

ÁCIDOS ORGÂNICOS DE CALDO DE TRÊS VARIEDADES DE
CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum* spp) EM QUATRO
ESTÁDIOS DE MATURIDADE

L.E. Gutierrez*
S.E. Ferrari**
A.A. Orelli Jr**

RESUMO: Os teores dos ácidos trans-aconítico, málico, malônico e succínico foram determinados no caldo de cana das variedades IAC 58-480, RB 73-5275 e NA 56-79, em quatro estádios de maturidade (11, 12, 13 e 14 meses). O ácido trans-aconítico constituiu cerca de 84% do total dos ácidos orgânicos seguido pelo ácido málico com 14%. Os ácidos oxálico, glutárico, alfa-cetoglutárico e cítrico foram encontrados em níveis inferiores a 1%. Os níveis dos ácidos succínico, málico e trans-aconítico diminuíram com a maturidade da planta enquanto os de malônico aumentaram. Não foram encontradas diferenças significativas entre as variedades estudadas em relação aos teores de ácido trans-aconítico.

Termos para indexação: ácidos orgânicos, ácido trans-aconítico, caldo de cana, *Saccharum*.

* Departamento de Química da E.S.A. "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo - 13.400 - Piracicaba, SP. e CEBTEC/FEALQ.

** Instituto do Açúcar e Alcool - PLANALSUCAR - 13.600 Araras, SP.

ORGANIC ACID CONTENT OF SUGARCANE JUICE AS AFFECTED BY PLANT MATURITY

ABSTRACT: Levels of trans-aconitic, malic, malonic and succinic acids were measured in sugarcane juice from three varieties in four maturity stages. Trans-aconitic acid represented about 84% of the total organic acids analysed in sugarcane juice followed by malic acid with 14%. Oxalic, glutaric, alpha-ketoglutaric and citric acids were found in levels lower than 1% of total organic acids. The content of trans-aconitic, malic and succinic acids decreased with the stage of maturity while malonic acid increased. No significant differences were observed among the varieties studied in relation to trans-aconitic acid content.

Index terms: organic acids, trans-aconitic acid, sugarcane juice, *Saccharum*.

INTRODUÇÃO

Ácidos orgânicos são encontrados em todos os órgãos das plantas podendo ser acumulados em maior quantidade dependendo do tipo do ácido e da planta. Assim na polpa da maçã acumula-se ácido málico, no suco do limão encontra-se ácido cítrico, na folha de espinafre acumula-se ácido oxálico e em hipocótilo de girassol, os ácidos fumárico e málico (RANSON, 1965).

Em muitas espécies de plantas forrageiras, o ácido trans-aconítico é o principal ácido orgânico acumulado na parte aérea (STOUT *et alii*, 1967) e em folhas de cevada, milho, aveia, sorgo e trigo predominam os ácidos málico e trans-aconítico (CLARK, 1969). GUTIERREZ & FARIA (1978) verificaram que na parte aérea de capim Elefante, predominância dos ácidos málico e cítrico,

perfazendo cerca de 60% do total de ácidos orgânicos.

O principal ácido orgânico encontrado no caldo de cana-de-açúcar é o ácido trans-aconítico (DEERR, 1921, MARTIN, 1953; RANSON, 1965; SPENCER & MEADE, 1967).

Diversos fatores podem interferir com a quantidade dos ácidos orgânicos em vegetais. Assim a proporção dos ácidos foi afetada pela deficiência de elementos minerais (CLARK, 1968). A maturidade de cana-de-açúcar provocou redução no teor de ácido trans-aconítico (CLARKE & BRANNAN, 1983) enquanto que a fertilização potássica provocou aumento na concentração do ácido trans-aconítico no caldo de cana (CASANOVAS & ARMAS, 1983).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de comparar três variedades de cana-de-açúcar em quatro estádios de maturidade em relação aos ácidos orgânicos do caldo.

MATERIAL E MÉTODOS

Caldo de Cana: amostras de colmos de cana-de-açúcar, cana-planta, das variedades IAC 58-480, RB 73-5275 e NA 56-79 foram obtidas de plantas cultivadas na Estação Experimental do Planalsucar (Araras). O tipo do solo descrito em SILVEIRA (1985) e a adubação conforme ZAMBELLO Jr & AZEVEDO (1983). A amostragem foi realizada de maneira a cortar um metro linear de colmos de cana, ao acaso dentro do talhão de cada variedade, o que resultava de 18 a 20 colmos por repetição. Foram feitas cinco repetições dentro de cada variedade. Após a trituração dos colmos em desfibradeira, o caldo foi extraído por prensagem. As amostragens foram feitas aos 11, 12, 13 e 14 meses de idade, nas datas de 30/01/84, 27/03/84 e 30/04/84. O caldo foi congelado a -20°C até o momento das análises.

Açúcares redutores: (AR) e açúcares redutores totais (ART): foram determinados pelo método de Somogy-Nelson conforme descrito por AMORIM *et alii* (1982).

Ácidos orgânicos: volume conhecido de caldo de cana foi transferido para coluna de vidro contendo 5cm³ de resina AG 1-X8 (200 mesh) na forma formiato. Após a lavagem com água desmineralizada, os ácidos foram eluídos com 10ml de soluções de ácido fórmico a 20 e 80%. O resíduo contendo os ácidos orgânicos foi esterificado com solução de cloroformio-metanol-ácido sulfúrico segundo ROUGHAN & SLACK (1973) a temperatura de 55°C durante 60 min. (RUMSEY *et alii*, 1964). Padrões de ácidos puros foram utilizados nas mesmas condições da amostra para a identificação e quantificação dos ácidos orgânicos. Os ésteres metílicos dos ácidos orgânicos foram quantificados por cromatografia em fase gasosa (Cromatógrafo CG-17, com detetor de ionização de chama) com coluna metálica de 2m de comprimento por 0,5cm de diâmetro interno, contendo dietileno glicol succinato (DEGS) a 18% sobre o cromosorb P segundo SILVA (1971), a temperatura de 190°C e 50ml/min de nitrogênio como gás de arraste.

Análise estatística: Foi utilizado o delineamento de parcelas subdivididas, com três tratamentos, 4 estádios de maturidade e 5 repetições, segundo PIMENTEL GOMES (1985). Para a análise de variância foi utilizado o teste F e para contrastes entre médias o teste Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 podem ser observados os dados de Brix, açúcares redutores (AR) e açúcares redutores totais (ART) das amostras de caldo de cana utilizadas nas análises dos ácidos orgânicos. Esses dados não foram analisados estatisticamente e são apresentados neste trabalho com o objetivo de caracterizar as amostras de caldo. Em todas as amostragens realizadas, a variedade NA 56-79 apresentou os teores mais elevados de ART e os menores em AR.

Tabela 1. Brix volume, AR e ART de caldo de três variedades de cana-de-açúcar em quatro estádios de maturidade

Variedade	Maturidade meses	Brix	g/100ml	
			ART	AR
IAC	11	12,53	11,93	2,91
	12	15,13	14,49	2,52
	13	16,67	17,16	2,59
	14	18,20	17,87	1,81
RB	11	11,27	10,05	3,15
	12	14,10	13,59	3,07
	13	14,16	14,02	2,51
	14	17,50	18,09	1,74
NA	11	15,90	15,57	2,14
	12	18,60	18,18	2,19
	13	20,31	21,02	1,83
	14	20,98	19,41	0,71

Como pode ser observado na Tabela 2, os teores de ácido malônico durante os três primeiros estádios de maturidade (11, 12 e 13 meses) não diferiram significativamente entre as variedades dentro de cada estádio. Aos 14 meses, o teor de ácido malônico foi maior nas três variedades estudadas, fato que coincide com a elevação de ART do caldo de cana.

Segundo RANSON (1965) o ácido malônico pode ser encontrado em algumas espécies vegetais tais como cevada e alfafa, não citando a sua presença no caldo de cana-de-açúcar. O ácido malônico é inibidor competitivo da desidrogenase succínica (LEHNINGER, 1986) e assim poderia prejudicar a atividade de leveduras durante o processo fermentativo ou de crescimento.

Tabela 2. Ácido malônico de caldo de três variedades de cana-de-açúcar em quatro estádios de maturidade. Expresso em mg/100ml de caldo.

Variedades	11	12	13	14
IAC	0,33abA	0,34abA	0,30ba	0,50aC
RB	0,38bA	0,44bA	0,40ba	0,65aB
NA	0,43bA	0,44bA	0,43ba	0,79aA

a,b: nas colunas, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, a $p < 0,05$.

A,B: nas linhas, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si a $p < 0,05$.

C.V. (variedades) = 18,38%

C.V. (estádios) = 21,02%

Os teores de ácido succínico (Tabela 3) foram bastante afetados pela maturidade da planta. Provavelmente devido ao metabolismo mais intenso desse ácido como componente do ciclo de Krebs (LEHNINGER, 1986). Observou-se uma tendência para a redução em função da maturidade. No caso do ácido malônico foi observado fenômeno inverso (Tabela 2).

O ácido succínico foi identificado e quantificado em cevada, girassol e cana-de-açúcar (RANSON, 1965), sendo componente normal do caldo de cana (MARTIN, 1953).

O ácido málico (Tabela 4) foi detectado em maior quantidade do que os ácidos malônico e succínico, provavelmente devido ao fato da cana-de-açúcar ser uma planta C-4 (MAGALHÃES, 1985). Os dados da Tabela 4 mostram que os teores de ácido málico tendem a diminuir com a maturidade. O ácido málico tem uma distribuição bem ampla entre as plantas (RANSON, 1965).

Tabela 3. Ácido succínico de caldo de três variedades de cana-de-açúcar em quatro estádios de maturidade. Expresso em mg/100mℓ de caldo

Variedades	Estádios de maturidade (meses)			
	11	12	13	14
IAC	1,32aA	0,64bcA	1,18abA	0,54cA
RB	1,25aA	0,71abA	1,16aA	0,49bA
NA	1,33aA	0,69bA	0,51bB	0,74bA

a,b,c: nas colunas, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si a $p < 0,05$.

A,B: nas linhas, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si a $p < 0,05$.

C.V. (variedades) = 37,81%

C.V. (estádios) = 33,97%

Tabela 4. Ácido málico de caldo de três variedades de cana-de-açúcar em quatro estádios de maturidade. Expresso em mg/100mℓ de caldo

Variedades	Estádios de maturidade (meses)			
	11	12	13	14
IAC	17,33aB	15,59aAB	12,86aB	14,10aA
RB	23,23aB	18,74abA	19,65aA	12,40bA
NA	18,44aAB	11,18bB	13,10abB	16,90abA

a,b: nas colunas, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, a $p < 0,05$

A,B: nas linhas, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, a $p < 0,05$

C.V. (variedades) = 19,28%

C.V. (estádios) = 22,14%

Na Tabela 5 podemos observar os resultados dos teores de ácido trans-aconítico de caldo de cana. Não foram detectadas diferenças significativas entre as variedades nos quatro estádios de maturidade. Com o aumento da maturidade há uma tendência para a redução nos teores do ácido confirmando observações realizadas por CLARKE & BRANNAN (1983). Não foi encontrada explicação para a elevação do teor de trans-aconítico aos 12 meses de idade.

A redução do nível dos ácidos orgânicos do caldo de cana é benéfica do ponto de vista industrial pois reduz o poder tampão facilitando o processo de clarificação.

O ácido trans-aconítico correspondeu a aproximadamente 84% do total de ácidos orgânicos seguido pelo ácido málico com 14%. Os demais ácidos contribuíram com percentagens inferiores a 1% (Tabela 6).

Tabela 5. Ácido trans-aconítico de caldo de três variedades de cana-de-açúcar em quatro estádios de maturidade. Expresso em mg/100ml

Variedades	Estádios de maturidade (meses)			
	11	12	13	14
IAC	78,58bA	195,14aA	36,37bA	39,73bA
RB	113,44aA	129,67aA	59,38aA	43,30aA
NA	135,69abA	152,43aA	57,24bA	96,90abA

a,b: nas colunas, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, $p < 0,05$.

A: nas linhas, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, $p < 0,05$.

C.V. (variedades) = 35,37%

C.V. (estádios) = 47,83%

Tabela 6. Composição em ácidos orgânicos de caldo de cana (médias das três variedades)

Ácidos orgânicos	mg/100ml de caldo
Trans-aconítico	94,82
Málico	16,12
Succínico	0,88
Malônico	0,45
Oxálico	<0,10
Alfa-cetoglutárico	<0,10
Glutárico	<0,10
Cítrico	<0,10
X ₁	<0,10
X ₂	<0,10

X₁ e X₂: ácidos não identificados

A maior proporção do ácido trans-aconítico encontra-se no presente trabalho, com as variedades IAC 54-480, RB 73-5275 e NA 56-79, confirmam observações feitas por DEERR (1921), MARTIN (1953), RANSON (1965), SPENCER & MEADE (1967) para caldo de cana e de MEHLTRETTER & OTTEN (1971) para melão de cana-de-açúcar.

CONCLUSÕES

Em função dos resultados apresentados as seguintes observações podem ser relacionadas:

1. O ácido trans-aconítico foi encontrado em maior proporção dos ácidos orgânicos detectados nas três variedades e nos quatro estádios de maturidade.

2. Os ácidos trans-aconítico, málico e succínico apresentaram redução nos teores em função da maturidade da planta.

3. Foram detectados os ácidos trans-aconítico,

málico, succínico, malônico, oxálico, alfa-cetoglutárico e glutárico

AGRADECIMENTOS

À Fermentec-Assessoria em Fermentação Alcoólica pelos recursos fornecidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, H.V.; OLIVEIRA, A.J.; ZAGO, E.A. *Novos métodos para o controle da fermentação alcoólica*. São Paulo, Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1982. 58p.
- CASANOVAS, H. & HARMAS, R. Influence of potassium upon mineral and aconitic acid content of sugarcane juice. *In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS*, 18, Havana, 1983. *Proceedings*. Havana, 1983. p.639-57.
- CLARK, R.B. Organic acids from leaves of several crop plants by gas chromatography. *Crop Science*, Madison, 9:341-3, 1969.
- CLARK, R.B. Organic acids and mineral cations of corn plant parts with age. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, New York, 7:585-600, 1976.
- CLARKE, M.A. & BRANNAN, M.A. Rapid analyses of lactic acid, an indicator of sugarcane deterioration, and aconitic acid, an indicator of sugarcane maturity, by high performance liquid chromatography. *Journal of the American Society of Sugar Cane Technologists*, Florida, 2:88, 1983.
- DEERR, N. *Cane sugar*. 2.ed. London, Norman Rodger, 1921. 644p.
- GUTIERREZ, L.E. & FARIA, V.P. Influência da intensidade do murchamento sobre o poder tampão, proteínas e ácidos orgânicos do capim Elefante (*Pennisetum*

- purpureum* Schum). *O Solo*, Piracicaba, 70:48-52, 1978.
- LEHNINGER, A. *Princípios de Bioquímica*. São Paulo, Sarvier, 1986.
- MACALHÃES, A.C.N. Fotossíntese. In: FERRI, M.G. *Fisiologia Vegetal*. São Paulo, EPU, 1985. v.1.
- MARTIN, L.F. The non-nitrogenous organic acids of sugarcane. In: HONIG, P. *Principles of Sugar Technology*. Amsterdam, Elsevier, 1953. cap.4.
- MEHLTRETTER, C.L. & OTTEN; J.J. Aconitic acid determination by gas-liquid chromatography. *International Sugar Journal*, London, 73:235-7, 1971.
- PIMENTEL GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. 11.ed. Piracicaba, Nobel, 1985. 466p.
- RANSON, S.L. Plant acids. In: PRIDHAM, J.B. & SWAIN, T. *Biosynthetic pathways in higher plants*. London, Academic Press, 1965. 222p.
- ROUGHAN, P.G. & SLACK, C.P. Simple methods for routine screening and quantitative estimation of oxalate content of tropical grasses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, 24:803-11, 1973.
- RUMSEY, T.S.; NOLLER, C.H.; BURNS, J.C.; KALB, D.; RHYKERD, C.L.; HILL, D.L. Gas chromatographic resolution of pyruvic, lactic, glyoxylic, oxalic, malonic, fumaric, amlic, alphaketoglutaric and citric acids in forage and rumen fluid. *Journal of Dairy Science*, Lancaster, 47:1418-20, 1964.
- SILVA, E.M. Analysis of Krebs cycle and related acids in Guinea pig tissues by gas-liquid chromatography. *Analytical Chemistry*, Washington, 43:1030-5, 1971.
- SILVEIRA, J.A.G. Interações entre assimilação do nitrogênio e o crescimento de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) cultivada em condições de campo. Piracicaba, 1985. 152p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

- SPENCER, L.S. & MEADE, G.P. *Manual del azucar de cana*. Barcelona, Montaner y Simon, 1967. 946p.
- STOUT, P.R.; BROWNELL, J.; BURAU, P.G. Occurrences of trans-aconitate in range forage species. *Agronomy Journal*, Madison, 59:21-4, 1967.
- ZAMBELLO JUNIOR, E. & AZEREDO, D.F. Adubação na região centro-sul. In: ORLANDO, J., coord. *Nutrição e adubação da cana-de-açúcar*. Piracicaba, Instituto do Açúcar e Alcool, 1983. 369p.

Recebido para publicação em: 01/07/88

Aprovado para publicação em: 29/05/89