistemas de produção no Brasil (SANTOS, 2008). Pode interferir muito na qualidade da matéria-prima a ser processada na indústria, para (FERNANDES et al., 1978) a utilização dessa modalidade de colheita introduz certos inconvenientes nas indústrias, tais como: aumento dos índices de impurezas vegetais compostas por palhas, folhas verdes, pontas, raízes, rizomas, panículas, além de ervas daninhas presentes na carga, que implicam em maiores teores de amido, compostos fenólicos, ácido aconítico e enzimas oxidativas, tendo como conseqüência, a redução da qualidade tecnológica da matéria-prima fornecida para moagem.

2.8 Cor ICUMSA

A demanda de açúcar branco de alta qualidade cresceu em todo o mundo, principalmente para atender às indústrias alimentícias e de bebidas. Neste contexto, o Brasil, um dos grandes produtores e exportador de açúcar do mundo, entrou na disputa do mercado de açúcar branco e obriga as indústrias a buscar tecnologias para serem incorporadas ao processo produtivo (STUPIELLO, 1997).

A maioria dos laboratórios adotaram métodos analíticos

recomendados para identificar a qualidade dos cristais. Dentre esses métodos analíticos, o método estabelecido pela ICUMSA – International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis, é o mais aceito e utilizado pelas unidades produtoras de açúcar, definindo a qualidade do açúcar para sua comercialização (STUPIELLO, 1997; CALDAS, 2005). As análises e os tipos de açúcar podem ser visualizada na Tabela 03. Um dos parâmetros empregados na avaliação da qualidade e comercialização do açúcar para exportação é a medida da sua cor. Quanto mais baixa a unidade ICUMSA (U.I), mais claro, ou mais branco, é o açúcar.

À medida que o índice de cor ICUMSA aumenta, o açúcar vai adquirindo uma coloração mais escura (SIMIONI et al., 2006; LEITE, 2000; METHOD, 1994; CLARKE et al., 1985). É importante ressaltar que a não conformidade com os parâmetros estabelecidos pela ICUMSA não apresenta riscos para a saúde, mas pode influenciar na tomada de decisão na hora da comercialização. O conhecimento dos compostos precursores de cor é de fundamental importância, pois é o primeiro passo para melhoria da qualidade final da cor do açúcar. Se o mecanismo da formação da cor pudesse ser mais bem explicado, seria possível interromper o mecanismo para preservar a sacarose, ou de outro modo, reagir com os intermediários para evitar a cor (CLARKE; ROBERTS, 1975). E também pode se aplicar o melhoramento genético, por meio de cruzamentos entre cultivares de cana-de-açúcar de diferentes composições químicas, com o objetivo de ter uma variedade que apresente características químicas desejáveis relacionadas à cor do caldo.

TABELA 03 – Análises classificatórias de açúcares.

Características	Unidade		TIPO DE AÇÚCAR													
			Tipo E	Tipo 1	Tipo 2A	Tipo 2B	Tipo 2C	Tipo 2D	Tipo 2G	Tipo 3A	Tipo 3B	Tipo 3C	Tipo 4	VVHP	VHP	
Cor ICUMSA	UI	máx.	60	100	150	150	150	150	150	180	250	320	600	450	1200	
Resíduo Insolúvel (comparativo)	1 a 10	máx.	4	5	5	9	5	-	4	9	-	-	-	-	-	
Pontos Pretos	n°/ 100g	máx.	5	7	7	15	12	-	7	15	30	30	-	-	-	
Partículas Magnetizáveis	mg/kg	máx.	1	1	1	3	5	-	1	5	10	10	-	-	-	
Polarização	°Z	-	≥99,80	≥99,80	≥99,70	≥99,70	≥99,70	≥99,7	≥99,70	≥99,70	≥99,50	≥99,50	≥99,50	≥99,60	99,00 a 99,49	
Umidade	%	máx.	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,08	0,04	0,04	0,07	0,07	0,10	0,10	0,15	
Cinzas	%	máx.	0,03	0,04	0,05	0,05	0,05	0,07	0,05	0,07	0,10	0,10	0,10	0,12	0,15	
Sulfito	mg/kg	máx.	6	10	10	10	10	-	10	15	15	20	20	1	-	
Dextrana	mg/kg	máx.	50	100	100	-	100	-	100	150	-	-	-	80	-	
Amido	mg/kg	máx.	50	180	180	-	-	-	180	180	-	-	-	80	-	
Turbidez	NTU	máx.	5	20	20	-	20	-	20	20	-	-	-	-	-	
Floco Alcoólico	Abs. 420	-	ausente	-	-	-	≤0,120	-	-	-	-	-	-	-	-	
Granulometria	AM em mm		0,5 a 0,8	0,5 a 0,8	0,5 a 0,8	0,5 a 0,8	-	-	máx. 0,60	0,5 a 0,8	-	-	-	-	-	
	CV em %	máx.	-	-	-	-	-	-	37	-	-	-	-	-	-	
	% passante # 70	máx.	-	-	-	-	7,5	-	-	-	-	-	-	-	-	
Arsênio	mg/kg	máx.	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
Chumbo	mg/kg	máx.	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
Coliformes a 45°C	UFC/g	máx.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
Salmonella sp	em 25 g	-	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	
Resíduo Insolúvel (gravimétrico)	mg/kg	máx.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	120	-	
Aparência	-		Cristal branco, sem empedramento									Cristal amarelado, sem empedramento				
Sabor	-		Doce característico													
Odor	-		Característico, sem odor desagradável													

2.9 Enzimas

As enzimas são de natureza protéica sendo consideradas catalisadores biológicos. Tendo centro ativo responsável pela atividade biológica, que é constituído de alguns resíduos de aminoácidos de cadeia protéica (apoenzima) e não protéico (cofator). Cofatores podem ser íons metálicos ou moléculas coenzimas. A estrutura das enzimas pode ser afetada por condições ambientais, pH, temperatura e força iônica do meio. As enzimas que utilizam peróxido de hidrogênio, catalisam oxidação de vários grupos de compostos orgânicos e inorgânicos, sendo monofenóis e difenóis e polifenóis e aminofenóis, etc, e são conhecidas como peroxidases (EC 1.11.1.7), estas não necessitam de cofatores, para que as reações sejam catalisadas, são consideradas enzimas termoestáveis pois podem ter sua

atividade regenerada após tratamento térmico (CENI, 2005). Estas enzimas contribuem para inúmeras reações oxidativas e biodegradáveis, mudanças de cor, degradação da clorofila ou auxinas, oxidação de fenóis, oxidação do ácido indol acético, biossíntese da lignina, e alteram “flavour”, cor, textura e qualidade nutricional, sendo de grande importância tecnológica de alimentos, pois é responsável pelo escurecimento de frutas, vegetais e produtos processados (VALDERRAMA et al., 2001).

2.9.1 Atividade enzimática

Segundo Willadino et al. (2011) o sistema enzimático antioxidativo presente na cana-de-açúcar é composto por peroxidase do ascorbato (APX), catalase (CAT) e peroxidase (POD) e estas enzimas desempenham papel fundamental no equilíbrio redox, o que permite mecanismo de defesa a fatores desfavoráveis como solos salinos, estresse hídrico, os quais ocorrem nas áreas de expansão dos canaviais brasileiros. Já Zhu (2002) relata que fatores abióticos como seca, temperaturas extremas, alta luminosidade podem levar a mudanças no metabolismo das plantas. Uma alteração metabólica interessante é o aumento de espécies reativas ao oxigênio (FOYER; NOCTOR, 2005), sendo que neste processo estão as enzimas oxidativas de defesa, sendo as principais peroxidase do ascorbato, catalases e peroxidases (CAVALCANTI et al., 2004).

O caldo de cana tende a ter sua coloração inicial alterada após a extração e esta alteração pode estar relacionada com o escurecimento enzimático, conforme trabalhos publicados por Qudsieh et al. (2002) e Bucheli e Robinson (1994). De acordo com esses autores, a enzima polifenoloxidase (PFO) é a que mais contribui para o escurecimento do caldo de cana.

A PFO é uma oxiredutase que oxida compostos fenólicos (difenois) na presença de O_2 . Catalisa duas reações diferentes: a hidroxilação de monofenóis em o-dihidroxifenol e a oxidação do o-dihidroxifenol em quinonas, que irão resultar em compostos coloridos. A POD é capaz de oxidar compostos fenólicos em quinonas na presença de peróxido de hidrogênio.

De acordo com Bucheli e Robinson (1994), a PFO presente nos tecidos da cana-de-açúcar, apresenta alta especificidade pelo substrato ácido clorogênico. A atividade desta enzima é significativamente maior na presença do ácido

clorogênico do que do catecol. Já a POD mostra-se pouco ativa e, portanto pouco contribui para o escurecimento do caldo de cana, segundo o autor.

Estudos realizados com diferentes variedades de cana-de-açúcar mostraram uma grande variação de atividade da PFO, na presença de compostos fenólicos bem como no desenvolvimento da cor. Algumas variedades mostraram reduzido escurecimento enzimático como resultado de baixos níveis de substâncias fenólicas e de enzimas Bucheli e Robinson (1994). Acredita-se que a função da catalase e das peroxidase, bem como da superóxido dismutase, é proteger os tecidos vegetais contra os efeitos tóxicos da H_2O_2 formada durante o metabolismo celular. A atividade da peroxidase pode contribuir para destruição da vitamina C e descoloração de carotenóides e antocianinas, além de catalisar (grupo heme) a degradação não-enzimática de ácidos graxos insaturados, conseqüentemente a formação compostos voláteis.

A POD é considerada uma das enzimas mais termorresistentes, na maior parte dos casos o branqueamento que ocorre entre 90-100°C por 3,0 minutos é o suficiente para destruí-la. No processamento de frutas e vegetais, a POD é a principal responsável pelo desenvolvimento de "flavor" no armazenamento de produtos enlatados, principalmente vegetais não ácidos. A mudança da atividade é atribuída à diminuição e aumento do pH, a perda da atividade observada com acidificação, atribui-se a mudança do estado nativo para desnaturação, originaria pela liberação do grupo heme da proteína. A mudança da atividade com o pH está relacionada alteração estrutural na molécula da enzima. O inibidor químico mais utilizado no controle da peroxidase na indústria é o dióxido de carbono ou sulfitos (ARAÚJO, 1999).

O escurecimento de frutas e vegetais é iniciado pela oxidação enzimática de compostos fenólicos pelas PFOs. Tendo como produto inicial da oxidação a quinona, que rapidamente se condensa, formando pigmentos escuros insolúveis, denominados melanina, ou reagem não-enzimaticamente com outros produtos fenólicos, aminoácidos e proteínas, formando também melanina. Os escurecimentos enzimáticos ocorrem no tecido vegetal quando há ruptura da célula e reação não é controlada, mesmo em tecido intacto de frutas e vegetais, o escurecimento pode ocorrer, por exemplo, em situação de inibição da respiração durante o armazenamento em atmosfera controlada, uso de embalagem imprópria, deficiência de ácido ascórbico no tecido vegetal, armazenamento a frio e radiação

ionizante. A enzima PFO é encontrada principalmente em todos os tecidos vegetais, sua atividade pode ser alterada em função da variedade, do estágio de maturação e das condições de cultivo, ocorrendo à ruptura do tecido, inicia-se o escurecimento (ARAÚJO 1999).

Para Araújo (1999) a PFO está presente em algumas bactérias e fungos, na maioria das plantas, em alguns artrópodes e nos mamíferos, sendo associada com pigmentação escura do organismo. A enzima PFO (1,2- bezennodiol: oxigênio oxirredutase) possui cobre (Cu^{++}) no centro ativo e funciona como oxidases de função mista, catalisando dois diferentes tipos de reação.

A formação da quinona é dependente do oxigênio e da enzima. Uma vez formada, as reações subseqüentes ocorrem espontaneamente, não dependendo mais da enzima nem do oxigênio. Os derivados contendo metil não funcionam como substrato para as PFOs, em contraste com os o-difenóis, os m-difenóis são raramente utilizados como substratos e alguns deles possuem efeito inibitório.

Segundo Araújo (1999) algumas maneiras de inibição da PFO são conhecidas embora os métodos utilizados pelas indústrias sejam relativamente poucos. O pH ótimo de atuação da PFO varia com a fonte da enzima e de seu substrato, sendo o ideal na faixa de 6 e 7, ocorrendo a inativação em pH abaixo de 4. O escurecimento enzimático é uma reação oxidativa que pode ser retardada eliminando o oxigênio da superfície danificada do vegetal. Entretanto, o método mais prático de prevenir o escurecimento é a adição de agentes químicos, que agem diretamente sobre a enzima ou sobre os intermediários da formação de pigmentos.

2.10 Peroxidase – (POD)

As peroxidases estão implicadas em vários processos bioquímicos e fisiológicos. As PODs são hemoproteínas que na presença de H_2O_2 , catalizam a oxidação de substratos como fenóis, aminas e certos compostos heterocíclicos como ácido ascórbico (DILLEY, 1970). Sua presença em vegetais tem sido relacionada à biogênese do etileno Matto e Mody (1969); Clemente e Pastore (1998), ao balanço fitohormonal Gortnen e Kent (1988), à integridade da membrana e ao controle respiratório (DILLEY, 1970). Trata-se portanto de um importante fator no controle da maturação e senescência. Sua atividade parece aumentar durante a maturação de diversos frutos (MATTOO; MODY, 1969).

Assim, pode-se afirmar que a peroxidase está relacionada com o climatério respiratório. No último passo da biossíntese de etileno, isto é, com a transformação de ácido 1 aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC), há hipóteses de que algumas peroxidases e lipoxidases sejam responsáveis pela catálise (MACHAKKOVA; ZMRHAL, 1981; ROHWER; MADER, 1981). Estudos fisiológicos mostram paralelismo entre estas enzimas e a produção de etileno pelos vegetais (SIEGEL, 1993). Santos (2007) relata que a peroxidase é uma enzima importante sob os pontos de vista nutricional, de coloração e de “flavor”. O escurecimento do tegumento tem sido atribuído também à presença de compostos fenólicos e, nos últimos anos, as pesquisas intensificaram-se a respeito do papel que esses compostos podem ter em leguminosas e especialmente no feijão. Esses compostos ocorrem naturalmente nas 27 sementes de cereais e leguminosas e, se presentes em grandes quantidades, podem diminuir a biodisponibilidade de proteínas.

Segundo Egorov e Gazaryan (1993), a peroxidase pode ser utilizada como biossensores em medicamentos, no controle do meio ambiente, degradação de compostos aromáticos e na obtenção de produtos químicos (GANJIDOUST et al., 1996).

A atividade enzimática da peroxidase é relacionada diretamente aos teores de alguns metais como: cálcio, cobre, zinco e manganês (BAKARDJIEVA et al., 1997). As PODs catalisam grande número de reações oxidativas em plantas utilizando peróxido como substrato, ou ainda oxigênio como um aceptor de hidrogênio. A POD em vegetais causa mudanças negativas de sabor durante o seu armazenamento. As PFO e POD são responsáveis pelo escurecimento de frutas e vegetais em processamento, por isso a importância do controle das atividades enzimáticas (CLEMENTE; PASTORE, 1998).

Zanatta et al. (2006) analisando as enzimas PFO e POD como são conhecidas oxiredutases, relatam que a atividade enzimática pode ocasionar mudanças no aroma, alterações no teor de vitaminas e modificações na textura e na cor.

2.11 Polifenoloxidase (PFO)

As Polifenoloxidases, classificadas como (EC. 1.14.18.1), referenciadas pela sigla PPO ou PFO, são também conhecidas como tirosinases, cresolases, catecolases, difenolases e fenolases. Estas enzimas são intracelulares e ocorrem em plantas, animais e fungos (ZAWISTOWSKI et al., 1991; WHITAKER, 1994).

Na presença de oxigênio atmosférico, a polifenoloxidase (PFO) catalisa a oxidação de certos compostos fenólicos naturais, formando pigmentos marrons, as melanoproteínas (VALERO et al., 1989; AWAD, 1993).

A oxidação enzimática de compostos fenólicos pela peroxidase e polifenoloxidase resulta, reconhecidamente, no escurecimento de tecidos vegetais (WHITEHEAD; SWARDT, 1982). As enzimas PFO estão envolvidas na formação de materiais poliméricos coloridos, que provocam reações que podem ser chamadas de “escurecimento enzimático” ou “melanização”. O escurecimento de tecidos tem sido atribuído à presença de compostos fenólicos. Em trabalho conduzido com feijão, observou-se que tegumentos mais escuros, apresentaram maior atividade da peroxidase e da polifenoloxidase e os teores mais elevados de compostos fenólicos, antes e após o armazenamento, quando comparados com a linhagem de tegumento mais claro, demonstrando, uma relação diretamente proporcional entre a cor do tegumento, a atividade das enzimas e o conteúdo de compostos fenólicos totais (MOURA et al., 1999). A concentração de compostos fenólicos diminui durante a maturação e permanece baixa até a colheita. A atividade de polifenoloxidase segue um padrão similar àquele dos fenóis durante o amadurecimento. O escurecimento geralmente é correlacionado com a atividade dos fenóis. Fenóis e PFO são, geralmente, responsáveis pelas reações de escurecimento enzimático. As reações produzem cor, flavor, e valor nutritivo não desejado e o grau de escurecimento nos diferentes tecidos vegetais varia de acordo com os conteúdos de compostos fenólicos e atividade da polifenoloxidase (SANTOS, 2007).

As PFO podem estar localizadas no cloroplasto, onde estão associadas com a membrana interna do tilacóide. Podem também ser encontradas no citosol e em vesículas entre o plasmalema e a parede celular (OBUKOWICZ; KENNEDY, 1981). Muitos fenólicos estão presentes principalmente nos vacúolos, mas são 28 sintetizados no citosol (VAMOS-VIAGYÁZÓ, 1981) e podem às vezes, serem depositados na parede celular. Danos nas membranas de organelas tais como

vacúolos, fazem com que os fenóis entrem em contato com as polifenoloxidasas (LEJA et al., 2003) promovendo sua atividade. Muitas células podem reagir aos danos celulares e depositar compostos fenólicos na parede celular, os quais poderiam então reagir com as polifenoloxidasas presentes no apoplasto.

O escurecimento interno está diretamente relacionado com conteúdo de fenóis e com a atividade da polifenoloxidase (LUCHSINGER et al., 1996).

A Polifenoloxidase catalisa a oxidação de alguns elementos fenólicos naturais, com a presença de oxigênio atmosférico, formando assim pigmentos marrons, as melaproteínas (VALERO et., 1989; AWAD, 1993). O escurecimento oxidativo em uva é mais notado quando as bagas sofrem danos, pois as PFO entram em contato com oxigênio do ar. (WISSEMANN; LEE, 1980; AWAD, 1993). O escurecimento de diversos tecidos pode ser relacionado com intensidade da POD e PFO (HANSCHE; BOYNTON, 1986). Com o rompimento de compartimentos celulares ocorre a exposição das enzimas que promovem o escurecimento (ROLLE; CHISM, 1987). As polifenoloxidase são classificadas no grupo de enzimas estáveis à altas temperaturas, entre 70 e 90 °C (YEMENICIOG; CEMEROG, 2003).

Segundo Azevedo et al. (2009) em seu trabalho avaliando diferentes estágios de desenvolvimento de uvaia, pode observar que o aumento da PFO e POD foi mais intensificado no final do amadurecimento. No entanto relata que a maior função desta enzima é a de catalisar a oxidação álcool-coniferil, na formação de radicais fenólicos que, posteriormente polimerizam-se para formar lignina. Sendo a principal função da PFO contribuir com a resistência das plantas contra vírus e microorganismo. Na fase inicial de desenvolvimento dos frutos são produzidos quinonas que provocam reações secundárias de polimerização, induzindo a formação de polímeros escuros insolúveis nas células, estes polímeros têm a função de barreira contra microorganismos externos.

Para Carneiro et al. (1998) estudando teores enzimáticos de PFO e POD nos ramos de pêssigo, na mesma época que foram realizadas análises nematológicas, pode ser observado que plantas com menor número de nematóides apresentaram maiores níveis enzimáticos.

De acordo com Freitas et al. (2008) alterações do conteúdo das enzimas PFO e POD podem ocorrer durante a senescência dos tecidos das bagas, em seu armazenamento, e o efeito do tratamento térmico para as enzimas mostrou-se um processo não linear.

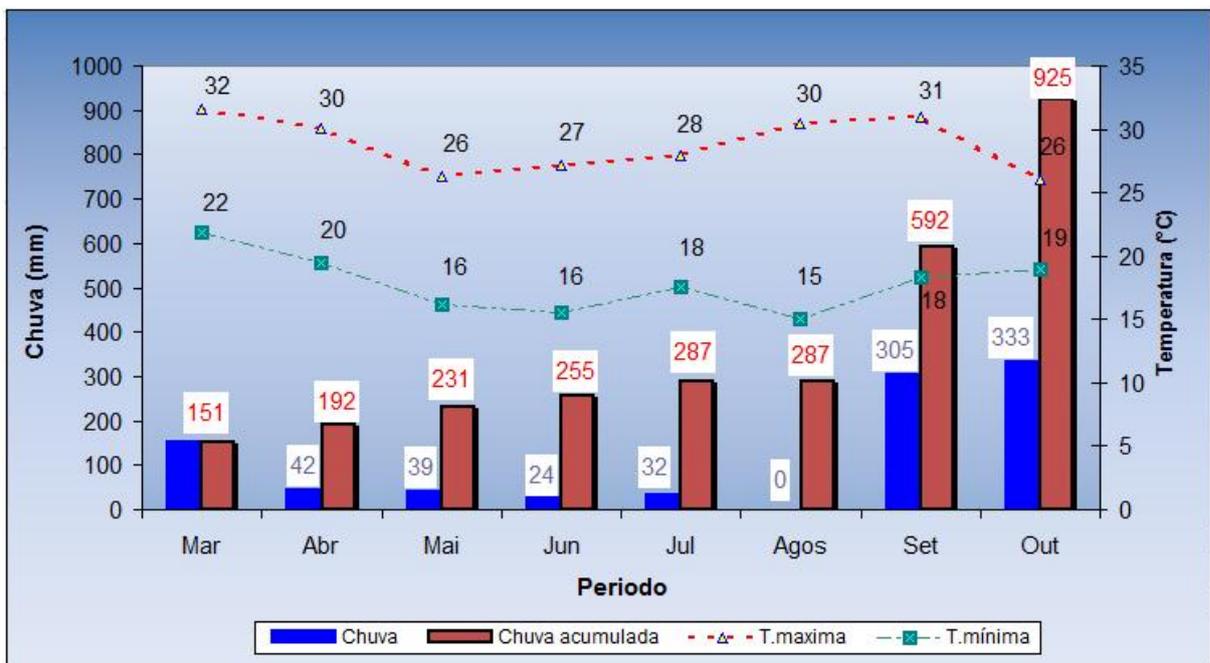
Para Pilon (2007) a polifenoloxidase e a peroxidase estão envolvidas no escurecimento oxidativo dos tecidos, e que a POD responsáveis pelas alterações indesejáveis no sabor e textura, causando o desenvolvimento da coloração escura.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na área experimental da Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), localizada no campus II, em Presidente Prudente, SP localizado a uma latitude de 22°07'04"S, longitude de 51°22'04"W e altitude de 430m, o cultivar de cana-de-açúcar RB 86 7515 foi plantado em dezembro de 2007 e colhido em junho 2009 (18 meses) a soqueira deste cultivar foi utilizada no estudo.

O solo foi identificado como Argissolo vermelho-amarelo distroférico de acordo com a classificação (EMBRAPA, 1999), podendo ser classificado como um ambiente de produção do tipo C (Prado, 2005) O clima da região conforme classificação de Koppen, é do tipo Aw. Os dados meteorológicos de precipitação pluviométrica e temperatura máxima e mínima, coletados no decorrer da condução do experimento, são apresentados na Figura 04, medidos na estação meteorológica da UNOESTE.

FIGURA 04 - Dados meteorológicos do período de condução do experimento, 2010



Foi realizada uma amostragem composta de solo no local do experimento, 60 dias antecedendo o plantio, e logo após a colheita da cana planta sendo os resultados apresentados na Tabela 04.

TABELA 04- Resultados da análise do solo realizada na área do experimento outubro de 2007

pHem CaCl ₂	pH em SMP	Acidez Pont. (H+AL) (mmolc/dm ³)	Alumínio(Al ³⁺) (mmolc/dm ³)	Mat.Org. (g/dm ³)	Cálcio(Ca ²⁺) (mmolc/dm ³)	Magnésio(Mg ²⁺)(mmolc/dm ³)
5,5 (Médio)	7,3	11	0	5(Arenoso)	11 (Alto)	6 (Médio)
Potássio(K+) (mmolc/dm ³)	Fósforo (mg/dm ³)	Enxofre(SO ²) (mg/dm ³)	S.B (mmol/dm ³)	Mat.Org. (M%)	CTC (mmolc/dm ³)	V(%)
1,4 (Baixo)	21 (Médio)	1,3 (Baixo)	18	0	29	63 (Médio)

julho de 2009						
pHem CaCl	pH em SMP	Acidez Pont. (H+AL) (mmolc/dm ³)	Alumínio(Al ³⁺) (mmolc/dm ³)	Mat.Org. (g/dm ³)	Cálcio(Ca ²⁺) (mmolc/dm ³)	Magnésio(Mg ²⁺)(mmolc/dm ³)
5,5	7,1	14,2	0	7,4 (Arenoso)	8,2 (Alto)	3,4
Potássio(K+) (mmolc/dm ³)	Fósforo (mg/dm ³)	Enxofre(SO ²) (mg/dm ³)	S.B (mmol/dm ³)	Mat.Org. (M%)	CTC (mmolc/dm ³)	V(%)
2,0 (Médio)	13,9 (Baixo)	1,3 (Baixo)	13,7	0	27,8	48,8 (Baixa)

Segundo as recomendações de Espironelo (1992), não foi necessária a adição de calcário para correção da acidez, mas sim a adubação com o equivalente a 0, 135 e 135 kg ha⁻¹ de N, P₂O₅ e K₂O, respectivamente, utilizando 675 kg ha⁻¹ do formulado 00-20-20, no plantio, em 2007. As plantas receberam ainda 30,8 kg ha⁻¹ de N, na forma de 70 kg ha⁻¹ de uréia (44%N), como adubação em cobertura, quando estavam com altura média de 0,20m, em fevereiro de 2008.

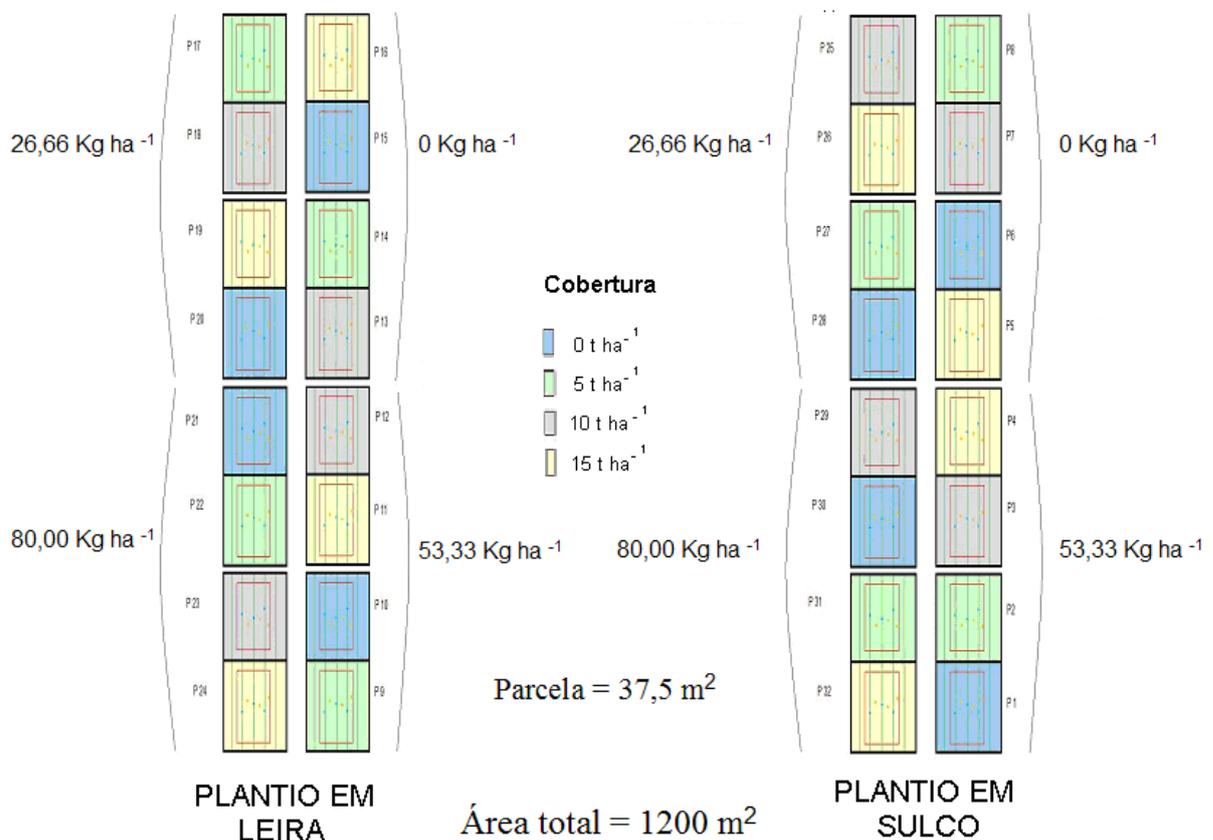
O esquema estatístico foi de blocos ao acaso com parcelas subdivididas, em que os fatores foram dois sistemas de plantio, quatro doses do polímero hidroabsorvente. As parcelas com as doses do polímero foram subdivididas em quatro doses de palhicho, em cobertura e com valores aferidos mensalmente durante oito meses no período de safra, com uma repetição de parcela.

A unidade experimental (subparcela) foi composta de cinco linhas com cinco metros de comprimento e espaçamento 1,5 m (área de 37,5 m²). Da unidade experimental foram coletados colmos pra extração do caldo e para a determinação da atividade enzimática segundo Campos et al. (1996), mensalmente de março a outubro de 2010. O total de amostragem foi de 32 para cada mês e de 256 no ensaio. As amostras foram coletadas nas três linhas internas desprezando-se o primeiro e o último metro das extremidades. Os primeiros internódios dos colmos abaixo da inserção da TVD “Top Visible Dowlap” foram prensados em laboratório, e coletado o caldo para análises.

O *layout* do ensaio pode ser observado na Figura 5, sendo que para o cálculo da cobertura vegetal, utilizou-se a umidade de 40% nas folhas verdes

(ORLANDO FILHO, 1983; BOVI; SERRA, 2001; RIPOLI; RIPOLI, 2004). Para a dose de 5 t ha⁻¹ de matéria seca, utilizou-se 5 t ha⁻¹ de folhas secas, para a dose 10 t ha⁻¹ de matéria seca, utilizou-se 16,67 t ha⁻¹ de folhas verdes, para a dose 15 t ha⁻¹ de matéria seca, utilizou-se 21,67 t ha⁻¹ de folhas verdes (16,67 t ha⁻¹) e folhas secas (5 t ha⁻¹). Estes tratamentos denominado de palhiço foram instalados na colheita do primeiro corte (junho de 2009).

FIGURA 05 - Croqui da área experimental, apresentando os dois sistemas de plantio (Leira e Sulco), as quatro doses do polímero hidroabsorvente (0,00; 26,66; 53,33 e 80,00 kg ha⁻¹), as quatro subdoses de palhiço em cobertura (0,00; 5,00; 16,67 e 21,67 t ha⁻¹). As avaliações ocorreram de março a outubro de 2010 (oito avaliações). Esquema de blocos ao acaso com parcelas subdivididas (2 x 4 x 4 x 8)



A metodologia utilizada para determinação enzimática, segundo Campos et al., (1996), é descrita a seguir:

A atividade enzimática foi determinada no caldo de cana *in natura*. Após extração do caldo, uma amostra por parcela foi recolhida e levada à análise:

a) A atividade da enzima peroxidase foi determinada utilizando-se guaiacol como substrato fenólico. Em um tubo de ensaio de 20 mL foram adicionados 7 mL de tampão fosfato 0,2M pH 5,5 e 1 mL da amostra. Essa mistura foi condicionada em banho a 35°C. Após estabilização da temperatura, adicionou-se 1,5 mL de guaiacol (0,5% em etanol) e 0,5 mL de peróxido de hidrogênio a 0,1%. A mistura foi homogeneizada e 3 mL foram transferidos para uma cubeta de vidro e a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 470 (nm) nanômetros em intervalos de 1 minuto, por quinze minutos totais.

b) A atividade da enzima polifenoloxidase foi determinada utilizando-se catecol como substrato fenólico. Em um tubo de ensaio de 20 mL foram adicionados 5,5 mL de TAMPÃO FOSFATO 0,2M pH 6,0 e 1,5 mL de CATECOL 0,2M AQUOSO. Essa mistura foi homogeneizada e acondicionada em banho a 25°C. Após estabilização da temperatura, foi adicionado 1 mL de AMOSTRA. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro a 425 nm em intervalos de 1 minuto, por quinze minutos totais.

Uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima capaz de aumentar a absorbância em 0,001 unidade por minuto. Desta forma a cada aumento de 0,001 na leitura de absorbância corresponderá a 1 unidade por minuto. Fez-se a regressão linear para os valores encontrados e o coeficiente angular (a) da equação obtida foi dividida por 0,001 para a obtenção da unidade de atividade.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste de F, ao nível de 5% de probabilidade, e as medias comparadas pelo teste de Scott Knott utilizando ao programa estatístico sisvar (ANOVA, $p < 0,05$), segundo Gomes (1990). Usou-se o Microcal Origin 6.0 para a análise de regressão dos valores de regressão dos valores de atividades enzimáticas ao tempo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a análise global dos meses estudados (março a outubro) pode-se observar que as doses de polímeros sintéticos promoveram alterações nas concentrações de PFO, sendo que na Tabela 05 observa-se uma resposta estatística para plantio em sulco com doses de 53,33 kg ha⁻¹ e 80,00 kg ha⁻¹ do polímero por metro, e para leira observa-se resposta com a dose de 26,66 kg ha⁻¹. Estes resultados proporcionaram valores para as médias entre sulco e leiras cuja a testemunha apresentou valor inferior.

Segundo Willadino et al. (2011) o sistema enzimático antioxidativo presente na cana-de-açúcar é composto por peroxidase do ascorbato (APX), catalase (CAT) e peroxidase (POD) e estas enzimas desempenham papel fundamental no equilíbrio redox, o que permite mecanismo de defesa a fatores desfavoráveis como solos salinos, estresse hídrico, os quais ocorrem nas áreas de expansão dos canaviais brasileiros. Já para Zhu (2002) fatores abióticos como seca, temperaturas extremas, alta luminosidade podem levar a mudanças no metabolismo das plantas. Uma alteração metabólica interessante é o aumento de espécies reativas ao oxigênio (FOYER; NOCTOR, 2005), sendo que neste processo estão as enzimas oxidativas de defesa, sendo as principais peroxidase do ascorbato, catalases e peroxidases (CAVALCANTI, et al., 2004).

De acordo com Bucheli e Robinson (1994), a PFO presente nos tecidos da cana-de-açúcar, apresenta alta especificidade pelo substrato ácido clorogênico. A atividade desta enzima é significativamente maior na presença do ácido clorogênico do que do catecol. Estudos indicam que a PFO é a enzima com maior atividade no caldo de cana, contribuindo significativamente para o escurecimento do mesmo. Já a POD mostra-se pouco ativa e, portanto pouco contribui para o escurecimento do caldo de cana, segundo o autor.

Moura (1999); Brito et al. (2007) e Azevedo et al. (2009) observaram aumento da atividade da PFO em final de ciclo e estas enzimas apresentaram relação direta com escurecimento e com proteção ao ataque microbiano, sendo que também determinaram maiores atividades enzimáticas em tecidos em crescimentos.

Os tratamentos com polímeros promoveram maiores atividades enzimáticas, pois permitiram maiores crescimentos e portanto ao contrario citado por

WILLADINO et al. (2011) o estresse na temperatura proporcionou menores atividades enzimáticas.

TABELA 05- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para PFO, para os sistemas de plantio e doses do polímero, análise global dos meses

Doses (kg ha ⁻¹)	Leira	Sulco	Média
0,00	210Ba	200Ba	200B
26,66	300Aa	200Bb	250A
53,33	240Ba	260Aa	250A
80,00	220Ba	240Aa	230A
Média	240a	220a	230

CV% 43,51

Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

A análise global para meses referente a enzima POD pode ser observada na Tabela 06, onde apenas para plantio em sulco a doses de polímero 26,66 kg ha⁻¹ apresentou menor atividade, contudo o CV % apresentou-se elevado.

TABELA 06- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para POD, para os sistemas de plantio e doses do polímero, análise global dos meses

Doses (kg ha ⁻¹)	Leira	Sulco	Média
0,00	760A	740A	750A
26,66	730A	530B	630A
53,33	620A	790A	700A
80,00	660A	820A	740A
Média	690a	720a	700

CV% 65,01

Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

A análise global, para meses (março a outubro), referentes à atividade da enzima PFO, em unidade de atividade (ua) com relação à cobertura vegetal pode ser observada na Tabela 07, sendo que apenas para sulco com 5 t MS ha⁻¹ apresentou menor atividade quando comparado à leira. Segundo Willadino et al. (2011), a atividade enzimática representa defesa a fatores desfavoráveis, portanto em leira esse fatores, como estresse hídrico foram mais sentidos.

TABELA 07- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para PFO, para os sistemas de plantio e quantidades de cobertura (MS – matéria seca), análise global dos meses

Cobertura (t MS ha ⁻¹)	Leira	Sulco	Média
0	230Aa	240Aa	230A
5	280Aa	220Ab	250A
10	240Aa	220Aa	230A
15	240Aa	220Aa	230A
Média	240a	220a	230
CV% 43,51			

Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

Para a enzima POD observa-se na Tabela 08 que a análise estatística não detectou diferenças. Este fato esta em concordância com o citado por Bucheli e Bobison (1994) que relatam pouca atividade da enzima POD em tecidos de cana-de-açúcar.

TABELA 08- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para POD, para os sistemas de plantio e quantidades de cobertura (MS – matéria seca), análise global dos meses

Cobertura (t MS ha ⁻¹)	Leira	Sulco	Média
0	722Aa	726Aa	724A
5	567Aa	646Aa	606A
10	729Aa	726Aa	728A
15	732Aa	774Aa	753A
Média	687a	718a	703
CV% 65,01			

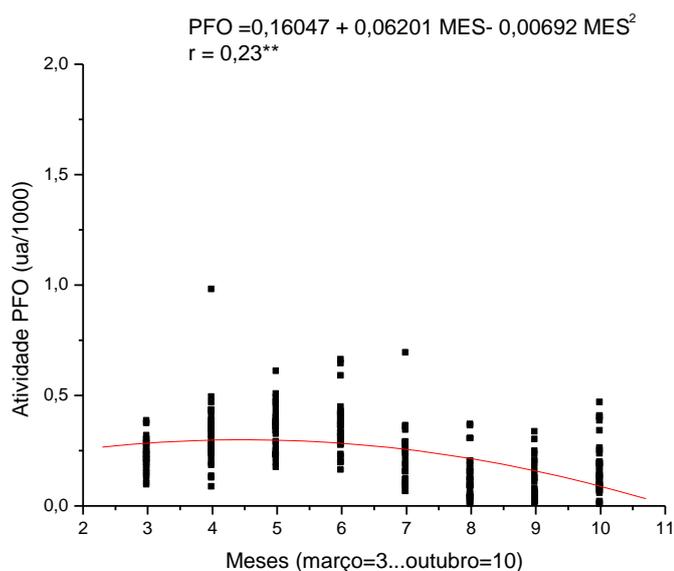
Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

Na Figura 06 as atividades da enzima PFO são plotadas em relação aos meses do ensaio. Existe uma regressão quadrática entre os meses e a atividade enzimática com um ajuste estatisticamente significativo ao nível de 1%. Derivando a equação e igualando a zero, encontra-se o ponto de maximização, que neste caso é de 4,48 (entre abril e maio) para o mês 290 ua. E essa atividade enzimática desempenha papel importante, contra o estresse que ocorre neste meses, pois na Figura 04 pode ser observadas reduções nas chuvas, fato que em solos arenosos, como o do ensaio, promove menores umidades no solo levando a maiores estresses, no entanto este fato leva a maiores escurecimentos do caldo Qudsieh et al. (2002); Bucheli e Robinson (1994).

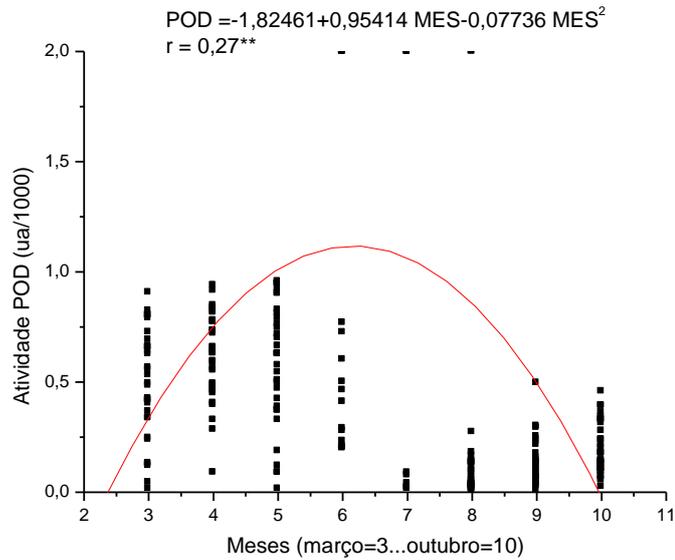
Para a produção de açúcar cristal branco deve-se evitar os períodos de maior atividade enzimática, que dependem de diversos fatores, bióticos e abióticos, mas no presente ensaio o pico de atividade foi entre os meses de abril e maio, para a enzima PFO que Qudsieh et al. (2002); Bucheli e Robinson (1994) relatam ser a enzima que mais contribui para o escurecimento enzimático do caldo de cana-de-açúcar.

Para POD, Figura 07, observa-se que o pico de atividade ocorreu entre junho e julho, contudo esta enzima pouco contribuiu para o escurecimento do caldo de cana-de-açúcar (BUCHELI; ROBINSON 1994). No entrato, produzir açúcar no final de safra (agosto a novembro) seria interessante, visando evitar os períodos de maiores atividades enzimáticas.

FIGURA 06 - Atividade da PFO durante os meses do ensaio



Na Figura 07, a atividade da enzima POD apresenta correlação quadrática entre meses e atividade enzimática, sendo que derivando a equação e igualando a zero, encontra-se o ponto de maximização, ou seja, 6,17 para mês (entre junho e julho que também apresentam na Figura 04 menores valores de chuvas) com o valor de 1120 ua.

FIGURA 07 - Atividade da POD durante os meses do ensaio

Os tratamentos aplicados no sistema de plantio que promoveram maiores crescimento vegetativo com o uso do polímero, levaram a maior indução da atividade enzimática., A utilização de cobertura vegetal não apresentou relação definida com as atividades de PFO e POD, portanto pode-se inferir que não existe relação entre cobertura e atividade enzimática. Avaliação da atividade enzimática para os meses de ensaio foi visivelmente diferenciada e apresentou regressão estatística para PFO e POD.

5 CONCLUSÕES

O sistema de plantio que emprega o polímero sintético adicionado ao solo promove alterações nas enzimas estudadas;

Cobertura com palhicho não promove alterações nas enzimas estudadas;

O sistema de plantio em sulco e leira não promoveram alterações, nas atividades das enzimas pesquisadas;

As enzimas apresentam alterações de atividade enzimática ao tempo.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, H. V. O que é qualidade de matéria-prima? In: REUNIÃO AGRÍCOLA DA FERMENTEC, 8., 2003, São Pedro. **Resumos...** Piracicaba: Fermentec, 2003. p. 5-6.
- ANDRADE, A. R. P. **Tratamento do caldo**. Manual técnico da usina de açúcar Santa Terezinha. Santana do Paraíba, São Paulo, 1998.
- AOKI, I. V. **Clarificação de caldos de cana: comparação entre os processos de sulfitação e carbonatação**. 1987. 177 p. Tese (Doutorado em Engenharia)– Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. Viçosa: UFV, 1999. p. 416.
- ARAUJO, F. A. D. Processo de clarificação do caldo de cana pelo método da bicarbonatação. **Revista: Ciência e Tecnologia**, julho-dezembro, n. 1, 6. p, 2007.
- ARMS, R. et al. Free and conjugated polyamines and phenols in raw and alkaline clarified sugarcane juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 47. 3086-3092, 1999.
- AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de Frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. p.114.
- AZEVEDO, K. P. et al. Caracterização Física e enzimática em Diferentes Estágios de Desenvolvimento da Fruta de Uvaieira (*Eugenia Pyriformis* Cambess), Cultivada no Triângulo Mineiro. Seminário Iniciação Científica- IFTM. **Anais...** Campus Uberaba, MG., 2009.
- BAKARDJIEVA, N. T.; CHRISTOVA, N.V.; NENKOVA, R. Effect of Calcium and copper Ions and Some Aminoacids on the Activity and Thermosensitivity of Mosses Peroxidase and Catalase. **Plant Peroxidase Newsletter**, v.10, p. 35-41,1997.
- BOURZUTSCHKY, H. C. C. Color formation and removal – Options for the sugar and sugar refining industries: a review. **Zuckerindustrie**, v. 130, n. 6, p. 470-475, 2005.
- BOVI, R.; SERRA, G. E. Folhas verdes, folhas secas, fibra do colmo e a clarificação do caldo de cana-de-açúcar. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 3, p. 457-463, jul./set. 2001.
- BRITO, C. A. K. et al. Abacaxi IAC Gomo-De-Mel (*Ananás comosus* (L.) Merrill): Características da Polpa e da Peroxidase do Suco. **B.CEPPA**, Curitiba v. 25, p. 257-266, jul./dez. 2007.
- BUCHELI, C. S.; ROBINSON, S. P. Contribution of enzymatic browning to color insugarcane juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 2, p. 257-261, fev. 1994.

CALDAS, C. **Teoria básica das análises sucroalcooleira**. Maceió: Central Analítica, 2005. 172 p.

CAMPOS, C. F. et al. Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 20, n. 6, p.487-500,1996.

CARNEIRO, R. M. D. et al. Avaliação de Porta-enxertos de Prunus Quanto à Suscetibilidade ao Nematóide e ao Conteúdo de Enzimas Fenol Oxidases. **Nematologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n.1, 1998.

CAVALCANTI, F. R. et al. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. **New Phytologist**, New York, v. 163, p. 563-571, 2004.

CENI, C. G. **Oxidases de Erva-Marte (Ilex paraguariensis ST. Hill):** Extração, Estabilidade Térmica e Influência da Exposição ao Microondas. Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões- URI, Campus de Erechim. Erechim, RS 2005.

CESAR, M.A. et al. Capacidade de fosfatos naturais e artificiais em elevar o teor de fósforo no caldo de cana-de-açúcar (cana-planta), visando o processo industrial. **STAB: açúcar, álcool e subprodutos**, v. 5, n. 5, p. 32-38, 1987.

CHEN, J. C. P.; CHOU, C. **Cane Sugar Handbook**. A manual for cane sugar manufacturers and their chemists. 12. ed. New York: John Wiley e Sons, 1993.

CLARKE, M. A.; ROBERTS, E. J. **Colorant formation under refining conditions**. Technical Session of Cane Sugar Refinery Research, 1975. p. 106-115.

CLARKE, M. A.; BLANCO, R. S.; GODSHALL, M. An. Color tests and onther indicators of raw sugar refining characterisriscs. In: PROCEEDINGS OF THE SUGAR PROCESSING RESEARCH CONFERENCE. 1984. **Anais...** New Orleans, p. 284-302, Oct. 1984.

CLARKE, M. A. et al. Color components in sugar refinery process. Sugar Industry Technologist Annual Meeting, 44. Saint John, **Proceedings...** Martinez, 1985, p. 53-88.

CLARKE, M. A.; LEGENDRE, B. L. **Sugarcane quality: impact on sugar yield and quality factors**. The South African Technologist Ass., Durban, 1996, **Proceedings...**, n. 70, p. 16-19,1996.

CLARKE, M. A.; LEGENDRE, B. R. Qualidade da cana-de-açúcar: Impactos no rendimento do açúcar e fatores da qualidade. **STAB**, v. 17, n. 6, p. 36-40, julho-agosto, 1999.

CLEMENTE, E.; PASTORE, G. M. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. **Ciên. Technol. Aliment.**, Campinas, v. 32, n. 2, p. 167-171, 1998.

CONAB, **Cana-de-açúcar safra 2011/2012 Segundo levantamento agosto de 2011**. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em: 05 set. 2011.

DELGADO, A. A.; CESAR, M. A. A. **Elementos de tecnologia e engenharia do açúcar de cana**. Vol. II. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 1977.

DILLEY, D. R. Encimes. In: HULME, A. C. **The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic Press, 1970. v.1. p. 179-207.

DOHERTY, W. O. S.; RACKEMANN, D. W. Stability of sugarcane juice – preliminary assessment of the colorimetric method used for phosphate analysis. **Zuckerindustrie**, v. 133, n. 1, p 24-30, 2008.

EDYE, L. A.; CLARKE, M. A. Sucrose loss and color formation in evaporators. **Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists**, v. 22, p. 238, 1995.

EGGLESTON, G. Deterioration of cane juice—sources and indicators. **Food Chemistry**, v. 78, p. 95-103, 2002.

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

EL-KADER, A. A.; MANSOUR, A. E. K.; YASSIN, A. A. Influence of clarification on sugar cane juice by the sulphitation and phosphatation processes. In: International Society of Sugar-Cane Technologists, 18, 1983, Cuba. **Proceedings...** Cuba, p. 507- 530, 1983.

ESPIRONELO, A. Cana-de-açúcar. In: RAIJ, B. van et al. (Eds.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1992. 107 p. (Boletim Técnico, 100).

EID, F.; PINTO, S. P.; CHAN, K. Mudanças tecnológicas na indústria sucroalcooleira: Avanços e Retrocessos?. **Recitec**, Recife, v. 2, p. 36-47, 1998.

EGOROV, A. M.;GAZARYAN, I. G. Peroxidase Biotechnology and application in Russia and the Former Soviet Union (FSU). **Plant Peroxidase Newsletter**, v. 2, p. 1-5, 1993.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção de Informação, 1999. 412 p.

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

FERNANDES, A. C.; OLIVEIRA, E. R.; QUEIROZ, L. Sugarcane trash measurements in Brazil. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 16., 1977, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: International Society of Sugar Cane Technologists, 1978. v.2, p.1963-73.

FERNANDES, A. C. **Cálculos na agroindústria de cana-de-açúcar**. 2. ed. Piracicaba: STAB, 2003. 240 p.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 28, p. 1056, 2005.

FREITAS, A. A. et al. Atividades das Enzimas Peroxidase (POD) e Polifenoloxidase (PPO) nas Uvas das Cultivares Benitaka e Rubi e em seus Sucos e Geléias. **Ciênci. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 172-177, jan./ mar. 2008.

FURLANI, V. L. N.; RIPOLLI, C. T.; VILLANOVA, A. N.; Colheita mecânica: perdas de matéria-prima em canaviais com e sem queima. **STAB**, v. 14, n. 6, p. 19-24, 1996.

GANJIDOUST, H., TATSUMI, K., WADA, S., KAWASE, M. Role of Peroxidase and Chitosan in Removing Chlorophenols from Aqueous Solution. **Wat. Sci. Tech.**, v.34, n.10, p. 151-159, 1996.

GILLETT, T. R. Color and colored nonsugars. In: Honig, P. **Principles of sugar technology**. New York: Elsevier Publishing Company, 1953. p. 214-290.

GOODACRE, B. C.; COOMBS, J. Formation of colour in cane juice by enzyme-catalysed reaction. Part II. **International Sugar Journal**, v. 80, p. 323-326, 1978.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: ESALQ, 1990. 190 p.

GORTNER, W. A.; KENT, M. S. The coenzyme requirement and enzyme inhibitions of pineapple inodole acetic and oxidase. **Journal Biological Chemistry**, Bethesda, v. 233, n. 2, p. 731-35, 1988.

HANDCHE, P. E.; BOYNTON B. Heritability of enzymatic browning in peaches. **HortScience**, n. 21, p. 1195-1197, 1986.

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

HUGOT, E. **Manual da engenharia açucareira**. São Paulo: Mestre Jou, 1977. v.1.

IDEA – Indicadores de desenvolvimento da agroindústria canavieira de 1997 a 2001. **Tec. Agrícola**, News, p. 66-71, 2001.

JIMENEZ, P. O.; SAMANIEGO, R. L. Enzymic browning in cane juice. **Crystallizer**,

v. 4, p. 10-11, 1981.

KAMPEN, W. H. **Improved clarification with a cationic flocculent.** Lenexa: Midland research laboratories, 1996. 8 p.

LEITE, R. A. **Compostos fenólicos de colmo, bainha, folha e palmito de cana-de-açúcar.** 2000. 135 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, SP. Campinas.

LEJA, M.; MARECZEK, A.; BEN, J. Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. **Food Chemistry**, v. 80, n. 3, p. 303-307, Mar., 2003.

LUCHSINGER, L. E.; WALSH, C. S.; SMITH, M. Chilling injury of peach fruits during storage. **Horticultural Science**, v. 25, n. 5, p. 31-36, 1996.

MANTELATTO, P. E. **Estudo do processo de cristalização de soluções impuras de sacarose de cana-de-açúcar por resfriamento.** 2005. 272 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos. São Carlos.

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

MARQUES, M. O. et al. **Tópicos em tecnologia sucroalcooleira.** Jaboticabal-SP: Gráfica Multipress, 2006.

MACHAKOVA, L.; ZMRHAL, Z. Isoperoxidase involved in ethylene biosynthesis. **Physiologia Plantarum**, Denmark, v. 53, p. 479-482, 1981.

MATTOO, A. K.; MODY, V. V. Ethylene and ripening of mangoes. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 44, p. 308-310, 1969.

MERSAD, A. et al. Colorants in the sugar industry: Laboratory preparation and spectrometric analysis. **International Sugar Journal**, v. 105, p. 269-281, 2003.

METHOD G. S. **The Determination of White Sugar Solution Colour – Official.** International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ICUMSA)., 1994.

MICHELENA, G. et al. Inhibitory effect on *Leuconostoc* and other bacteria. **International Sugar Journal**, v. 108, n. 1285, p. 44-48, 2006.

MOURA, A. C. C. et al. Influência da Exposição ao Sol, dos Tipos de Secagem e do Armazenamento, na Atividade de peroxidase e Polifenoloxidase e Fenólicos totais em duas Cultivares e uma Linhagem de Feijão (*Phaseolus vulgaris L.*). **Ciênc. E Agrotec.**, Lavras, v. 23, n. 2, p. 345-352, abr./jun., 1999.

MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. Identificação de perdas de açúcares no setor agrícola. **STAB**, v. 23, n. 4, p. 42-46, 2005.

OBUKOWICK, M.; KENNEDY, G.S. Phenolic ultracytochemistry of tobacco cells undergoing to hypersensitive reaction to *Pseudomonas solanacearum*. **Physiologia Plantarum Pathological**, v.18, p. 339-344, 1981.

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

ORLANDO FILHO, J. **Nutrição e adubação da cana-de-açúcar no Brasil**. IAA/PLANALSUCAR. Piracicaba: Superintendência geral, 1983. 369 p.

PARANHOS, S. B. **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas – SP: Fundação Cargil, 1987. v.1.

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

PILON, L. **Conservação de Abacaxi Minimamente Processado Utilizando como Coadjuvantes de Cálcio, Película Comestível e Radiação Gama**. CENA/USP Universidade de São Paulo - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba 2007.

PRADO, H. **Ambientes de produção de cana de açúcar na região centro sul do Brasil**. Potafos: Piracicaba, 2005. p. 12-17.

QUDSIEH, H. Y. M. et al. Effect of maturity on chlorophyll, tannin, color and polyphenol oxidase (PPO) activity of sugarcane juice (*Saccharum officinarum* var. yellow cane). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, n. 6, p. 1615-1618, 2002.

RIFFER, R. The nature of colorants in sugarcane and cane sugar manufacture. Chemistry and processing of sugar beet and sugarcane. In: CLARKE, M. A.; GODSHALL, M. A. (Eds.). **Chemistry and processing of sugarbeet and sugarcane**. New York: Elsevier Science Publishers, 1988. cap. 13, p.186-207.

RIPOLI, T. C. C.; RIPOLI, M. L. **Biomassa de cana-de-açúcar: Colheita, energia e ambiente**. Piracicaba: TCC Ripoli, 2004. p. 302.

ROHWER, F.; MADER, I. The role of peroxidase en ethylene formation from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. **Z. Pflanz.**, v.104, p. 363-372, 1981.

ROLLE, R.; CHISM, G. W. Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. **Journal of Food Quality**, v. 10, p. 157-65, 1987.

SANTOS, M. H. L. C. **Fisiologia pós-colheita de sorvetão (Zingiber Spectabile. Griff.) cultivado no submédio São Francisco**. 2007. Dissertação (Mestrado-Concentração em Horticultura) . Unesp, Botucatu.

SANTOS, F. A. **Análise de trilha dos principais constituintes orgânicos e inorgânicos sobre a cor do caldo em cultivares de cana-de-açúcar**. 2008.

Dissertação (Mestrado) - Programa de pós-graduação em fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa- Minas Gerais.

SHORE, M. et al. Factors affecting white sugar colour. **Sugar Technology Reviews**, v. 12, p. 1-99, 1984.

SIEGEL, B. Z. Plant peroxidase: an organism perspective. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 12, p. 303-312, 1993.

SIMIONI, K. R. et al. Efeito da variedade e época de colheita no teor de fenóis totais em cana-de-açúcar. **STAB**, Piracicaba, v.24, n. 3, p. 36-39, jan./fev., 2006.

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

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

STUPIELLO, J. P. Cor do açúcar branco de alta qualidade. **STAB**, Piracicaba, v. 16, n. 1, p. 20, set./out., 1997.

STUPIELLO, J. P. Relação açúcares redutores/cinzas. **STAB**, Piracicaba, v. 19, n. 2, p. 10, nov./dez., 2000.

STUPIELLO, J. P. Sarkarana: Importante polissacarídeo. **STAB**, Piracicaba, v. 20, n. 1, p. 14, set./out., 2001.

STUPIELLO, J. P. Efeito dos não açúcares. **STAB**, Piracicaba, v. 20, n. 3, p. 10, jan./fev., 2002.

UNICA. Setor sucroenergético – Mapa de Produção. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/content>>. Acesso em: 26 set. 2011.

VALDERRAMA, P.; MANGONI, F.; CLEMENTE, E. Efeito do Tratamento Térmico Sobre a Atividade de Peroxidase (POD) em Maçã (*Mallus comunis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 2001.

VALERO, E. et al. Evolution of grape polyphenol oxidase activity and phenolic content during maturation and vinification. **Vitis**, Landau, v. 28, n. 2, p. 85-95, 1989.

VAMOS-VIGYÁZÓ, L. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 15, n. 1, p. 49-127, 1981.

WILLADINO, L. et al. Estresse salino em duas variedades de cana-de-açúcar: enzimas do sistema antioxidativo e fluorescência da clorofila. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 417-422, 2011.

WHITAKER, J. R. Polyphenol oxidase. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). **Principles of Enzymology for the Food Sciences**. New York: Marcel Dekker Inc, 1994. p. 543-556,

WHITEHEAD, C. S.; SWARDT, G. H. Extraction and activity of polyphenoloxidase and peroxidase from senescing leaves of *Protea neriifolia*. **South African Journal of Botany**, Pretória, v. 1, p. 127-130, 1982.

WISSEMANN, K. W.; LEE, C. Y. Polyphenoloxidase activity during grape maturation and wine production. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 31, n. 3, p. 206-211, 1980.

YEMENICIOG, A.; CEMEROG, B. Consistency of polyphenol oxidase (PPO) thermostability in ripening PPO forming and destabilizing mechanisms in apricots. **Journal of Agricultural and Chemical**, v. 51, p. 2371-2379, 2003.

ZANATTA, C. L.; ZOTARELLI, M. F. ; CLEMENTE, E. Peroxidase (POD) e Polifenoloxidase (PPO) em Polpa de Goiaba (*Psidium guajava* R.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n.3, p. 705-708, jul.-set. 2006.

ZAWISTOWSKI, J.; BILIADERIS, C. G.; ESKIN, N. A. M. Polyphenol Oxidases. In: ROBISON, D. S.; ESKIN, N. A. M. (Ed.). **Oxidative Enzymes in Foods**. New York: Elsevier Science Publishers LTD, 1991. p. 217- 273.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Reviews Plant Biology**, Oxford, v. 53, p. 247-273, 2002.

APÊNDICE

Quadro 1. Resultados da análise de variância para a variável, PFO em relação aos tratamentos.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	0.019391	0.019391	1.855	0.1749 ^{NS}
DOSE	3	0.086636	0.028879	2.763	0.0435 [*]
FOLHA	3	0.018396	0.006132	0.587	0.6244 ^{NS}
MÔS	7	2.209833	0.315690	30.203	0.0000 ^{**}
TRAT*DOSE	3	0.157835	0.052612	5.034	0.0023 ^{**}
TRAT*FOLHA	3	0.055842	0.018614	1.781	0.1525 ^{NS}
TRAT*MÔS	7	0.249621	0.035660	3.412	0.0019 ^{NS}
DOSE*FOLHA	9	0.123697	0.013744	1.315	0.2320 ^{NS}
DOSE*MÔS	21	0.607735	0.028940	2.769	0.0001 ^{**}
FOLHA*MÔS	21	0.195867	0.009327	0.892	0.6012 ^{NS}
erro	177	1.850048	0.010452		
Total corrigido	255	5.574900			
CV (%) =	43.51				
Média geral:	0.2349609	Número de observações:	256		

Quadro 2. Resultados da análise de variância para a variável, POD em relação aos tratamentos.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	0.060178	0.060178	0.288	0.5920 ^{NS}
DOSE	3	0.551905	0.183968	0.881	0.4518 ^{NS}
FOLHA	3	0.824353	0.274784	1.317	0.2705 ^{NS}
MÔS	7	64.625806	9.232258	44.236	0.0000 ^{**}
TRAT*DOSE	3	1.530042	0.510014	2.444	0.0657 ^{NS}
TRAT*FOLHA	3	0.067339	0.022446	0.108	0.9564 ^{NS}
TRAT*MÔS	7	11.014189	1.573456	7.539	0.0000 ^{**}
DOSE*FOLHA	9	0.316900	0.035211	0.169	0.9968 ^{NS}
DOSE*MÔS	21	9.648896	0.459471	2.202	0.0030 ^{**}
FOLHA*MÔS	21	5.694687	0.271176	1.299	0.1807 ^{NS}
erro	177	36.940671	0.208704		
Total corrigido	255	131.274966			
CV (%) =	65.01				
Média geral:	0.7026992	Número de observações:	256		

TABELA 09- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para PFO, para os sistemas de plantio e doses do polímero.

Doses (kg ha ⁻¹)	Leira	Sulco	Média
0,00	210Ba	200Ba	200B
26,66	300Aa	200Bb	250A
53,33	240Ba	260Aa	250A
80,00	220Ba	240Aa	230A
Média	240a	220a	230

CV% 43,51

Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

TABELA 10- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para PFO, para os sistemas de plantio e cobertura.

Cobertura	Leira	Sulco	Média
0 t ms ha ⁻¹	230a	240a	230A
5 t ms ha ⁻¹	280a	220b	250A
10 t ms ha ⁻¹	240a	220a	230A
15 t ms ha ⁻¹	240a	220a	230A
Média	240a	220a	230

CV% 43,51

Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

TABELA 11- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para PFO, para os sistemas de plantio e meses.

Meses	Leira	Sulco	Média
Março	250Ba	210Ba	230B
Abril	330Aa	330Aa	330A
Maio	340Aa	350Aa	340A
Junho	380Aa	320Aa	350A
Julho	300Ba	170Bb	230B
Agosto	170Ca	100Ca	130C
Setembro	60Da	130Ca	90D
Outubro	140Ca	200Ba	170C
Média	240a	220a	230

CV% 43,51

Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

TABELA 12- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para PFO, para os sistemas de cobertura, e meses.

Meses	0 t ms ha ⁻¹	5 t ms ha ⁻¹	10 t ms ha ⁻¹	15 t ms ha ⁻¹	Média
Março	240B	220C	240A	220B	230B
Abril	390A	310B	290A	320A	330A
Maio	350A	330B	350A	320A	340A
Junho	320A	420A	330A	340A	350A
Julho	180B	290B	260A	200B	230B
Agosto	140C	120D	110B	170B	130C
Setembro	90C	100D	80B	100B	90D
Outubro	120C	210C	180B	160B	170C
Média	220a	250a	230a	220a	230

CV% 43,51

Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

TABELA 13- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para PFO, para doses do polímero e meses.

Meses	0,00 kg ha ⁻¹	26,66 kg ha ⁻¹	53,33 kg ha ⁻¹	80,00 kg ha ⁻¹	Média
Março	210Aa	220Ba	280Ba	210Ba	230B
Abril	220Ab	370Aa	440Aa	290Ab	330A
Maio	320Ab	430Aa	310Bb	310Ab	340A
Junho	300Aa	360Aa	410Aa	350Aa	350A
Julho	200Aa	310Aa	210Ca	210Ba	230B
Agosto	240Aa	60Cb	150Cb	90Bb	130C
Setembro	50Bb	90Cb	50Db	180Ba	90D
Outubro	110Ba	180Ba	170Ca	220Ba	170C
Média	200b	250a	250a	230a	230

CV% 43,51

Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

TABELA 14- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para POD, para os sistemas de plantio e doses do polímero.

Doses (kg ha ⁻¹)	Leira	Sulco	Média
0,00	760A	740A	750A
26,66	730A	530B	630A
53,33	620A	790A	700A
80,00	660A	820A	740A
Média	690a	720a	700

CV% 65,01

Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

TABELA 15- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para POD, para os sistemas de plantio e meses.

Meses	Leira	Sulco	Média
Março	550Ba	440Ca	490C
Abril	600Ba	640Ca	620C
Mai	540Ba	610Ca	570C
Junho	1.740Aa	1.070Bb	1.400B
Julho	1.640Aa	1.630Aa	1.630A
Agosto	80Cb	1.040Ba	560C
Setembro	130Ca	150Da	140D
Outubro	220Ca	170Da	190D
Média	690a	720a	700

CV% 65,01

Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

TABELA 16- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para POD, para cobertura e meses.

Meses	0 t ms ha ⁻¹	5 t ms ha ⁻¹	10 t ms ha ⁻¹	15 t ms ha ⁻¹	Média
Março	440Ca	380Ba	600Ba	560Ca	490C
Abril	680Ca	650Ba	540Ba	620Ca	620C
Mai	540Ca	570Ba	680Ba	510Ca	570C
Junho	1.180B	1.400Aa	1.590Aa	1.450Ba	1.400B
Julho	2.000Aa	1.020Ab	1.510Ab	2.000Aa	1.630A
Agosto	580Ca	540Ba	530Ba	590Ca	560C
Setembro	120Ca	100Ba	200Ba	130Da	130D
Outubro	250Ca	190Ba	170Ba	170Da	190D
Média	720a	600a	720a	750a	700

CV% 65,01

Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

TABELA 17- Valores de atividades enzimáticas (ua unidade de atividade) para POD, para doses do polímero e meses.

Meses	0,00 kg ha ⁻¹	26,66 kg ha ⁻¹	53,33 kg ha ⁻¹	80,00 kg ha ⁻¹	Média
Março	470Ca	500Ba	470Ba	540Ba	490C
Abril	540Ca	670Ba	610Ba	660Ba	620C
Mai	680Ca	720Ba	570Ba	330Ba	570C
Junho	1.200Bb	1.160Ab	1.670Aa	1.580Aa	1.400B
Julho	1.750Aa	1.510Ab	1.270Ab	2.000Aa	1.630A
Agosto	1.050Ba	50Cb	840Ba	300Bb	560C
Setembro	100Da	150Ca	60Ca	240Ba	130D
Outubro	190Da	260Ca	130Ca	200Ba	190D
Média	740a	620a	700a	730a	700

CV% 65,01

Letras maiúsculas diferem na coluna e letras minúsculas na linha ($p < 0,05$), para teste de contraste entre médias Scott-Knott.

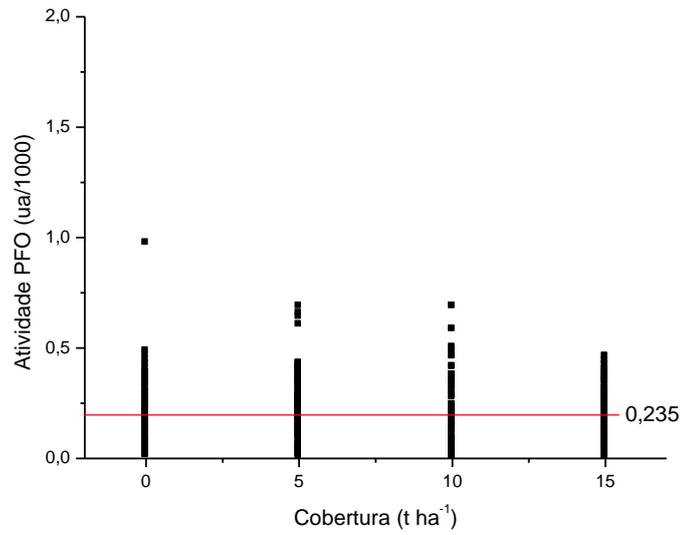


FIGURA 08. Atividades da PFO em relação a cobertura durante os meses do ensaio.

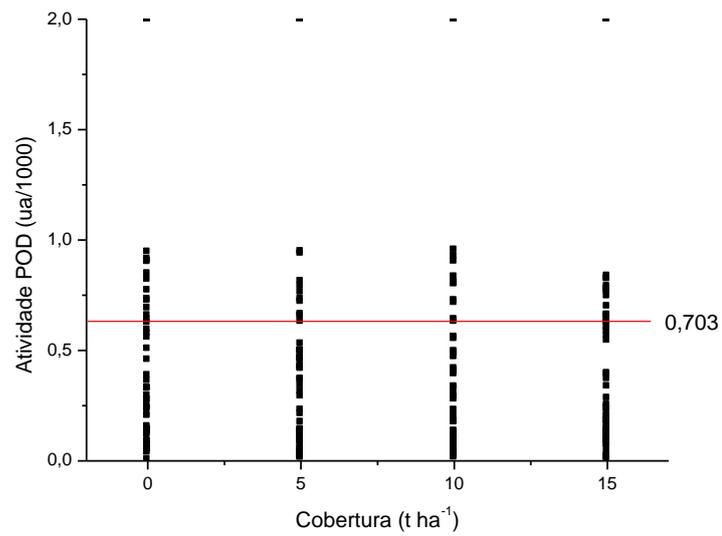


FIGURA 09. Atividades da POD em relação a cobertura durante os meses do ensaio.

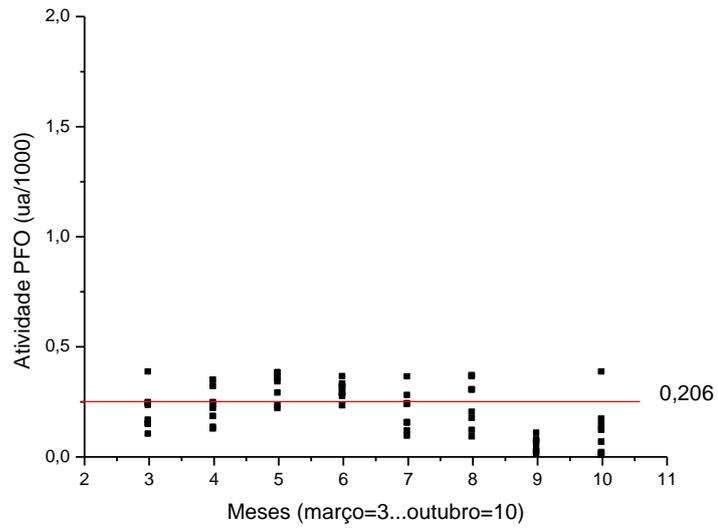


FIGURA 10. Atividades da PFO em relação a dose 0,00 kg ha⁻¹ de polímero durante os meses do ensaio.

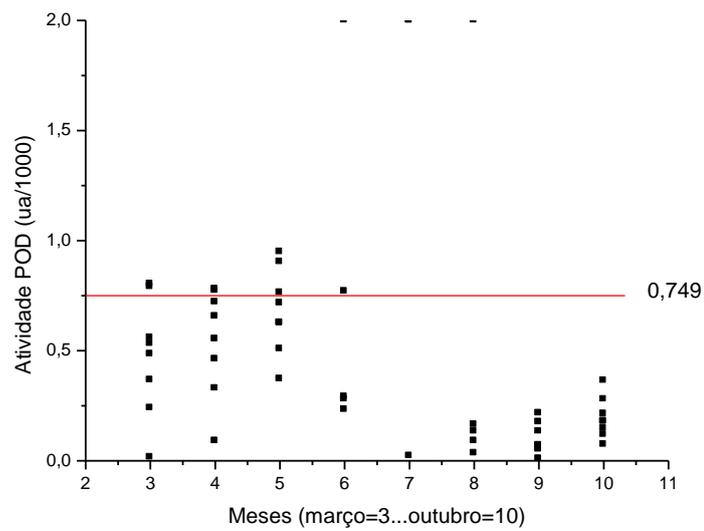


FIGURA 11. Atividades da POD em relação a dose 0,00 kg ha⁻¹ de polímero durante os meses do ensaio.

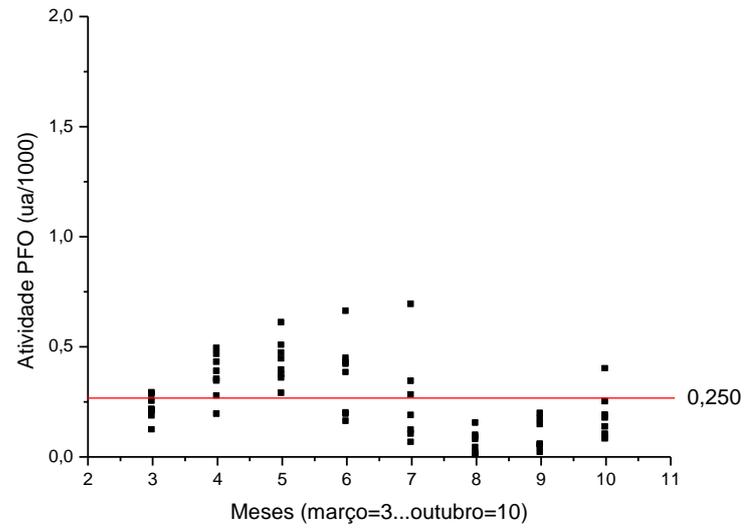


FIGURA 12. Atividades da PFO em relação a dose $26,66 \text{ kg ha}^{-1}$ de polímero durante os meses do ensaio.

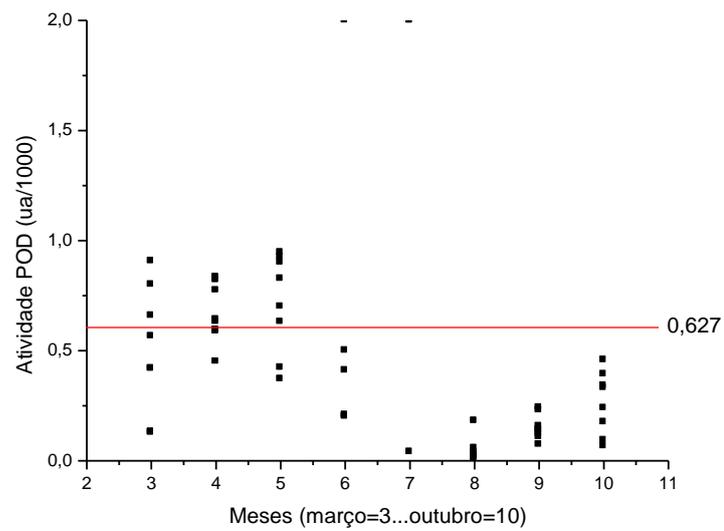


FIGURA 13. Atividades da POD em relação a dose $26,66 \text{ kg ha}^{-1}$ de polímero durante os meses do ensaio.

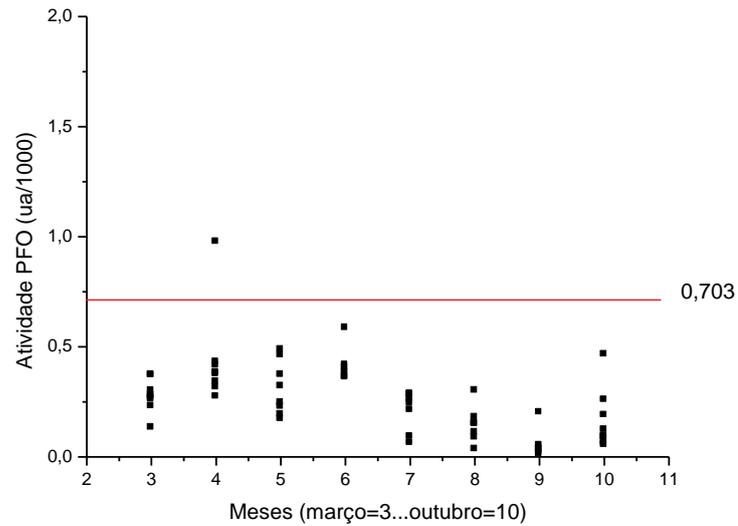


FIGURA 14. Atividades da PFO em relação a dose 53,33 kg ha⁻¹ de polímero durante os meses do ensaio.

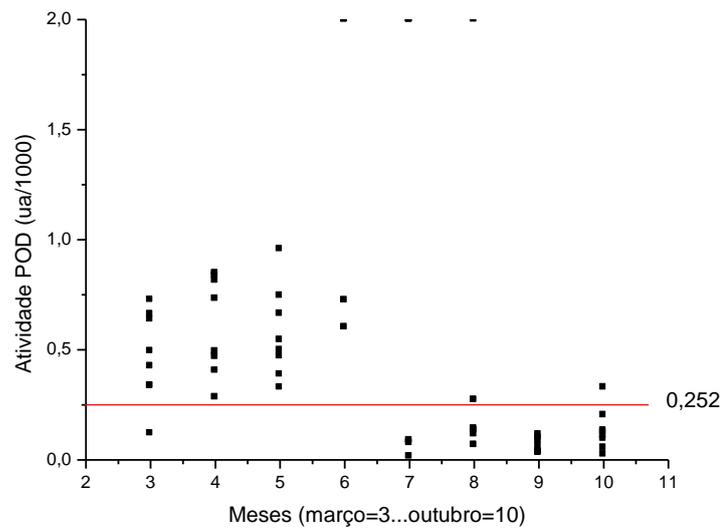


FIGURA 15. Atividades da POPD em relação a dose 53,33 kg ha⁻¹ de polímero durante os meses do ensaio.

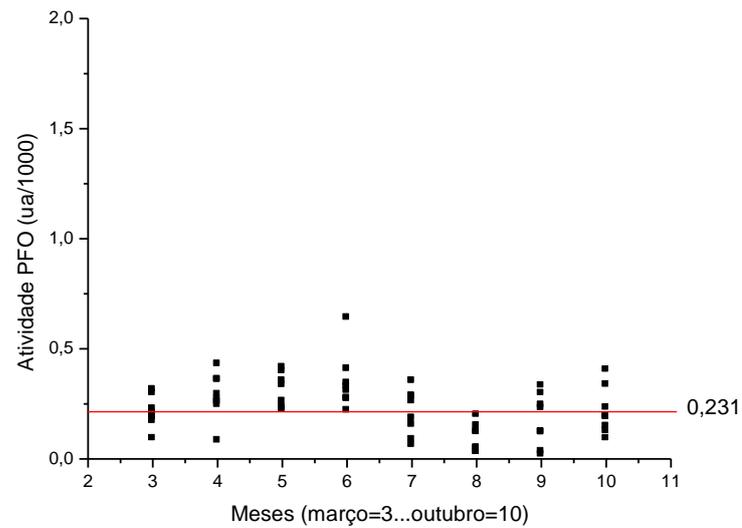


FIGURA 16. Atividades da PFO em relação a dose $80,00 \text{ kg ha}^{-1}$ de polímero durante os meses do ensaio.

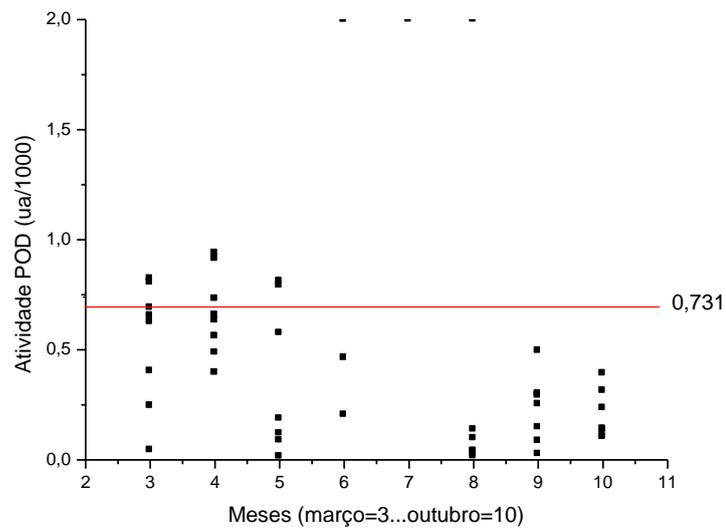


FIGURA 17. Atividades da POD em relação a dose $80,00 \text{ kg ha}^{-1}$ de polímero durante os meses do ensaio.

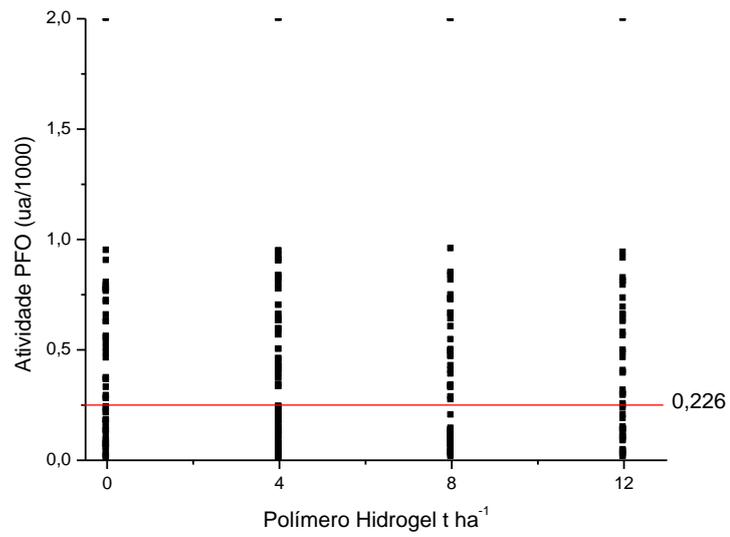


FIGURA 18. Atividades da PFO durante os meses do ensaio em relação as doses de polímero hidrogel.

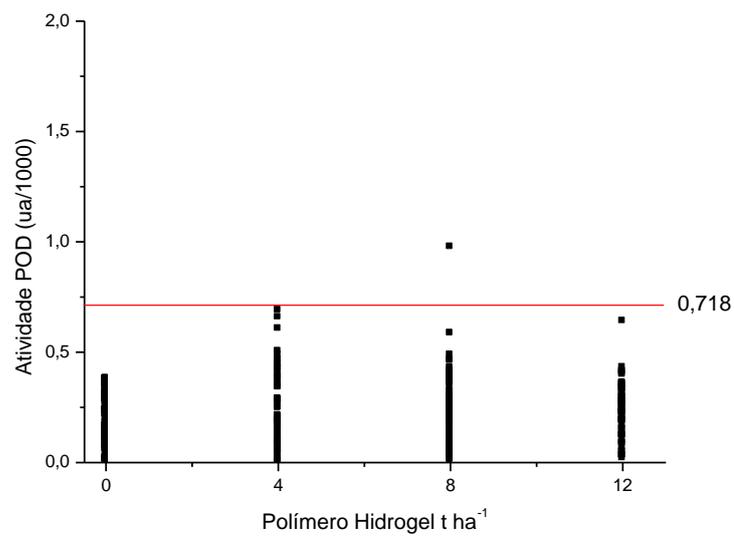


FIGURA 19. Atividades da POD durante os meses do ensaio em relação as doses de polímero hidrogel.

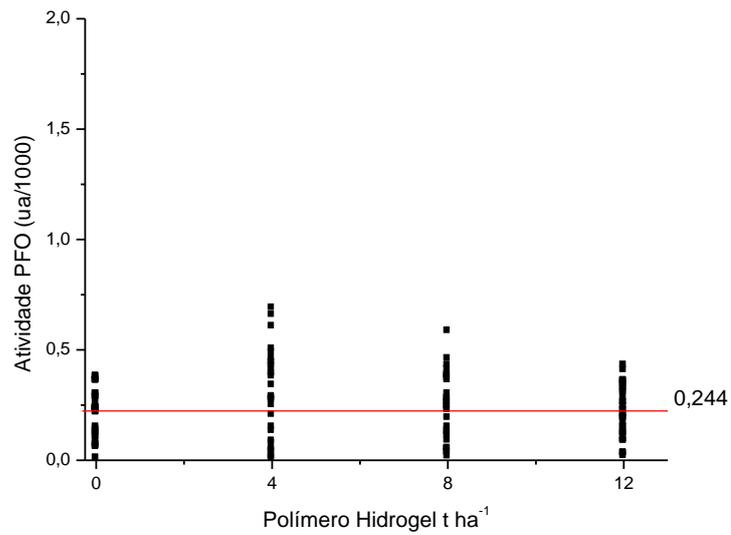


FIGURA 20. Atividades da PFO durante os meses do ensaio em relação ao sistema de plantio em leira.

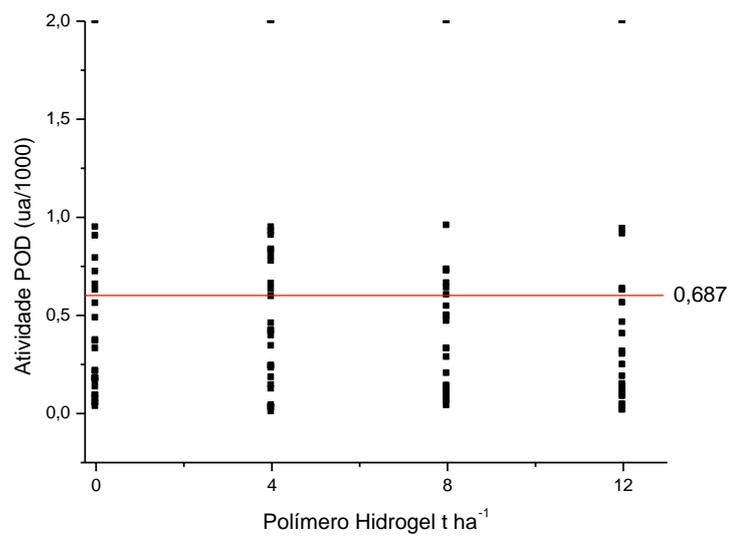


FIGURA 21. Atividades da POD durante os meses do ensaio em relação ao sistema de plantio em leira.

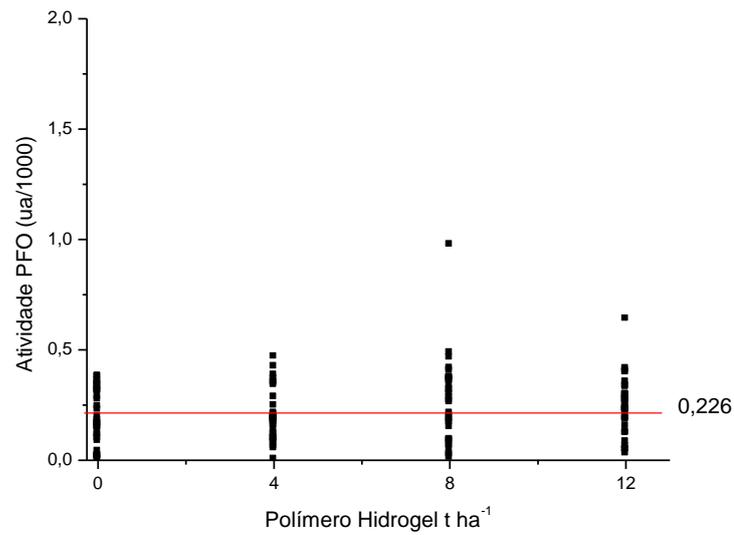


FIGURA 22. Atividades da PFO durante os meses do ensaio em relação ao sistema de plantio em sulco.

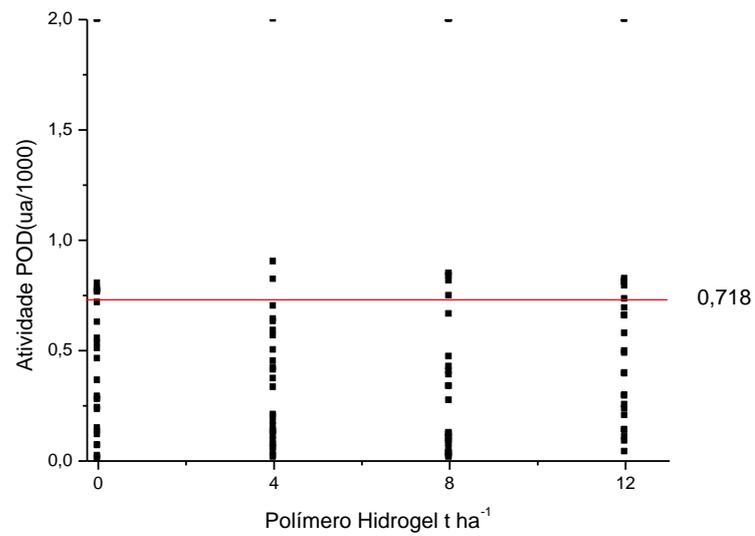


FIGURA 23. Atividades da POD durante os meses do ensaio em relação ao sistema de plantio em sulco.