

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FRAÇÕES NITROGENADAS EM CALDOS DE DIFERENTES
CULTIVARES DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Joana Diniz Rosa da Silva
Engenheira Agrônoma

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Julho de 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**FRAÇÕES NITROGENADAS EM CALDO DE DIFERENTES
CULTIVARES DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Joana Diniz Rosa da Silva

Orientador: Prof. Dr. Marcos Omir Marques

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Julho de 2011

Silva, Joana Diniz Rosa
S586f Frações de nitrogênio em caldos de diferentes cultivares de cana-de-açúcar / Joana Diniz Rosa da Silva. -- Jaboticabal, 2011
x, 41 f.: il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011
Orientador: Marcos Omir Marques
Banca examinadora: José Fernando Durigan, Ricardo da Silva Sercheli

Bibliografia

1. Nitrogênio amoniacal. 2. Nitrogênio amínico. 3. *Saccharum* spp. 4. Variedades de cana. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 633.61

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Joana Diniz Rosa da Silva – nascida em 08 de outubro de 1978 em São Joaquim da Barra, cursou o ensino fundamental em Pedregulho e o médio em São Joaquim da Barra, Estado de São Paulo. Em agosto de 2001 ingressou no curso de Engenharia Agrônoma da FACULDADE DOUTOR FRANCISCO MAEDA - FAFRAM, campus de Ituverava. Durante o curso desenvolveu trabalhos voltados à área de Conservação Pós Colheita de Frutas e Hortaliças. Em 2005 obteve o título de Engenheira Agrônoma. No ano de 2008 obteve o título de Especialista em Agronegócio e Desenvolvimento Sustentável pela mesma faculdade. Em agosto de 2009 ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) pela UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, campus de Jaboticabal. Durante o curso foi bolsista da CAPES e desenvolveu pesquisas referentes à cultura da cana-de-açúcar, abordando temas relacionados à qualidade da matéria prima e comparação agroindustrial entre cultivares de cana. No dia 26 de julho de 2011 obteve a aprovação da banca examinadora na defesa de sua dissertação de mestrado.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais João Alberto Rosa da Silva e Sônia Maria Diniz Rosa da Silva, por incentivarem e valorizarem a minha formação acadêmica, pela confiança e principalmente pelos ensinamentos dos valores de vida, amor e respeito.

Aos meus irmãos André e Joãozinho, meus eternos companheiros e amigos, por completarem a minha vida com muito amor, respeito e união.

À minha avó Anita por todo amor, afeto e orações.

Ao meu namorado Nelson Henriques Fernandes Filho por iluminar a minha vida e por estar sempre me incentivando.

Aos meus sogros Nelson e Maria José pela atenção e carinho.

Aos meus familiares pelo apoio e carinho.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Jesus Cristo pelo dom da vida, saúde, força e sabedoria para seguir meu caminho.

Ao meu orientador Professor Dr. Marcos Omir Marques pela oportunidade das atividades desenvolvidas.

Ao Dr. Luiz Carlos Tasso Júnior pelo profissionalismo durante o curso.

Ao colega doutorando Hélio Francisco da Silva Neto pela contribuição profissional e companheirismo nas atividades desenvolvidas.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de estudo no decorrer do curso.

Aos professores doutores membros da banca do exame geral de qualificação Sandra Helena Uneda Trevisoli e Ben-Hur Mattiuz pelas sugestões e contribuição para a conclusão desta primeira etapa do trabalho.

Aos professores doutores membros da banca José Fernando Durigan e Ricardo da Silva Sercheli pela disponibilidade em contribuir com suas valiosas sugestões.

Ao Professor Dr. Arthur Bernardes Cecílio Filho pela atenção e prontidão nos esclarecimentos das dúvidas.

Ao Professor Dr. Pedro Luis da Costa Aguiar Alves pelas orientações e atenção.

Ao professor Dr. José Carlos Barbosa pela disponibilidade em auxiliar nas análises estatísticas deste e dos demais trabalhos desenvolvidos.

Aos professores doutores da UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-UNESP, pela transmissão dos ensinamentos e enriquecimento da minha formação profissional.

À equipe do Laboratório de Tecnologia do Açúcar e Etanol, estagiários da UNESP e FATEC, em especial a Olívia e o técnico Wlade pela amizade e ajuda incondicional para a realização das análises.

Aos meus amigos pelo companheirismo a apoio.

Ao funcionário José Carlos pelos ensinamentos na condução das análises.

Às secretárias do departamento de Tecnologia Elisabete e Renata e à funcionária Andréa pela habitual atenção.

Às bibliotecárias Tieko e Márcia pelas sugestões.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iv
SUMMARY.....	v
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1. Programas de Melhoramento Genético.....	2
2.2. Nitrogênio no caldo de cana-de-açúcar.....	3
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1. Caracterização da área experimental.....	9
3.2. Clima.....	9
3.3. Solo.....	9
3.4. Plantio.....	10
3.6. Cultivares.....	10
3.6.1. Ciclo Precoce.....	10
3.6.2. Ciclo Médio.....	11
3.6.3. Ciclo Tardio.....	11
3.7. Procedimentos Laboratoriais.....	12
3.8. Delineamento Experimental.....	15
3.9. Croqui do Experimento.....	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	17
4.1. Cultivares com Ciclo Precoce.....	17
4.2. Cultivares com Ciclo Médio.....	21
4.3. Cultivares com Ciclo Tardio.....	24
5. CONCLUSÕES.....	28
6. IMPLICAÇÕES.....	29
6. REFERÊNCIAS.....	30
APÊNDICE.....	32

FRAÇÕES NITROGENADAS EM CALDOS DE DIFERENTES CULTIVARES DE CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO - A caracterização e quantificação das frações nitrogenadas presentes no caldo de diferentes cultivares de cana-de-açúcar pode facilitar a identificação da principal aptidão industrial da mesma para a produção de açúcar (baixos teores de nitrogênio), ou de etanol e cachaça (altos teores de nitrogênio). A hipótese deste trabalho é que diferentes cultivares precoces, médios e tardios possam produzir caldos com diferentes teores de nitrogênio e, portanto serem utilizados com maior desempenho nos processos de fermentação ou na produção de açúcar. Este trabalho tem como objetivo quantificar as frações nitrogenadas (amoniacal, protéica, total, não-protéica e amínica) em caldos de dezoito cultivares de cana-de-açúcar em soqueiras de segundo corte. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com parcelas subdivididas e três repetições. Foram avaliados dezoito cultivares com três ciclos de maturação, em 5 épocas (0, 28, 69, 112 e 154 dias) durante o ano agrícola 2010/2011. No destilado, obtido a partir do caldo procedeu-se a determinação do nitrogênio amoniacal de acordo com o método de micro-Kjeldahl. Os teores de nitrogênio total e nitrogênio não-protéico, determinado em caldo desproteínizado com hidróxido de bário a 0,3N e sulfato de zinco a 5%, também foram determinados pelo método de micro-Kjeldahl. Os teores de nitrogênio protéico e amínico foram estimados por meio de cálculos. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F) que quando significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. O cultivar SP91-1049 obteve os maiores valores para as frações de nitrogênio amoniacal, total e protéico, além de maiores teores na interação para as frações amoniacal, protéica e total ao longo das épocas. Os resultados indicam que os cultivares estudados apresentaram diferença significativa nos teores das frações nitrogenadas e que as épocas de coleta possuem importância muito maior nestes teores. O cultivar com ciclo médio de maturação RB855536 apresentou, elevado teor da fração amoniacal ao longo das épocas mostrando viabilidade de assimilação pelas leveduras. O cultivar tardio IACSP94-2101 apresentou os maiores teores das frações nitrogenadas.

Palavras-chave: nitrogênio amoniacal, nitrogênio amínico, *Saccharum* spp, variedades de cana

NITROGEN FRACTIONS IN JUICE DIFFERENT CULTIVARS OF SUGAR CANE

SUMMARY- The characterization and quantification of nitrogen fractions present in the juice of different varieties of sugar cane can help identify the main industry of the same ability to produce sugar (low levels of nitrogen), or ethanol and cachaça (high levels of nitrogen). The hypothesis is that different early cultivars, middle and late to produce stocks with different levels of nitrogen and therefore be used with higher performance in fermentation processes or the production of sugar. This study aims to quantify the nitrogen fractions (ammonium, protein, total non-protein and amine) in broths eighteen cultivars of sugar cane stumps on the second cut. The experimental design was completely randomized design with subdivided plots and three replications. Eighteen cultivars were evaluated with three cycles of maturation in 5 times (0, 28, 69, 112 and 154 days) during the 2010/2011 agricultural year. The distillate obtained from the broth made the determination of ammonia according to the micro-Kjeldahl method. The levels of total nitrogen and non-protein nitrogen determined in broth deproteinized with barium hydroxide and 0.3 N zinc sulfate 5%, were also determined by micro-Kjeldahl method. The levels of protein and amino nitrogen were estimated by calculations. The results were submitted to analysis of variance (F test) when significant, means were compared by Tukey test at 5% probability. The cultivar SP91-1049 achieved the highest values for the fractions of ammonia nitrogen, total protein and, in addition to higher levels in the interaction for the fractions ammonia, and total protein through the ages. The results indicate that the cultivars studied showed significant differences in levels of nitrogen fractions and the collection times are much greater importance in these levels. The cultivar with a mean cycle of maturation RB855536 presented high content of ammonia fraction over the ages showing viability of assimilation by the yeast. The cultivar IACSP94 late-2101 showed the highest levels of nitrogen fractions.

Keywords: ammonia, amino nitrogen, *Saccharum* spp; sugarcane varieties

1 INTRODUÇÃO

A expansão do cultivo da cana-de-açúcar nos últimos anos para a industrialização de açúcar, etanol e cachaça no Brasil tem sido relevante no mercado nacional e internacional. Dentre alguns fatores importantes para o melhor desempenho do processo está o melhoramento genético, a adaptação dos cultivares ao ambiente de produção e o potencial produtivo.

O conhecimento das características da cana-de-açúcar para a sua industrialização é primordial para a obtenção de produtos com qualidade. O teor de sacarose, o rendimento industrial, a produtividade e os nutrientes disponíveis no caldo da cana são algumas destas características. Dentre os nutrientes, o nitrogênio é essencial para o processo de produção via fermentativa, etanol ou cachaça.

O nitrogênio no caldo de cana-de-açúcar se apresenta sob diferentes formas e possui variações entre os diversos cultivares, por isso a relevância em caracterizar e quantificar estas frações no caldo de diferentes cultivares de cana-de-açúcar, para identificar a maior aptidão industrial dos mesmos, seja para a produção de açúcar (baixos teores de nitrogênio), etanol ou cachaça (altos teores de nitrogênio).

A hipótese deste trabalho é que diferentes cultivares com ciclos precoces, médios e tardios de cana-de-açúcar podem produzir caldos com diferentes teores de nitrogênio e, portanto serem utilizados com maior aproveitamento nos processos de fermentação ou na produção de açúcar. Este trabalho tem como objetivo quantificar as frações de nitrogênio (amoniaco, protéico, total, não-protéico e amínico) em caldos de dezoito cultivares de cana-de-açúcar ao longo da safra 2010/2011 em soqueiras de segundo corte.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Programas de melhoramento genético

A melhoria das características dos genótipos através dos programas de melhoramento genético podem resultar em cultivares de cana-de-açúcar capazes de expressar alta produtividade, melhor qualidade industrial, alta adaptação, boa resistência para as principais pragas e doenças e tolerância a fatores adversos. (NÓBREGA & DORNELAS, 2006)

Dentre as características que podem ser controláveis pelo homem e que afetam a composição da matéria-prima LIMA et al. (2001) ressaltaram a variedade, a idade, o ciclo de maturação, a sanidade, o armazenamento, a colheita, o transporte e a industrialização.

Mesmo sabendo-se que as pesquisas brasileiras, quanto aos programas de melhoramento da cana-de-açúcar, possuem reconhecimento mundial para obtenção de variedades melhoradas visando atender à produção de açúcar e etanol, isto não ocorre especificamente para a produção de cachaça. São considerados como pontos importantes para a produção de cachaça os ciclos de maturação, que atendam todo o período de safra e características agrônômicas industriais que melhor se adaptem ao processo de produção (MACÊDO et al., 2009).

ANDRADE et al. (2002) relatam que para a produção de cachaça artesanal, é feita uma seleção entre as variedades existentes para a produção de açúcar e etanol. O cultivo destas variedades levará ao equilíbrio de qualidades e defeitos numa determinada condição edafoclimática. Ainda destacam como principais características para a produção de cachaça artesanal o alto teor de sacarose, o teor médio de fibras (11 a 12%), a boa adaptação a diferentes tipos de solo e clima, a ausência de joçal e o longo período de utilização industrial, dentre os já citados.

Os cultivares comerciais apresentam características de composição química e tecnológica variáveis dentro de certos limites, conforme descrevem MARQUES et al. (2001), com 8,0-18% de fibra (celulose, lignina e pentosanas), e de caldo 86-92%, com

75-82% de água, e 18-25% de sólidos solúveis, divididos em 15,5-27,0% de açúcares, 12-18% de sacarose, 0,2-1,0% de glicose e 0-0,5% de frutose e 1,0-2,5% de não açúcares ou impurezas orgânicas (0,8-1,8%) composta por aminoácidos, ácidos, ceras, corantes e gorduras e inorgânicas (0,2-0,7%) composta por SiO, K₂O, P₂O₅, CaO, MgO, N₂O, Fe₂O₂ e SO₂.

Os caldos de cana obtidos pela moagem de variedades comerciais apresentam composição variável entre 78% e 86% de água, 10% e 20% de sacarose, 0,1% e 2,0% de açúcares redutores, 0,3% e 0,5% de cinzas e de 0,5% e 1,0% de compostos nitrogenados (LIMA et al., 2001).

Quanto à definição da época da safra, MARQUES et al. (2001) classificam conforme o período de duração para o corte, de acordo com os teores mínimos de sacarose a serem industrializados, levando-se em consideração o ciclo de 220 dias para a safra, chamado de período útil de industrialização (PUI), classificado em curto (70-110 dias), médio (110-150 dias) e longo (> 150 dias).

Outra maneira de classificação dos cultivares é considerar a época de colheita, que MARGARIDO (2006) indica que quando a mesma é realizada nos meses de abril, maio e junho é definida como precoce; julho, agosto e setembro como de ciclo médio; e tardio, quando colhida em outubro e novembro.

Este autor também relata que o planejamento do canavial é de extrema importância para que seja possível manter o fornecimento constante de cana à indústria, sem ocorrer aumento no custo final da produção de açúcar e etanol, com a recomendação de se utilizar 40% de canas precoces, 30% de canas médias e 30% de canas tardias.

2.2 Nitrogênio no caldo de cana-de-açúcar

O rendimento industrial está diretamente relacionado à qualidade da matéria-prima e para que ocorra de forma economicamente viável se faz necessário compreender suas variáveis, dentre elas as frações de nitrogênio presentes no caldo da cana-de-açúcar, que possibilitará sua melhor adequação ao processo de

industrialização do açúcar, etanol ou cachaça. Neste aspecto, a seleção da variedade de cana, as melhores práticas agrícolas e a nutrição das leveduras exercem influência significativa na obtenção de ganhos produtivos.

Os compostos nitrogenados presentes no caldo de cana-de-açúcar, disponíveis entre 200 a 600 ppm de nitrogênio, compreendem amônia, peptídeos, aminoácidos (asparagina e glutamina), nucleotídeos e compostos de alto peso molecular (proteínas, glicoproteínas, poliaminas, etc). Sua composição encontra-se normalmente na faixa de 60% na forma de amônia e 40% na forma de amino-compostos (SHARMA & JOHARY, 1984).

Dentre os fatores que podem influenciar o teor e a composição dos compostos nitrogenados no caldo, pode-se destacar o cultivar, o seu ciclo de maturação, a adubação e as condições edafoclimáticas da região produtora.

A variação na composição do caldo de cana foi relatada por PAYNE (1969), que verificou que a mesma depende de vários fatores como tipo de solo, localização, época de colheita, manejo do cultivo e da variedade de cana. Ao analisar o caldo de cana da Luisiana, USA, FORT & MCKAIG (1939), encontraram variação nos teores de nitrogênio total de 0,047 a 0,400%, de nitrogênio protéico de 0,033 a 0,130% e nitrogênio não protéico 0,021 a 0,280%.

Ao examinar o caldo de cana da variedade B 37.161, WIGGINS (1969) obteve 0,018 g de N 100 mL⁻¹ de caldo, destacando que a quantidade de nitrogênio na cana-de-açúcar varia de variedade para variedade. Este autor cita que GEERLIGS (1924) encontrou variação no nitrogênio no caldo entre 0,018% e 0,062% e a distribuição do material nitrogenado no colmo se concentra no nó, como albuminóides, e no entrenó como compostos mais simples aminoácidos e amidas.

Estudando o caldo de diferentes partes do colmo, nó e entrenó, SANTOS et al. (2010) concluíram que a parte nó continha maiores valores das frações nitrogenadas, total, amoniacal, protéico e não protéico, comparadas ao entrenó.

A variação no teor de nitrogênio tem influência dominante na concentração de nitrogênio protéico no caldo de cana de todos os cultivares, sendo que houveram diferenças na concentração absoluta de nitrogênio de alguns cultivares sob elevada

oferta de nitrogênio. O stress hídrico mostrou modesta influência na elevação da concentração de nitrogênio e ocorreu uma tendência de diminuição no nitrogênio protéico, com a idade da cana, sendo que não foi feita nenhuma observação sob o ciclo de maturação dos cultivares estudados (KEATING et al., 2002).

Pesquisas com a aplicação de lodo de esgoto em diferentes doses, feitas por MARQUES et al. (2007), mostram que a fração nitrogenada do caldo do cultivar RB72454 variou de 48,96 a 66,76 mg de N 100 mL⁻¹. Ao analisarem o cultivar SP81-3250, em função da aplicação de lodo de esgoto, vinhaça e lodo de esgoto mais vinhaça, NOGUEIRA et al. (2007) encontraram variação nos teores de nitrogênio de 58,64 a 75,36 mg 100 mL⁻¹ e observaram que os maiores teores de nitrogênio no caldo foi proporcionado pelo tratamento com vinhaça complementada com nitrogênio na forma de uréia.

Os diferentes ciclos de maturação dos cultivares de cana-de-açúcar interferem na variação dos teores das frações nitrogenadas conforme relatos de SILVA et al. (2010). Os maiores valores obtidos para as frações de nitrogênio amoniacal, não protéico e total foram do cultivar com ciclo precoce SP91-1049. As análises de cultivares tardios demonstraram que o RB867515 destacou-se em relação aos demais quanto aos teores das frações amoniacal, protéica, não-protéica e total (MENDES et al., 2010). Estes autores relatam que este cultivar apresentará melhor desempenho para a produção de cachaça devido à maior suplementação de nitrogênio para a fermentação alcoólica.

As variações nas frações nitrogenadas, conforme observações de SANTOS et al. (2010), podem influenciar de maneira diferente a qualidade do caldo e sua destinação no processo de fabricação. Estes autores e DAMIÃO et al. (2010) relataram que para a produção de açúcar, o nitrogênio protéico e o amínico podem favorecer a turbidez do caldo e o escurecimento dos cristais de açúcar, devido a reações de Maillard que ocorrem entre açúcares e aminoácidos.

Segundo BASSO (2011), a produtividade industrial de etanol e cachaça pode ser limitada pela deficiência mineral, dentre elas a de nitrogênio, sendo que os níveis

ótimos de nitrogênio total na fermentação devem estar entre 300 e 350 ppm. (STUPIELLO & HORII, 1981).

As fontes de nitrogênio preferenciais para a maximização do crescimento da levedura são os íons amônio, glutamato e glutamina. Os sais de amônio fornecem comumente o nitrogênio necessário para o crescimento da levedura no mosto, porém muitos substratos de fermentação natural contêm um vasto espectro de aminoácidos e peptídeos, os quais podem também ser utilizados como fontes de nitrogênio pelas leveduras. Todas as leveduras inclusive, a *Saccharomyces cerevisiae*, utilizam eficientemente a amônia como fonte de nitrogênio por um sistema de transporte ativo, o qual não é competitivamente inibido pela assimilação de aminoácidos. O papel do íon amônia na regulação da utilização de nitrogênio pela levedura, através do controle catabólico de nitrogênio, é um fenômeno importante na nutrição das leveduras desde que ele pode servir para priorizar a assimilação dos compostos nitrogenados. (WALKER, 1998)

Em relação à utilização de nitrito e nitrato como fontes de nitrogênio, a *Saccharomyces cerevisiae* não possui a capacidade de assimilar estas duas fontes, mas a uréia possui dois sistemas ativos para sua assimilação, em *Saccharomyces cerevisiae* (WALKER, 1998).

Os aminoácidos são transportados através das membranas das células de leveduras e podem se incorporados intactos nas proteínas ou podem ser catabolizados intracelularmente para servirem como fontes de carbono e nitrogênio. O transporte de aminoácidos em *Saccharomyces cerevisiae* requer a presença de permeases dentro das células, sendo que estas enzimas são específicas para cada aminoácido ou grupo de aminoácidos. Quanto aos peptídeos (hidrolisados protéicos de origem animal, microbiana ou vegetal), os quais constituem complexas fontes, geralmente são compostos por misturas de di-, tri-, oligo- e polipeptídeos, e não são em todos os casos disponíveis para a nutrição de leveduras. A *Saccharomyces cerevisiae* possui um sistema de transporte capaz de assimilar di- e tripeptídeos sem hidrólise preliminar. Quanto aos polipeptídeos e oligopeptídeos, os mesmos não são comumente absorvidos pelas leveduras do gênero *S. cerevisiae*, pois requerem hidrólise extracelular, para

peptídeos de menor peso molecular e aminoácidos livres, através de peptidases secretadas extracelularmente, característica que não é comumente atribuída a esta levedura (WALKER, 1998).

Embora isto seja verdade para a maioria dos casos existem evidências de atividade proteolítica extracelular secretada por células vivas de *S. cerevisiae*. YOUNES et al. (2011) isolaram uma cepa de *Saccharomyces cerevisiae*, denominada de PIR1, a qual possui alta atividade proteolítica ácida contra a albumina do soro bovino e esta atividade proteolítica é capaz de manter sua atividade durante a fermentação alcoólica e é independente das fontes nitrogenadas presentes no mosto de fermentação.

Estudos conduzidos por JERONIMO et al. (2008a) sobre a suplementação de nitrogênio protéico com formas assimiláveis pela levedura como o de extrato de levedura (5g de extrato L⁻¹, que representa 3,28g de proteína L⁻¹) no mosto de fermentação, evidenciaram a influência positiva da suplementação do mosto com isolados protéicos sobre a viabilidade celular, assegurando as operações de reciclagem da levedura. Observaram ainda, uma redução no tempo total de fermentação, sendo que a adição de nitrogênio não afetou a aceitação sensorial do destilado, como também não alterou a concentração dos componentes voláteis. Isto indicou que formas assimiláveis de nitrogênio protéico podem ser úteis no melhoramento da fermentação alcoólica para a produção de cachaça.

Por sua vez, PULZATTO (2000) constatou que o nitrogênio protéico em quantidades adequadas é importante para a multiplicação celular da levedura e que baixos valores não permitem atingir altos rendimentos fermentativos.

As análises do cultivar RB72454, realizadas por JERONIMO et al. (2008b), comparando os teores de nitrogênio protéico do caldo de cana em relação ao nitrogênio total do mosto complementado com adição de isolado protéico de soja (Samprosoy 90 LH) na concentração de 3,6g L⁻¹, equivalente a 3310mg de proteína L⁻¹ resultaram em uma variação de 55 a 67%, sendo que no mosto sem complementação a variação foi de 64,96 a 109,60 mg N 100 mL⁻¹. Os autores atribuíram tais valores às diferentes épocas de coleta da cana para a condução dos ensaios. Estes autores também verificaram que o nitrogênio protéico do caldo de cana foi quase totalmente consumido, o que

representa alta assimilação deste nutriente pela levedura, e que o mesmo é insuficiente para suprir a necessidade nutricional das leveduras durante o processo fermentativo.

Contudo, as oscilações nos teores de nutrientes do caldo de cana, ao longo das épocas, são atribuídas por PINOTTI (1991) ao baixo nível de nutrientes no início da safra e que aumentando estes níveis de nutrientes no mosto, melhora a eficiência na produção de etanol e aumenta a produção de biomassa.

Este autor também relata que a utilização da levedura *S. cerevisiae* para a transformação de açúcar em etanol e sua reprodução está relacionada aos níveis de nutrientes disponíveis na matéria-prima, dentre eles, o nitrogênio, que apresenta uma resposta significativa. Nas fases de produção do etanol, no processo de decantação, há perdas expressivas deste nutriente e tais perdas chegam a 20,3% de N, tornando necessária sua complementação durante o processo fermentativo. Dentre as fontes nitrogenadas utilizadas estão a uréia e o sulfato de amônio.

A utilização de fontes nitrogenadas é variável em função da concentração inicial do mosto, pois de acordo com FRANCO (1978), mostos de mel final contêm maior concentração de nutrientes que os mostos de caldo direto que devem receber uma complementação mineral maior.

Para a obtenção dos melhores rendimentos em mosto de caldo de cana direto, segundo recomendações de LIMA et al. (2001), deve-se oferecer à levedura condições de nutrição que normalmente não se encontram em doses suficientes no caldo, com adição de superfosfato e sulfato de amônio na proporção de 1 g L⁻¹ de mosto.

A complementação nitrogenada é benéfica dentro de certas condições da matéria-prima e de condução do processo fermentativo industrial e a dose de nitrogênio que maximiza a eficiência fermentativa é de 0,11% de sulfato de amônia L⁻¹ de mosto (VASCONCELOS, 1987).

Quando necessária, a complementação do nitrogênio no processo de fermentação, deve ser realizada de maneira contínua, pois proporciona maiores valores na eficiência, produtividade e rendimento (RIBEIRO et al., 1987)

O nitrogênio é importante tanto para a multiplicação celular como para a fermentação, principalmente devido, às sínteses de proteínas e ácidos nucléicos.

Quando existe uma limitação de nitrogênio o crescimento celular diminui aumentando conseqüentemente o tempo para fermentação e diminuindo a produtividade (STUPIELLO & HORII, 1981).

O excesso de compostos nitrogenados pode resultar no incremento anormal de aminoácidos no fermento, provocando o aumento em alcoóis superiores. Recomenda-se de 0,2 a 0,5 g L⁻¹ de sulfato de amônio ou uréia no mosto para satisfazer a necessidade nutricional das leveduras (YOKOYA, 1995).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área experimental

O cultivo experimental foi conduzido na Fazenda de Ensino e Pesquisa e Produção da FCAV/UNESP, localizada no Município de Jaboticabal, Estado de São Paulo, mais especificamente na região norte do estado, a cerca de 50 km do município de Ribeirão Preto, a uma altitude média de 575 metros do nível do mar, com relevo caracterizado como suave ondulado. Sua localização geográfica é definida como: latitude 21° 15'22"S e longitude 48°18'58"WG.

3.2 Clima

O clima é do tipo tropical com inverno seco, e classificado, de acordo como o Sistema Internacional de Classificação de Köppen, como Aw. A pluviometria média anual é de 1425 mm, com concentração de chuvas no verão e seco no inverno.

3.3 Solo

A área experimental está instalada em um Latossolo-Vermelho Eutroférico, textura muito argilosa moderada, relevo suave ondulado (EMBRAPA, 1999).

Antes da instalação do experimento foi realizada a amostragem do solo para caracterização da análise química (0-25 e 25-50 cm de profundidade), utilizando-se o

percurso em zig-zag, procurando-se abranger a área como um todo (Tabela 1). De acordo com as recomendações de RAIJ et al. (1997), não foi necessário realizar a correção do solo.

Tabela 1 - Análise química do solo da área experimental em Jaboticabal-SP, 2007-2008.

	pH	P (resina)	M.O.	K	Ca	Mg	H+Al	SB	CTC	V
Amostras (cm)	CaCl ₂	Mg dm ⁻³	gdm ⁻³	-----	-----	mmol _c dm ⁻³	-----	-----	-----	%
0 – 25	5,3	56	19	3,8	37	16	31	56,8	87,8	65
25 – 50	5,3	26	15	3,5	28	12	25	43,5	68,5	54

FONTE: Departamento de solos – FCAV/UNESP

3.4 Plantio

O plantio da cana-de-açúcar ocorreu no mês de março de 2007 e o corte no dia 28 de agosto de 2008. O corte da cana, no segundo corte ocorreu no dia 05 de novembro de 2009, com posterior adubação de cobertura, realizada no dia 19 de dezembro de 2009, com a fórmula 20-05-20, totalizando 537 kg ha⁻¹.

3.5 Cultivares

Foi analisado dezoito cultivares de cana-de-açúcar com três ciclos de maturação, precoce, médio e tardio.

3.5.1 Ciclo precoce

IACSP93-3046: produtividade muito alta, época de colheita compreendida entre a segunda quinzena de maio até outubro, rústica, indicada para ambientes médios e desfavoráveis (IAC, 2011).

SP80-1842: alta produtividade agrícola, época de colheita no início da safra, alto teor de fibra (COOPERSUCAR, 1993 citado por SILVA NETO, 2010).

SP91-1049: alta produtividade, precocidade, alto teor de sacarose, médio teor de fibra, (COOPERSUCAR, 1993 citado por SILVA NETO, 2010).

CTC 7: apresenta alto teor de sacarose, recomendada para colheita no início da safra em ambientes de alto a médio potencial de produção e teor de fibra médio (CTC, 2011).

CTC 9: apresenta alto teor de sacarose, fibra média, recomendada para colheita no início de safra, em ambientes de médio a baixo potencial de produção (CTC, 2011)

CTC 16: apresenta alto teor de sacarose, alta produtividade, teor de fibra alto, recomendada para colheita na maior parte da safra, adaptação aos ambientes de médio a alto potencial de produção (CTC, 2011)

3.5.2 Ciclo médio

IAC91-1099: altíssima produtividade agrícola, baixo teor de fibra, ciclo de maturação médio (IAC, 2011).

IAC94-4004: produtividade muito alta; muito responsiva; ciclo médio/tardio; indicada para ambientes médios e favoráveis (IAC, 2011).

IAC95-5000: altíssima produtividade agrícola, atinge valores elevadíssimos de sacarose de julho a outubro, colheita no período de junho a outubro (IAC, 2011).

SP81-3250: alta produtividade agrícola, ciclo médio de maturação, alto teor de sacarose (COOPERSUCAR, 1995 citado por SILVA NETO, 2010).

CTC 15: apresenta altíssima produtividade agrícola e tolerância à seca, com excelente longevidade das soqueiras, teor de sacarose médio e alto teor de fibra, a colheita é recomendada a partir do meio da safra, nos ambientes de baixo potencial de produção (CTC, 2011).

RB855536: alto teor de sacarose e produtividade, baixo teor de fibra, alta exigência em ambientes de produção (RIDESA, 2008).

3.5.3 Ciclo tardio

IAC 94-2101: produtividade alta; muito responsiva; alta estabilidade de produção; indicada para ambientes médios e favoráveis (IAC, 2011).

RB72454: alto teor de sacarose e produtividade, médio teor de fibras, colheita no final da safra, exigência em ambientes de médio potencial de produção (RIDESA, 2008).

RB867515: alto teor de sacarose e produtividade, crescimento rápido, médio teor de fibras, colheita no final da safra, exigência em ambientes de baixo potencial de produção (RIDESA, 2008).

CTC 2: apresenta rusticidade, fibra média, recomendada para colheita do meio para o final da safra, exigência em ambientes de médio potencial de produção (CTC, 2011).

CTC 6: alta produtividade agrícola, baixo teor de fibra, recomendada para colheita do meio para o final da safra em ambientes de alto a médio potencial de produção, apresenta alto teor de sacarose (CTC, 2011).

CTC 8: ótima brotação de soqueira, recomendada para colheita no meio da safra, em ambientes de alto a médio potencial de produção, alto teor de fibra (CTC, 2011).

3.6 Procedimentos laboratoriais

O nitrogênio total foi determinado pelo método de micro-kjeldahl, segundo procedimento proposto por BAILEY (1967).

A determinação do nitrogênio amoniacal foi realizada através do método de micro-kjeldahl, descrito por MEKER & WAGNER (1933) que consta de destilação no aparelho de micro-kjeldahl, de 2 ml de amostra em pH alcalino, obtido com solução de NaOH 50% (p/v) e titulação de HCl 0,01N em presença do indicador misto de vermelho de metila e azul de metileno.

Para a determinação de nitrogênio amoniacal não há necessidade de se realizar a digestão. O caldo é adicionado diretamente no micro – destilador.

O nitrogênio não-protéico foi determinado segundo o método de micro-kjeldahl (BAILEY, 1967) com desproteinização prévia da amostra com partes iguais de solução de hidróxido de bário 0,3N e solução de sulfato de zinco 5% (VILLELA, BACILA & TASTALDI, 1973).

Procedimentos analíticos para determinação do nitrogênio total.

Uma determinação mais apurada do conteúdo de nitrogênio de uma proteína obtém-se a partir de amostras livres de lipídios e carboidratos.

Os lipídios são comparativamente mais fáceis de serem removidos através da extração com solventes orgânicos, porém carboidratos apresentam grandes problemas de separação.

Reagentes:

- Acido Sulfúrico concentrado, livre de N.
- Mistura catalisadora – preparada pela tritura, até fino pó, de 80g de K_2SO_4 ; 20g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ e 0,34g de selenito de sódio.
- Acido Bórico – solução a 2% em água destilada.
- Indicador – mistura em volumes iguais de vermelho de metila 0,2% e azul de metileno 0,1% em solução alcoólica (álcool absoluto)
- Acido Sulfúrico – em solução padronizada a 0,05N.
- Hidróxido de Sódio – em solução a 50%.

Procedimento:

Digestão:

1. Tomar uma amostra de 1 a 2 ml contendo até 1mg de N e transferir para balão Kjeldahl de 100ml.
2. Adicionar 4ml de ácido sulfúrico concentrado cuidadosamente.
3. Aquecer a mistura em um bloco digestor, em capela dotada de exaustor de ar, até que a queima seja bem visível.
4. Remover o frasco e esfriá-lo ligeiramente.
5. Adicionar então, 1g da mistura catalisadora.
6. Colocá-lo novamente no digestor, aquecendo-o durante 8 a 12 horas.
7. Resfriar então, e diluir seu conteúdo com 20 – 30ml de água destilada.

Destilação:

1. O aparelho de destilação de micro – Kjeldahl deve estar limpo, com passagem de vapor, antes de se iniciar a destilação das amostras.
2. Tomar 10 ml de solução de ácido bórico a 2% e transferi-lo a um frasco Erlenmeyer com 50 ml de capacidade.
3. Colocar o frasco junto à saída do condensado, de tal modo que o tubo de descarga fique imerso na solução de ácido bórico.
4. O conteúdo do balão do digestor de Kjeldahl é então quantitativamente transferido para a câmara de destilação do aparelho.
5. Adicionar sobre a amostra, 10 ml da solução de NaOH 50%.
6. Aquecer, proceder à destilação, coletando-se cerca de 15-20ml de destilado em 4 minutos.
7. Abaixar o frasco receptor, deixando escorrer livremente o condensado por cerca de mais um minuto.
8. Desligar o aparelho e proceder a lavagem.

Titulação:

A amônia da amostra encontra-se retida na solução de ácido bórico, sua quantificação foi feita por titulação com HCl 0,01N.

1. À solução de amônia, acrescenta-se 2 a 3 gotas de indicador.
2. Proceder-se a titulação até obter-se o ponto de viragem que é uma coloração cinza neutra.

A verificação dos reagentes e do método pode ser feita através de destilação de um "Blank" e este não pode exceder ao gasto de HCl padrão de 0,05ml.

O fator para o HCl padrão pode ser obtido pela destilação de um volume conhecido de uma solução padrão de sulfato de amônio.

Cálculos:

1ml de HCl 0,01N é equivalente a 0,14mg de N

1ml HCl 0,01N - 0,14mg N

V gasto – X

$X = V \cdot 0,14 = \text{mg N}$

$$V \cdot 0,14 \cdot 1000 = \text{mg N/l}$$

2ml Amostra	$V \cdot x$	0,14
100ml amostra	$y \text{mg/100ml}$	

$$Y = V \cdot x \quad 0,14 \times 50$$

$$Y = V \cdot x \quad 7 = \text{mg/100ml caldo}$$

As frações de N presentes são:

1. N total (NT)
2. N amoniacal (NA1)
3. N não proteico (Amínico+amoniacal) (NA2)
4. N Protéico (NP)

$$NT = NA2 + NP$$

$$NP = NT - NA2$$

NA1 = determinação através de destilação direta do material

NT = tem-se a necessidade de se fazer uma digestão sulfúrica antes da destilação.

NA2 = determinado, fazendo-se uma remoção de proteínas através de precipitação-coagulação com $ZnSO_4$ e $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$, seguida de filtração em papel comum. O material filtrado é submetido de digestão sulfúrica. No extrato obtido procede-se à determinação conforme descrito anteriormente.

Dessa forma:

$$NA2 = NT_p - NA1$$

$$NP = NT - NA1 - NA2$$

$ZnSO_4$ – 5%

$Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ ~ 0,3N

3.7 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com parcelas subdividas e três repetições. Os tratamentos principais foram os cultivares de cana-de-açúcar, divididos de acordo com o ciclo de maturação, em precoce, médio e

tardio, analisados em 5 diferentes épocas (0, 28, 69, 112 e 154 dias) ao longo da safra 2010/2011 (Tabela 1).

Tabela 1. Número de amostragens realizadas ao longo da safra 2010/2011, com sua respectiva data época das análises e estágio da cana-de-açúcar.

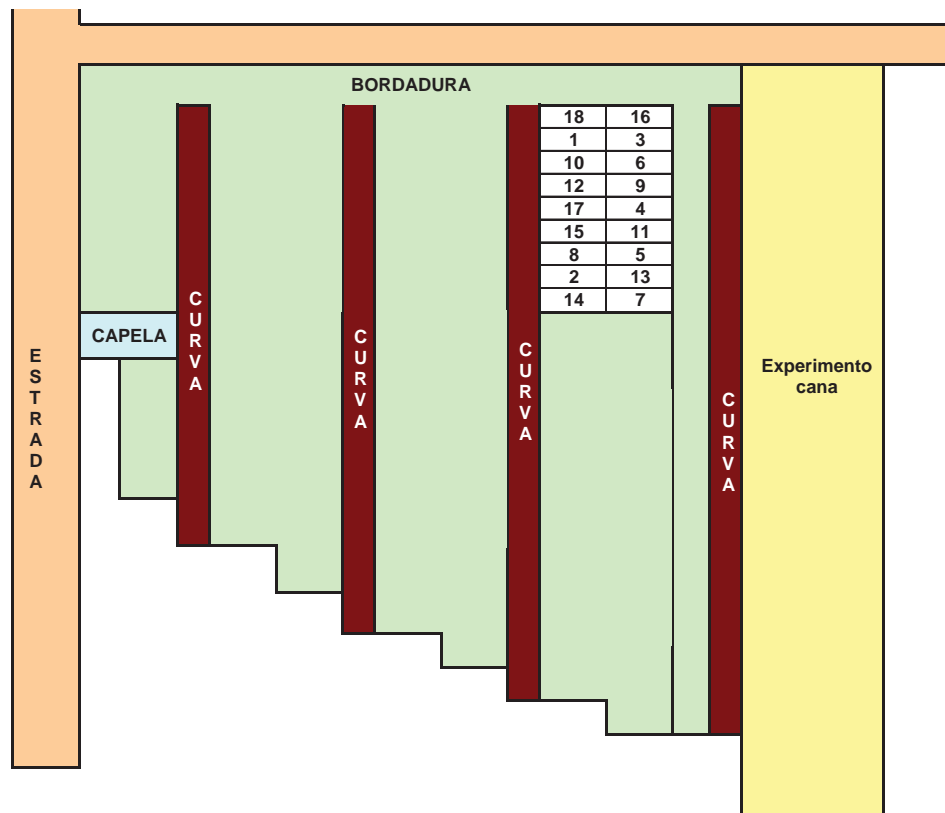
Análises	Época das Coletas (dia)	Datas	Idade da cana
1	0	23/04/2010	5 meses e 18 dias
2	28	21/05/2010	6 meses e 16 dias
3	69	01/07/2010	7 meses e 27 dias
4	112	13/08/2010	9 meses e 10 dias
5	154	24/09/2010	10 meses e 22 dias

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F). Quando houve significância pelo teste F, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fatores de Variação	Graus de liberdade
Cultivares (C)	5
Resíduos (a)	12
Parcelas	(17)
Época (E)	4
Interação CxE	20
Resíduo (b)	48
Total	89

3.8 Croqui do experimento

VARIEDADES	
1	CTC 2
2	IACSP93-3046
3	CTC 15
4	CTC 6
5	SP80-1842
6	SP91-1049
7	IAC94-2101
8	CTC 8
9	CTC 7
10	CTC 16
11	IAC91-1099
12	RB72454
13	RB867515
14	IAC94-4004
15	RB855536
16	IAC95-5000
17	CTC 9
18	SP81-3250



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Cultivares com ciclo precoce

Os resultados das frações nitrogenadas e a época de análise dos caldos dos cultivares precoces de cana-de-açúcar encontram-se na Tabela 2.

O cultivar SP80-1049 apresentou os maiores valores para as frações de nitrogênio amoniacal, total e protéico (13,98; 87,47 e 59,58 mg N 100 ml⁻¹, respectivamente), porém com valores inferiores aos encontrados por SILVA et al. (2010) para as frações amoniacal e total (26,67 e 104,33 mg N 100 ml⁻¹) ao estudar o mesmo cultivar

Quanto à avaliação das épocas de coleta, a fase inicial (época 0 e 28 dias) o teor foi mais elevado para as frações não-protéica, amínica e total. Observou-se também uma variação significativa no teor de proteína nas diferentes épocas de coleta,

concordando com JERONIMO et al. (2008)b que ao analisaram o cultivar RB72454 encontraram também variação no teor de nitrogênio, atribuindo às diferentes épocas de coleta para as análises.

Tabela 2: Valores médios¹ das frações nitrogenadas no caldo de cana soca de segundo corte dos cultivares precoces na safra 2010/2011 (Jaboticabal, SP).

Causas da Variação	Amoniacal	Não-protéico	Total	Protéico	Amínico
Cultivares (C)	(mg N 100 ml ⁻¹)				
IACSP93-3046	3,56e	16,61b	45,45e	28,84cd	13,05b
SP80-1842	9,05b	28,67a	55,02c	26,34d	19,61a
SP80-1049	13,98a	27,88a	87,47a	59,58a	13,90b
CTC 7	4,76d	16,98b	49,70d	32,71bc	12,22b
CTC 9	7,16c	29,41a	63,72b	34,30b	22,25a
CTC 16	5,53d	17,92b	51,62d	33,70b	12,39b
Teste F	399,43**	56,60**	1393,78**	216,16**	24,61**
DMS 5%	0,89	3,99	1,94	3,87	4,09
Épocas (E) (dia)					
0	6,18c	32,20 ^a	83,35a	51,15b	26,01a
28	6,10c	27,53b	85,32a	57,78a	21,42b
69	6,43c	15,08d	36,12d	21,03d	8,65c
112	8,43b	18,60c	41,87c	23,27cd	10,16c
154	9,54a	21,15c	47,48b	26,32c	11,60c
Teste F	103,41**	82,90**	1694,48**	476,73**	100,15**
DMS 5%	0,61	3,03	2,30	3,15	3,07
F para interação					
CxE	32,54**	23,52**	82,90**	39,94**	19,60**
C.V.% (parcelas)	9,97	14,20	2,70	8,79	21,44
C.V.%(subparcelas)	8,87	14,03	4,14	9,30	20,91
Média Geral	7,34	22,91	58,83	35,91	15,57

¹Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

** significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa. CV – coeficiente de variação.

Os resultados da interação das frações nitrogenadas e épocas analisadas se encontram na Figura 1. O cultivar SP80-1049 apresentou as maiores frações amoniacal (Figuras 1A), ao longo das épocas e com significativo incremento aos 112 e 154 dias de

análise (19,06 e 19,25 mg N 100 ml de caldo⁻¹, respectivamente) indicando que apesar do ciclo de maturação deste cultivar ser classificado como precoce em que MARGARIDO (2006) considera a época de colheita entre os meses de abril a junho esta não seria a recomendada para a produção industrial via fermentativa, pois até o mês de julho os valores desta fração não foram elevados como nas épocas finais (112 e 154 dias) que ocorreu nos meses de agosto e setembro. Para a fração protéica (Figura 1D) ocorreu o inverso, a inicial, 28 e 154 dias obteve os maiores resultados. Estes maiores que os encontrados por MENDES et al. (2010) com o cultivar RB867515, de ciclo de maturação tardio.

Conforme RIBEIRO et al. (1987), que evidenciaram que o nitrogênio amoniacal é a forma mais assimilável pela levedura e favorece o processo de fermentação, e segundo JERONIMO et al. (2008)a e PULZATTO (2000) que demonstraram a importância da concentração de proteína em formas assimiláveis pela levedura no mosto de fermentação para a multiplicação celular, tem-se a conclusão que o cultivar SP80-1049 seria o melhor para a fermentação alcoólica tanto para a produção de etanol como de cachaça, pois pode contribuir para uma maior viabilidade celular, diminuição de compostos secundários e redução no tempo de fermentação.

O cultivar IACSP93-3046 apresentou os menores valores de nitrogênio amoniacal (Figura 1A), ao longo das épocas indicando que ele exige a maior atenção para sua utilização no processo fermentativo, pois na ausência desta fração a levedura buscará outras fontes nitrogenadas provocando aumento na produção de compostos secundários (RIBEIRO et al., 1987).

Apesar dos elevados valores da fração protéica ao longo das épocas para o cultivar SP80-1049 (Figura 1D), os mesmos podem ser insuficientes para um incremento de produtividade na fermentação da levedura, levando-se em conta à necessidade de complementação nutricional. Este fato foi evidenciado por PINOTTI (1991) e comprovado por JERONIMO et al. (2008b), que suplementaram o mosto com isolado protéico de soja e obtiveram melhora na velocidade e na viabilidade das células de levedura em bateladas sucessivas de produção de cachaça.

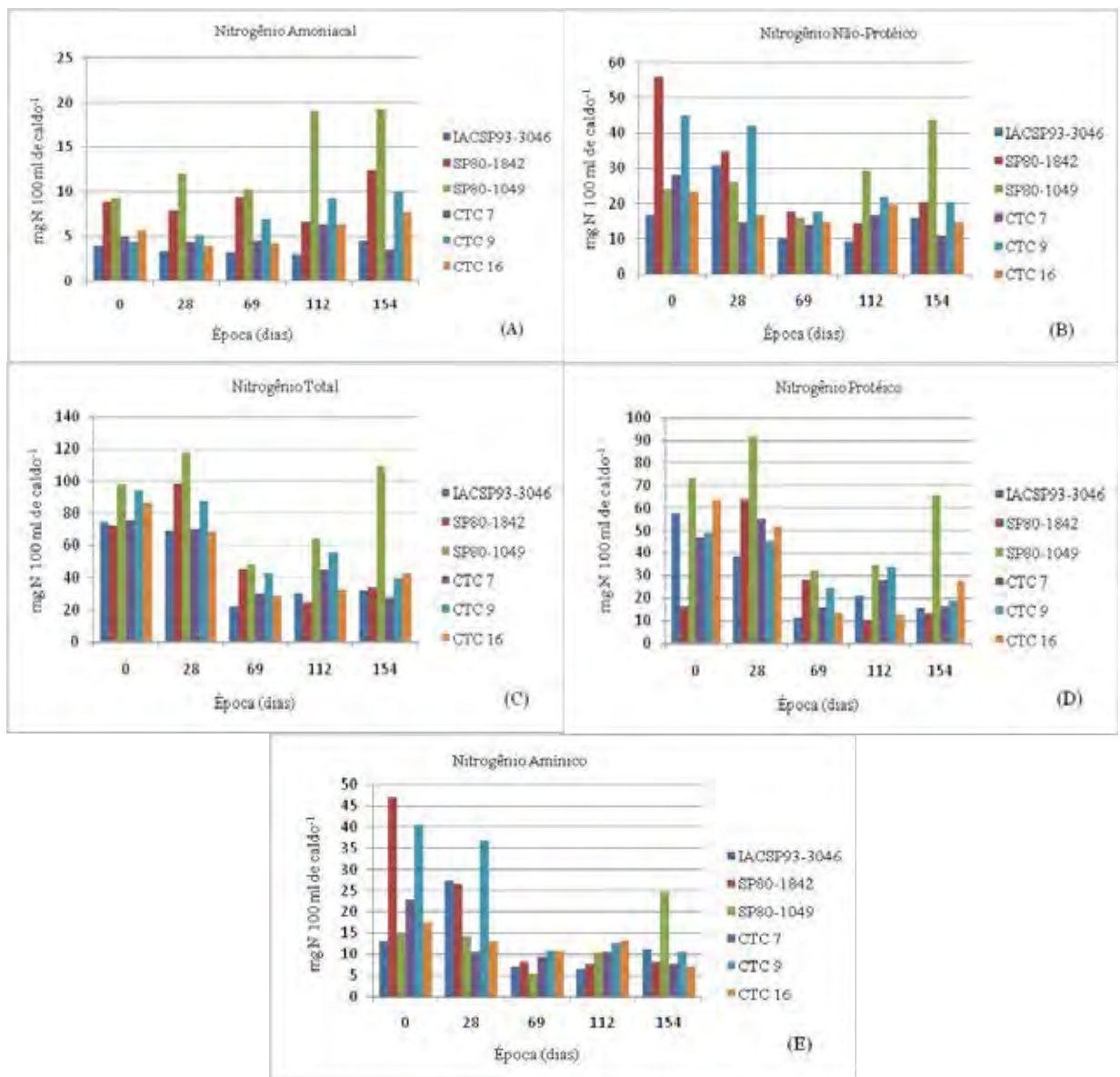


Figura 1: Interação entre os cultivares com ciclo precoce e as épocas de análise quanto aos teores de nitrogênio amoniacal (A), não protéico (B), total (C), protéico (D) e amínico (E) no caldo de cana de segundo corte, na safra 2010/2011 (Jaboticabal, SP).

Os cultivares SP80-1842 e CTC 9 apresentaram na época inicial (0 e 28 dias) as maiores frações não-protéicas (Figura 1B), que foram decrescendo ao longo das épocas, o que é contraditório ao encontrado por DAMIÃO et al. (2010) em cultivares de

ciclo de maturação médio, nos quais não se observou decréscimo ao longo das épocas. O cultivar SP80-1049 se destacou significativamente dos demais aos 154 dias de análise.

Os teores de nitrogênio total (Figura 1C) apresentaram os valores mais elevados na época inicial e aos 28 dias, no final (154 dias) estes valores diminuíram significativamente com exceção do SP80-1049 que obteve um incremento expressivo em relação aos demais. O IACSP93-3046 no 69º dia de análise, demonstrou valor abaixo ($20 \text{ mg N } 100 \text{ ml}^{-1}$) da recomendação de STUPIELLO & HORII (1981), os quais indicaram de $30 \text{ a } 35 \text{ mg N } 100 \text{ mL}^{-1}$, como níveis ótimos de nitrogênio na fermentação.

Os menores resultados do SP80-1842 aos 112 e 154 dias de análise para o nitrogênio protéico (Figura 1D) e o CTC 16 aos 154 dias para a fração amínica (Figura 1E), evidenciam maior aptidão destes cultivares para a produção de açúcar ao final da safra. Segundo relatos de SANTOS et al. (2010) e DAMIÃO et al. (2010) estes baixos valores são favoráveis para evitar a turbidez do caldo e o escurecimento dos cristais de açúcar.

Para os cultivares estudados, os resultados demonstram que dentre as épocas analisadas, as finais (112 e 154 dias) tiveram considerável incremento nos valores da fração amoniacal. Para a fração não protéica e amínica ocorreu o inverso.

4.2 Cultivares com ciclo médio

Os resultados das frações nitrogenadas e a época de análise dos caldos dos cultivares com ciclo médio de cana-de-açúcar encontram-se na Tabela 3. O cultivar RB855536 apresentou os maiores valores para todas as frações nitrogenadas, seguido do cultivar SP81-3250 para a fração protéica, que são semelhantes aos encontrados por SANTOS et al. (2010) para os mesmos cultivares.

Quanto às épocas analisadas, a inicial (0 e 28 dias) mostrou maiores valores para as frações total, protéica e amínica, resultados contraditórios às informações de PINOTTI (1991) que atribuiu o baixo nível de nitrogênio no caldo de cana ao baixo nível

de nutrientes no início da safra. Apenas a fração amoniacal na época final (154 dias) apresentou o maior valor.

Tabela 3: Valores médios¹ das frações nitrogenadas no caldo de cana soca de segundo corte dos cultivares médios na safra 2010/2011 (Jaboticabal, SP).

Causas da Variação	Amoniacal	Não-protéico	Total	Protéico	Amínico
Cultivares (C)	(mg N 100 ml ⁻¹)				
IAC95-5000	7,16b	16,98c	54,10b	37,11a	9,82c
IAC94-4004	4,04d	15,41c	41,53c	26,11c	11,37c
IAC91-1099	5,93c	22,47b	54,57b	32,10b	16,53b
SP81-3250	5,53c	15,68c	54,76b	39,08a	10,15c
RB855536	9,17a	30,42a	65,73a	35,30ab	21,25a
CTC 15	7,17b	24,08b	54,55b	30,47bc	16,90ab
Teste F	123,78**	43,18**	324,42**	21,22**	24,32**
DMS 5%	0,74	4,28	2,02	4,90	4,43
Épocas (E)					
0	5,69b	24,11a	76,35a	52,24b	18,41a
28	6,12b	19,28c	77,46a	58,17a	13,16b
69	5,11c	17,88c	35,59d	17,70c	12,77b
112	6,21b	20,53bc	39,33c	18,80c	14,31b
154	9,36a	22,40ab	42,29b	19,89c	13,03b
Teste F	142,81**	11,64**	2449,50**	452,77**	10,29**
DMS 5%	0,55	2,89	1,68	3,78	2,93
F para interação					
CxE	30,70**	19,14**	55,94**	10,01**	18,15**
C.V.% (parcelas)	9,37	16,77	3,04	11,98	25,20
C.V.%(subparcelas)	9,05	14,71	3,29	11,99	21,69
Média Geral	6,50	20,84	54,21	33,36	14,34

¹ Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa. CV – coeficiente de variação.

Os resultados da interação das frações nitrogenadas e épocas analisadas se encontram na figura 2.

O cultivar RB855536 apresentou a maior fração nitrogenada amoniacal (Figura 2A) a partir dos 28 dias de análise, com considerável incremento no 112º dia em relação aos demais cultivares e na época final, 154 dias. Os cultivares IAC95-5000,

IAC91-1099 e CTC 15 também se destacaram na época final, indicando esta ser a mais favorável para a industrialização de etanol ou cachaça. Os elevados valores desta fração indicam que os cultivares mencionados seriam os mais indicados para a produção via fermentativa (etanol ou cachaça), pois de acordo com WALKER (1998), as fontes de nitrogênio preferenciais para maximização do crescimento da levedura são íons amônio, glutamato e glutamina.

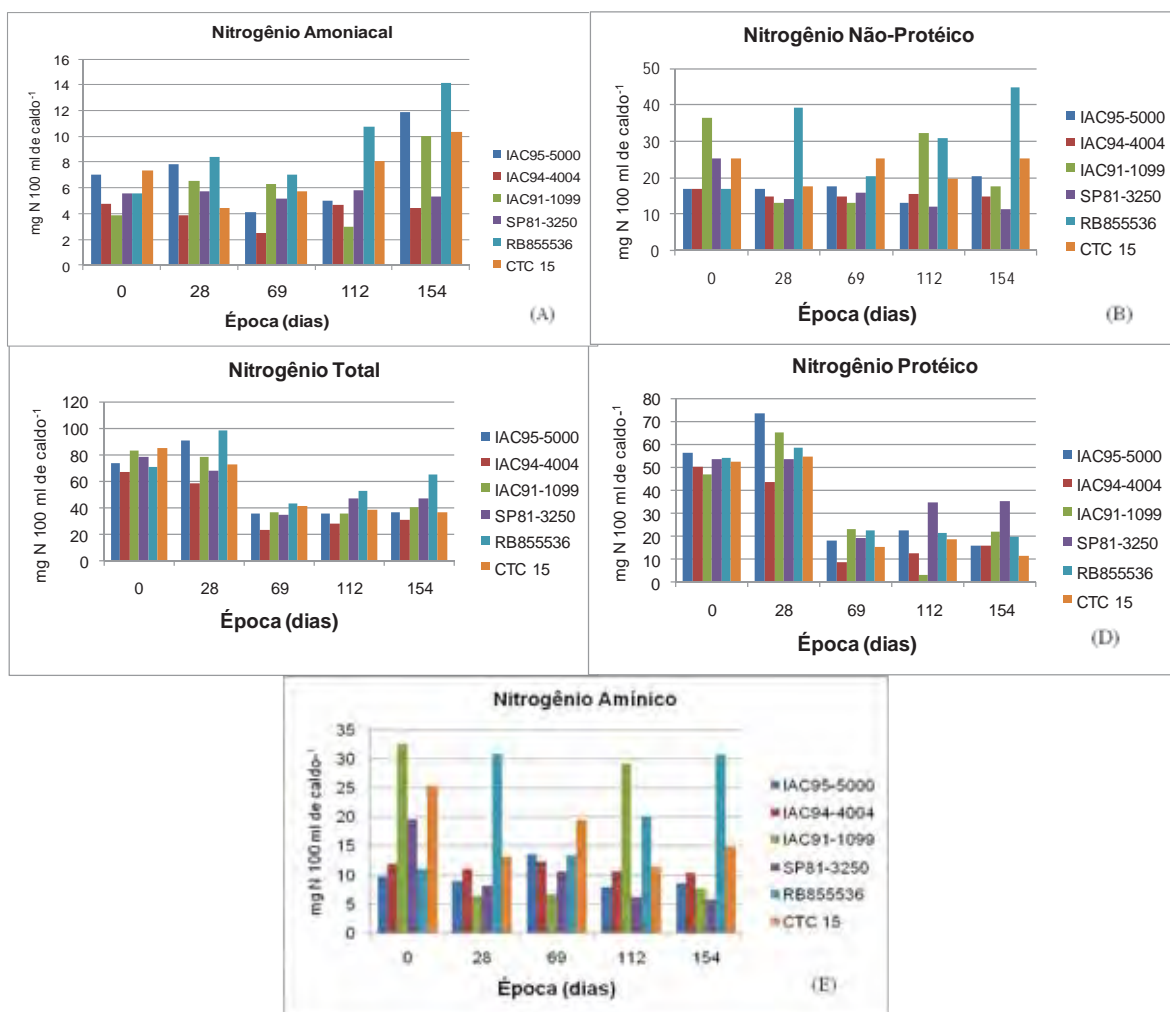


Figura 2: Interação entre os cultivares com ciclo médio e as épocas de análise quanto aos teores de nitrogênio amoniacal (A), não protéico (B), total (C), protéico (D) e amínico (E) no caldo de cana de segundo corte, na safra 2010/2011 (Jaboticabal, SP).

Para a fração não-protéica (Figura 2B) os cultivares IAC95-5000, IAC94-4004 e CTC 15 apresentaram pouca variação ao longo das épocas. O RB855536 aos 28, 112 e 154 dias demonstrou incremento expressivo, o que é semelhante ao encontrado por DAMIÃO et al. (2010) para o cultivar IACSP-2101 que teve a maior fração amoniacal em todas as épocas.

Ao decorrer das épocas verificadas houve os maiores valores na inicial (0 e 28 dias) nos teores de nitrogênio total (Figura 2C), e nas demais épocas ocorreu uma redução de aproximadamente 50%, o que está de acordo com o que foi relatado por PAYNE (1969). Ele verificou a dependência do teor de nitrogênio no caldo de cana em relação à época de colheita, o manejo do cultivo e a variedade de cana. Tal fato pode ser atribuído também à fase inicial ocorrer uma maior demanda de nitrogênio para a síntese protéica e esta ser a mais favorável para a colheita.

Em relação à fração protéica (Figura 2D) a variação foi semelhante à fração total, enquanto na amínica (Figura 2D) ocorreram mudanças expressivas nos cultivares ao longo das épocas. Tais variações conforme relato de SANTOS et al. (2010) e DAMIÃO et al. (2010) merecem maior atenção para a produção de açúcar, pois podem provocar a turbidez do caldo e o escurecimento dos cristais. Os menores resultados foram aos 28 e 69 dias para o cultivar IAC91-1099 e aos 112 e 154 dias para o SP81-3250, indicando que estes períodos são os mais indicados para a produção de açúcar com estes cultivares.

4.3 Cultivares com ciclo tardio

Os resultados das frações nitrogenadas e a época de análise dos caldos dos cultivares tardios de cana-de-açúcar encontram-se na Tabela 4. O cultivar IACSP94-2101 apresentou os maiores valores para todas as frações nitrogenadas e o CTC 8, que obteve a maior fração amoniacal, podem também indicar o caldo usado diretamente para a fermentação sem ser necessário fazer a complementação mineral (FRANCO, 1978), pois de acordo com LIMA et al. (2001) para o crescimento da levedura é

necessário oferecer condições nutricionais adequadas e se ter os melhores rendimentos fermentativos.

Quanto à época analisada, a final (154 dias) mostrou resultados superiores para a fração amoniacal, não-protéica e amínico que também foi obtido alto teor na época inicial. Aos 28 dias de análise os valores do nitrogênio total e protéico foram superiores.

Tabela 4: Valores médios¹ das frações nitrogenadas no caldo de cana soca de segundo corte dos cultivares tardios na safra 2010/2011 (Jaboticabal, SP). .

Causas da Variação	Amoniacal	Não-protéico	Total	Protéico	Amínico
Cultivares (C)	(mg N 100 ml ⁻¹)				
IACSP94-2101	9,31a	28,93a	70,99a	42,06a	19,62a
RB72454	6,40c	22,40bc	56,04d	33,64d	15,99b
RB867515	7,67b	20,16cd	59,57c	39,41b	12,48c
CTC 2	6,25c	18,66d	51,61e	32,94d	12,41c
CTC 6	5,25d	17,54d	54,46d	36,91c	12,29c
CTC 8	8,86a	24,45b	62,32b	37,87bc	15,58b
Teste F	157,96**	52,59**	367,71**	63,83**	24,11**
DMS 5%	0,60	2,75	1,71	2,05	2,82
Épocas (E)					
0	4,51d	23,48b	72,21b	48,72b	18,97a
28	6,84b	21,46bc	96,75 ^a	75,28a	14,62b
69	6,07c	15,40d	37,97e	22,57c	9,32c
112	7,01b	18,51cd	41,30d	22,78c	11,49bc
154	12,01a	31,26a	47,59c	16,32d	19,25a
Teste F	359,26**	47,11**	3776,68**	658,34**	24,81**
DMS 5%	0,59	3,50	1,62	3,85	3,55
F para interação					
CxE	39,07**	20,11**	124,63**	12,09**	15,25**
C.V.%(parcelas)	6,74	10,20	2,35	4,51	15,63
C.V.%(subparcelas)	8,65	16,84	2,90	10,99	25,55
Média Geral	7,29	22,02	59,16	37,14	14,73

¹ Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa. CV – coeficiente de variação.

Os resultados da interação das frações nitrogenadas e épocas analisadas se encontram na Figura 3. A época inicial obteve os menores teores de nitrogênio amoniacal (Figura 3A) para os cultivares estudados os quais foram aumentando ao longo do período de análise. O cultivar IACSP94-2101 apresentou os maiores resultados da época inicial até os 69 dias, enquanto aos 154 dias, o CTC 8 teve um considerável incremento, indicando esta época ser a mais recomendada para a colheita de acordo com o ciclo de maturação dos cultivares.

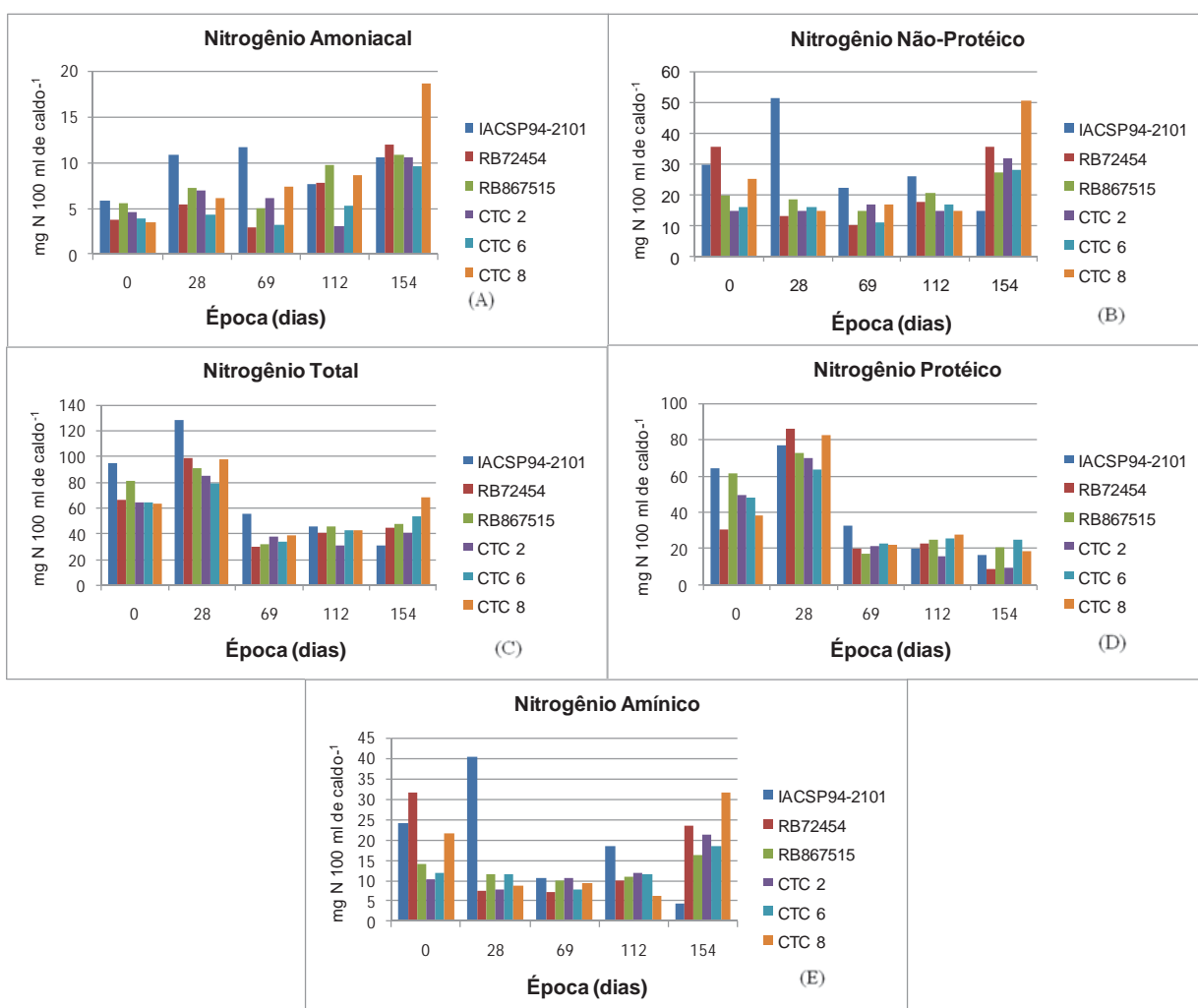


Figura 3: Interação entre os cultivares com ciclo tardio e as épocas de análise quanto aos teores de nitrogênio amoniacal (A), não protéico (B), total (C), protéico (D) e amínico (E) no caldo de cana de segundo corte, na safra 2010/2011 (Jaboticabal, SP).

Todos os valores obtidos para a fração amoniacal encontraram numa porcentagem entre 20 e 30% em relação ao valor de nitrogênio total em todas as épocas analisadas, estando, portanto em desacordo com o trabalho de SHARMA & JOHARY (1984), que relataram que a composição do caldo encontra-se normalmente na faixa de 60% na forma de amônia e 40% na forma de amino-compostos.

O cultivar IACSP94-2101 demonstrou notável aumento aos 28 dias de análise para a fração não-protéica (Figura 3-B) e o CTC 8 na época final (154 dias).

Para o nitrogênio total (Figura 3-C) os cultivares dos ciclos de maturação estudados nesta pesquisa (precoce, médio e tardio) apresentaram os maiores resultados nas épocas iniciais e para as demais épocas estes foram diminuindo em aproximadamente 50%, indicando que não ocorre variação independente da época e dos diferentes cultivares. No início das análises (0 e 28 dias) os cultivares indicaram os maiores teores, concordando com PAYNE (1969) que atribuiu as variações de nitrogênio na composição do caldo de cana às diferentes variedades de cana. Os resultados são semelhantes aos encontrados por FORT & MCKAIG (1939) citados por PAYNE (1969) que tiveram a variação da constituição do caldo encontrado para esta mesma fração entre 0,047% a 0,400%.

Para a fração de nitrogênio protéico (Figura 3D) os teores nas épocas iniciais mostraram-se maiores que nas demais, com um aumento desta fração nas demais épocas (69, 112 e 154 dias). KEATING et al. (2002) sugerem que disponibilizando-se uma maior oferta de adubação nitrogenada ao solo poderia ser obtido maiores valores. O tratamento da vinhaça complementada com nitrogênio na forma de uréia nos trabalhos de NOGUEIRA et al. (2007) proporcionou um aumento nas frações nitrogenadas.

O cultivar IACSP94-2101 para a fração amínica (Figura 3-E) demonstrou oscilações notáveis para as épocas analisadas, aos 28 dias teve um aumento extremo aos 28 dias enquanto aos 154 dias ocorreu o inverso.

5 CONCLUSÕES

Dentro da variável analisada, os resultados sugerem que os diferentes cultivares tiveram influência significativa nos teores das frações nitrogenadas obtidas e as épocas de coleta possuem uma importância muito maior do que a obtida pelos cultivares.

A classificação dos cultivares de cana em precoces, médios e tardios recomendada para a colheita indica que os valores adequados das frações de nitrogênio amoniacal para a industrialização via fermentativa não coincidem com a época recomendada.

O cultivar com ciclo precoce SP80-1049 e o com ciclo médio RB855536 apresentou os melhores resultados da fração amoniacal na época final (agosto e setembro) indicando que para esta época poderá ser a de maior propensão para a industrialização via fermentativa (etanol ou cachaça).

O cultivar com ciclo tardio IACSP94-2101 obteve a maior fração amoniacal nas épocas iniciais (abril, maio e julho) e o CTC 8 na final (setembro).

6 IMPLICAÇÕES

A cultura da cana-de-açúcar apresenta comportamento diferenciado de acordo com os diferentes cultivares, os ciclos de maturação, as características edafoclimáticas, químicas e tecnológicas conforme as regiões produtoras.

Neste contexto, diversas avaliações são realizadas para melhorar o comportamento dos cultivares e poder adequá-los às diferentes tecnologias para o processo agroindustrial

Neste trabalho, foram quantificadas as frações nitrogenadas de dezoito exemplares de cana-de-açúcar. Mesmo se tratando de análises laboratoriais em que há o controle das variáveis, os métodos utilizados nas análises foram suficientes para trazer à tona inúmeras dificuldades, destacando, o grau de subjetividade na aferição dos dados, a variação no tempo da digestão das amostras, o período e a forma de armazenamento das mesmas.

A utilização de novas tecnologias como o uso do NIR (Near Infrared Spectroscopy) para análises rápidas de todas as frações de nitrogênio em 50 segundos, análise da distribuição do peso molecular da proteína do caldo de cana por exclusão de tamanho (Size-Exclusion Chromatography) através de cromatografia ou eletroforese de proteína, são algumas condições que proporcionam melhoria e precisão ao processo industrial.

Outro aspecto a ser destacado seria um programa de adubação para ser conduzido com as análises químicas laboratoriais ao longo de todo o ciclo da cana-de-açúcar, podendo analisar a interação nutricional da planta no campo e do caldo extraído, as quais podem variar ao longo dos anos.

Os resultados obtidos servem para orientar futuras pesquisas à utilização de novas tecnologias, gerando informação aliada à ciência e indicando os fatores de impacto para a indústria.

7 REFERÊNCIAS

ANDRADE, L. A. B. de; ANJOS, I. A. dos; FIGUEIREDO, P. A. M. de; QUINTELA, A. C. R. Utilização de variedades selecionadas de cana-de-açúcar na produção de cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 33-36, 2002.

BAILEY, I. L. Miscellaneous analytical methods. In: BAILEY, I. L. **Techniques in protein chemistry**. 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 1967. cap. 11, p. 340-352.

BASSO, L. C. A Fermentação alcoólica: alguns aspectos bioquímicos, fisiológicos e microbiológicos. In: SEMANA DE FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA, 5., 2011, Piracicaba. **Palestra...** Piracicaba: STAB, 2011. Disponível em: <<http://www.stab.org.br/>>. Acesso em: 30 maio 2011.

CTC. Centro de Tecnologia Canavieira. **Variedades CTC 2011**. Disponível em: <<http://www.ctcanavieira.com.br/var2g/index.htm>>. Acesso em: 24 jan. 2011.

DAMIÃO, B. H.; SILVA NETO, H. F.; SILVA J. D. R.; TASSO JUNIOR, L. C.; MARQUES, M. O. Formas nitrogenadas presentes no caldo de cultivares médios de cana-de-açúcar, ao longo da safra 2008/2009. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 22., 2010, Jaboticabal. **Anais Eletrônicos...** Jaboticabal: UNESP, 2010. Disponível em: <http://prope.unesp.br/xxii_cic/trabalhos_fase1.php>. Acesso em: 22 mar. 2011.

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

FORT, C. A.; McKAIG JR, N. **Comparative chemical composition of juice of different varieties of Louisiana sugarcane**. Washington: Department of Agriculture, 1939, 68p. (Technical Bulletin, 688).

FRANCO, C. J. Fermentação alcoólica. **Saccharum Stab**, São Paulo, v.1, n. 3, p. 31-36, 1978.

INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS. **Variedades IAC**. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/Centros/CentroCANA/PRINCIPAL.htm>>. Acesso em: 16 maio 2011.

JERONIMO, E. M.; OLIVEIRA, E. S.; SOUZA, E. L. R.; SILVA, A. M.; SERRA, G. E. Addition of Proteic Nitrogen During Alcoholic Fermentation for the Production of Cachaça. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v. 65, n. 161-162, 2008a.

JERONIMO, E. M.; SOUZA, E. L. R.; SILVA, M. A.; CRUZ, J. C. S.; GAVA, G. J. C.; SERRA, G.E. Isolado protéico de soja como fonte de nitrogênio na fermentação alcoólica. **Boletim CEPPA**, Curitiba v. 26, n. 1, p. 21-28, 2008b.

KEATING, B. A.; BIGGS, I. M.; WEBSTER, A. J. Sugar **Monitoring cane at the mill to improve nitrogen management on the farm**. Indooroopilly: Research and Development Corporation. CSIRO, 2002. 132 p.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. Produção de Etanol. In: ALMEIDA, U. L.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. v. 3.

MACÊDO, G. A. R.; SILVEIRA, L. C. I.; ANDRADE, L. A. B.; COSTA, E. L.; OLIVEIRA, S. G.; MATTER, U. F. Variedades de cana-de-açúcar para a produção de cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 248, p. 20-24, 2009.

MARGARIDO, F. B. Planejamento agrícola em cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V. PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M.. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: Livro Ceres, 2006. 415 p.

MARQUES, M. O.; MARQUES, T. A.; TASSO JUNIOR, L. C. **Tecnologia do açúcar, produção e industrialização da cana-de-açúcar**. Jaboticabal: Funep, UNESP, 2001. 166 p.

MARQUES, M. O.; BELLINGIERI, P. A.; MARQUES, T. A.; NOGUEIRA, T. A. R. Qualidade e produtividade da cana-de-açúcar cultivada em solo com doses crescentes de lodo de esgoto. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 2, p. 111-122, 2007.

MEEKER, E. W.; WAGNER, E. C. Titration of ammonia in presence of boric acid. **Industrial and Engineering Chemistry Analytical Edition**, Washington, v. 5, n. 6, p.396-398, 1933.

MENDES, S. M.; MARQUES, M. O.; SILVA, J. D. R.; SILVA NETO, H. F.; DAMIÃO, B. H. Frações de nitrogênio em seis cultivares de cana-de-açúcar com maturação no final da safra. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 22., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: SBCTA. 2010. 1 CD-ROM.

NÓBREGA, J. C. M.; DORNELAS, M. C. Biotecnologia e melhoramento da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M.. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: Livro Ceres, 2006. 415 p.

NOGUEIRA, T. A. R.; MARQUES, M. O.; FONSECA, I. M.; MENDONÇA, L. Q. H. Nutrientes em cana-de-açúcar de 5º corte cultivada em solo tratado com lodo de esgoto e vinhaça por quatro anos consecutivos. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. Campina Grande, v. 7, n. 2, p. 13, 2007.

PAYNE, J. H. Reacciones Fundamentales del Proceso de Clarification. In: HONIG, P. Princípios de **Princípios de Tecnologia Azucarera**. México: Continental, 1969. cap. 13, v.1, p. 437-464.

PINOTTI, R. F. Quantificação do nível de nitrogênio nas etapas do processo de produção de álcool. **Stab**, Piracicaba, v. 10, n. 1, p. 34-35, 1991.

PULZZATO, M. E. **Fatores que influem na Obtenção de Biomassa de Levedura Seca (*Saccharomyces cerevisiae*) da Fermentação alcoólica**. 2000. 112 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2000.

RAIJ, B. van; QUAGGIO, J. A.; CANTARELLA, H.; ABREU C. A. Interpretação de resultados de análise de solo. In. RAIJ, B. van **et al. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1997. p 8-13. (Boletim Técnico, 100).

RIBEIRO, F. J.; LOPES, J. J. C.; FERRARI, S. E.; Complementação de Nitrogênio de Forma Contínua no Processo de Fermentação Alcoólica. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 105, p. 26-30, 1987.

RIDESA. Rede Interuniversitária para Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro. **Variedades RB primeira edição**. Araras: UFSCAR, 2008. p. 31.

SANTOS, O. M. D.; MARQUES, M. O.; SILVA NETO, H. F.; SILVA, J. D. R.; DAMIÃO, B. H. Formas de nitrogênio em nós e entrenós de cana-de-açúcar, para os cultivares CTC 2, CTC 6 e CTC 8. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 22., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: SBCTA. 2010. 1 CD-ROM.

SANTOS, O. M. D.; SILVA, J. D. R.; SILVA NETO, H. F.; DAMIÃO, B. H.; TASSO JUNIOR, L. C.; MARQUES, M. O. Frações nitrogenadas em caldos de seis cultivares de cana-de-açúcar com ciclo de maturação no meio de safra. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 22, 2010, Jaboticabal. **Anais Eletrônicos...** Jaboticabal: UNESP, 2010. Disponível em: <http://prope.unesp.br/xxii_cic/trabalhos_fase1.php>. Acesso em: 22 mar. 2011.

SHARMA, S. C.; JOHARY, P. C. Amino-acid removal during cane juice clarification. **International Sugar Journal**, Kent, v. 86, n. 1021, p. 7-11, 1984.

SILVA, J. D. R.; MARQUES, M. O.; SILVA NETO, H. F.; TASSO JUNIOR, L. C.; DAMIÃO, B. H. Frações nitrogenadas em caldo de cultivares precoces de cana-de-açúcar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 22., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: SBCTA. 2010. 1 CD-ROM.

SILVA NETO, H. F. **Aspectos agrotecnológicos, florescimento, impurezas vegetais e produção de bagaço de cultivares de cana-de-açúcar.** 2010. 113 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.

STUPIELLO, J. P.; HORII, J. Condução da fermentação alcoólica. **Saccharum Stab**, São Paulo, v. 4, n. 17, p.43-46, 1981.

VASCONCELOS, J. N. Influência da Complementação de Nutrientes Nitrogenados e Fosfatados sobre o Processo de Fermentação Alcoólica Industrial. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 4-6, n. 105, p. 41-48, 1987.

WALKER, G. M. **Yeast physiology and biotechnology.** New York: John Wiley & Sons, 1998. p. 77-80.

WIGGINS, L. F. No-azucres Nitrogenados (los aminoacidos e las proteínas). In: HONIG, P. **Principios de Tecnologia Azucarera**. México: Continental, 1969. v. 1, cap. 5, p. 155-172.

YOKOYA, F. **Fabricação da aguardente de cana**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, 1995. p.15. (Série Fermentações Industriais, 2).

YOUNES, B.; CILINDRE, C.; VILLAUME, S.; PARMENTIER, M.; JEANDET, P.; VASSEROT, Y. Evidence for an extracellular acid proteolytic activity secreted by living cells of *Saccharomyces cerevisiae* PIR1: impact on grape proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, n. 11, p. 6239–6246, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org>>. DOI: 10.1021/jf200348n.

APÊNDICE

Tabelas das interações dos cultivares e épocas de análises

CULTIVARES COM CICLO PRECOCE

Tabela 1: Interação entre os cultivares precoces e épocas de análise para os teores de nitrogênio amoniacal.

	IACSP93-3046	SP80-1842	SP80-1049	CTC 7	CTC 9	CTC 16	Teste F
0	3,85Cab	8,86Abc	9,33Ac	5,01BCab	4,43BCc	5,60Bbc	36,70**
28	3,26Dab	7,93Bcd	12,01Ab	4,43CDbc	5,13Cc	3,85CDd	74,07**
69	3,15Cab	9,45Ab	10,26Ac	4,55Cbc	7,00Bb	4,20Ccd	58,31**
112	2,98Db	6,65Cd	19,06Aa	6,30Ca	9,33Ba	6,30Cab	209,12**
154	4,55Ea	12,36Ba	19,25Aa	3,50Ec	9,91Ca	7,70Da	224,47**
Teste F	2,91*	32,15**	163,99**	7,38**	42,20**	17,48**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na horizontal. Letras minúsculas - Comparação na vertical. **- Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 2: Interação entre os cultivares precoces e épocas de análise para os teores de nitrogênio não-protéico.

	IACSP93-3046	SP80-1842	SP80-1049	CTC 7	CTC 9	CTC 16	Teste F
0	16,80Db	56,00Aa	24,26CDb	28,00Ca	44,80Ba	23,33CDa	64,76**
28	30,80BCa	34,53ABb	26,13Cb	14,93Db	42,00Aa	16,80Dab	31,46**
69	10,26Abc	17,73Ac	15,86Ac	14,00Ab	17,73Ab	14,93Ab	2,26 ^{NS}
112	9,33Cc	14,56BCc	29,30Ab	16,80BCb	22,02ABb	19,60Bab	13,44**
154	15,86BCbc	20,53Bc	43,86Aa	11,20Cb	20,53Bb	14,93BCb	39,40**
Teste F	21,41**	84,60**	30,33**	12,18**	48,24**	3,72*	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na horizontal. Letras minúsculas - Comparação na vertical. **- Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 3: Interação entre os cultivares precoces e épocas de análise para os teores de nitrogênio total.

	IACSP93-3046	SP80-1842	SP80-1049	CTC 7	CTC 9	CTC 16	Teste F
0	74,43Ca	72,33Cb	97,65Ac	75,25Ca	93,80Aa	86,68Ba	67,53**
28	69,30Da	98,35Ba	117,83Aa	70,46Da	87,38Cb	68,60Db	227,04**
69	21,81Dc	45,73ABc	48,30Ae	30,21Cc	42,35Bd	28,35Cd	66,17**
112	30,21Db	24,61Ee	64,05Ad	44,68Cb	55,76Bc	31,92Dd	139,96**
154	31,50DEb	34,06CDd	109,55Ab	27,88Ec	39,31BCd	42,58Bc	543,93**
Teste F	302,50**	458,28**	454,36**	248,26**	326,03**	319,55**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na horizontal. Letras minúsculas - Comparação na vertical. **- Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 4: Interação entre os cultivares precoces e épocas de análise para os teores de nitrogênio protéico.

	IACSP93-3046	SP80-1842	SP80-1049	CTC 7	CTC 9	CTC 16	Teste F
0	57,63Ba	16,33Dc	73,38Ab	47,25Cb	49,00Ca	63,35Ba	105,17**
28	38,50Eb	63,81Ba	91,70Aa	55,53Ca	45,38DE a	51,80CDb	96,17**
69	11,55Bd	28,00Ab	32,43Ac	16,21Bd	24,61Ac	13,41Bd	19,88**
112	20,88Bc	10,05Cc	34,74Ac	27,88AB c	33,74Ab	12,32Cd	30,87**
154	15,63Ccd	13,53Cc	65,68Ab	16,68Cd	18,78Cc	27,65Bc	108,54**
Teste F	97,92**	129,97**	175,38**	86,21**	45,22**	141,73**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na horizontal. Letras minúsculas - Comparação na vertical. ** - Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 5: Interação entre os cultivares precoces e épocas de análise para os teores de nitrogênio amínico.

	IACSP93-3046	SP80-1842	SP80-1049	CTC 7	CTC 9	CTC 16	Teste F
0	12,95Cb	47,13Aa	14,93Cb	22,98Ba	40,36Aa	17,73BCa	57,26**
28	27,53Ba	26,60Bb	14,11Cb	10,50Cb	36,86Aa	12,95Cab	30,62**
69	7,11Ab	8,28Ac	5,60Ac	9,45Ab	10,73Ab	10,73Aab	1,18 ^{NS}
112	6,34Ab	7,91Ac	10,24Abc	10,50Ab	12,69Ab	13,30Aab	2,01 ^{NS}
154	11,31Bb	8,16Bc	24,61Aa	7,70Ab	10,61Bb	7,23Bb	12,12**
Teste F	20,70**	84,98**	14,01**	10,59**	63,68**	4,17**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na horizontal. Letras minúsculas - Comparação na vertical. ** - Significativo a 1% de probabilidade.

CULTIVARES COM CICLO MÉDIO

Tabela 1: Interação entre os cultivares médios e épocas de análise para os teores de nitrogênio amoniacal.

	IAC95-5000	IAC94-4004	IAC91-1099	SP81-3250	RB855536	CTC 15	Teste F
0	7,00ABb	4,78CDa	3,85Dc	5,60BCa	5,60BCe	7,35Ab	14,85**
28	7,81ABb	3,85Ea	6,53BCb	5,71CDa	8,40Ac	4,43DEc	28,01**
69	4,08Cc	2,45Db	6,30ABb	5,13BCa	7,00Ad	5,71ABc	23,02**
112	5,01Cc	4,69Ca	2,96Dc	5,83Ca	10,73Ab	8,05Bb	65,33**
154	11,90Ba	4,43Da	10,03Ca	5,36Da	14,11Aa	10,33Ca	120,71**
Teste F	80,07**	8,00**	65,96**	0,68 ^{NS}	97,34**	44,25**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na horizontal. Letras minúsculas - Comparação na vertical. ** - Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 2: Interação entre os cultivares médios e épocas de análise para os teores de nitrogênio não-protéico.

	IAC95-5000	IAC94-4004	IAC91-1099	SP81-3250	RB855536	CTC 15	Teste F
0	16,80Cab	16,80Ca	36,40Aa	25,20Ba	16,80Cc	25,20Ba	23,20**
28	16,80Bab	14,93Ba	13,06Bb	14,00Bb	39,20Aa	17,73Bc	29,51**
69	17,73ABab	14,93Ba	13,06Bb	15,86Bb	20,53ABc	25,20Ab	5,81**
112	13,06Bb	15,49Ba	32,10Aa	12,13Bb	30,80Ab	19,60Bbc	23,57**
154	20,53BCa	14,93CDa	17,73BCDb	11,20Db	44,80Aa	25,20Bb	43,07**
Teste F	2,28 ^{NS}	0,21 ^{NS}	38,73**	10,05**	45,19**	10,88**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na horizontal. Letras minúsculas - Comparação na vertical ** - Significativo a 1% de probabilidade

Tabela 3: Interação entre os cultivares médios e épocas de análise para os teores de nitrogênio total.

	IAC95-5000	IAC94-4004	IAC91-1099	SP81-3250	RB855536	CTC 15	Teste F
0	73,03Cb	67,20Da	83,06Aa	78,63Ba	70,93CDb	85,28Aa	49,16**
28	90,41Ba	58,56Fb	78,40Cb	67,43Eb	97,88Aa	72,10Db	207,32**
69	35,51Bc	23,33Cd	36,28Bcd	34,76Bd	43,05Ae	40,60Ac	44,89**
112	35,35Cc	27,88Dc	35,46Cd	46,55Bc	52,38Ad	38,38Ccd	74,49**
154	36,21Cc	30,68Dc	39,66Cc	46,43Bc	64,40Ac	36,40Cd	139,09**
TesteF	631,73**	371,44**	539,60**	297,08**	411,54**	477,83**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na horizontal. Letras minúsculas - Comparação na vertical. ** - Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 4: Interação entre os cultivares médios e épocas de análise para os teores de nitrogênio protéico.

	IAC95-5000	IAC94-4004	IAC91-1099	SP81-3250	RB855536	CTC 15	Teste F
0	56,23Ab	50,40Aa	46,66Aa	53,43Aa	54,13Aa	52,61Aa	2,08 ^{NS}
28	73,61Aa	43,63Da	65,33ABb	53,43Ca	58,68BCa	54,36Ca	20,18**
69	17,78ABc	8,40Bb	23,21Ac	18,90Ac	22,51Ab	15,40ABb	5,51**
112	22,28Bc	12,39CDb	3,36Dd	34,41Ab	21,58BCb	18,78BCb	20,36**
154	15,68BCc	15,75BCb	21,93Bc	35,23Ab	19,60BCb	11,20Cb	13,12**
Teste F	128,87**	70,56**	108,91**	40,09**	70,24**	84,16**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na vertical. Letras minúsculas - Comparação na horizontal. ** - Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 5: Interação entre os cultivares médios e épocas de análise para os teores de nitrogênio amínico.

	IAC95-5000	IAC94-4004	IAC91-1099	SP81-3250	RB855536	CTC 15	Teste F
0	9,80Da	12,01CDa	32,55Aa	19,60BCa	11,20Dc	25,31ABa	24,10**
28	8,98Ba	11,08Ba	6,53Bb	8,28Bb	30,80Aa	13,30Bbc	23,21**
69	13,65ABa	12,48ABa	6,76Bb	10,73Bb	13,53ABbc	19,48Aab	5,02**
112	8,05Ca	10,80Ca	29,14Aa	6,30Cb	20,06Bb	11,55Cc	21,81**
154	8,63BCa	10,50BCa	7,70BCb	5,83Cb	30,68Aa	14,86Bbc	24,38**
Teste F	1,54 ^{NS}	0,22 ^{NS}	53,39**	9,81**	26,51**	9,55**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na vertical. Letras minúsculas - Comparação na horizontal. ** - Significativo a 1% de probabilidade.

CULTIVARES COM CICLO TARDIO

Tabela 1: Interação entre os cultivares tardios e épocas de análise para os teores de nitrogênio amoniacal.

	IACSP94-2101	RB72454	RB867515	CTC 2	CTC 6	CTC 8	Teste F
0	5,83Ac	3,73Bd	5,60Ac	4,55ABc	3,85Bbc	3,50Bd	8,17**
28	10,85Aa	5,48CDc	7,23Bb	7,00Bb	4,31Dbc	6,18BCc	40,69**
69	11,66Aa	2,96Dd	5,01Cc	6,18BCb	3,26Dc	7,35Bbc	84,31**
112	7,70Bb	7,81Bb	9,68Aa	3,03Dd	5,25Cb	8,63ABb	48,73**
154	10,50Ca	12,01Ba	10,85BCa	10,50Ca	9,56Ca	18,66Aa	91,81**
Teste F	45,21**	100,35**	48,34**	59,98**	47,80**	252,95**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na vertical. Letras minúsculas - Comparação na horizontal. ** - Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 2: Interação entre os cultivares tardios e épocas de análise para os teores de nitrogênio não-protéico.

	IACSP942101	RB72454	RB867515	CTC 2	CTC 6	CTC 8	Teste F
0	29,86ABb	35,46Aa	19,60CDab	14,93Db	15,86Db	25,20BCb	16,64**
28	51,33Aa	13,06Bb	18,66Bab	14,93Bb	15,86Bb	14,93Bc	54,26**
69	22,40Abc	10,26Bb	14,93ABb	16,80ABb	11,20Bb	16,80ABbc	4,85**
112	26,13Ab	17,73Bb	20,53ABab	14,93Bb	16,80Bb	14,93Bc	4,56**
154	14,93Dc	35,46Ba	27,06Ca	31,73BCa	28,00BCa	50,40Aa	33,89**
Teste F	40,82**	32,56**	4,23**	11,77**	8,49**	49,78**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na vertical. Letras minúsculas - Comparação na horizontal. ** - Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 3: Interação entre os cultivares tardios e épocas de análise para os teores de nitrogênio total.

	IACSP94-2101	RB72454	RB867515	CTC 2	CTC 6	CTC 8	Teste F
0	94,50Ab	66,15Cb	81,20Bb	64,16Cb	63,93Cb	63,35Cc	179,64**
28	128,10Aa	98,93Ba	91,35Ca	84,81Da	79,45Ea	97,88Ba	317,43**
69	55,06Ac	30,10Cd	32,31Cd	37,80Bc	33,60Ce	38,96Bd	88,36**
112	46,08Ad	40,71Bc	45,61Ac	30,45Cd	42,23ABd	42,70ABd	35,32**
154	31,22Ee	44,33CDc	47,36Cc	40,83Dc	53,08Bc	68,71Ab	174,14**
Teste F	1587,81**	756,39**	649,37**	510,28**	329,42**	566,53**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na vertical. Letras minúsculas - Comparação na horizontal. ** - Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 4: Interação entre os cultivares tardios e épocas de análise para os teores de nitrogênio protéico.

	IACSP94-2101	RB72454	RB867515	CTC 2	CTC 6	CTC 8	Teste F
0	64,63Ab	30,68Cb	61,60Ab	49,23Bb	48,06Bb	38,15Cb	36,96**
28	76,76BCa	85,86Aa	72,68Ca	69,88CDa	63,58Da	82,95ABa	14,92**
69	32,66Ac	19,83Bc	17,38Bc	21,00Bc	22,40Bc	22,16Bc	6,00**
112	19,95ABd	22,98ABbc	25,08Ac	15,51Bcd	25,43Ac	27,76Ac	4,23**
154	16,28ABd	8,86Bd	20,30Ac	9,10Bd	25,08Ac	18,31Ac	8,81**
Teste F	132,85**	164,26**	119,35**	118,89**	59,25**	124,21**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na vertical. Letras minúsculas - Comparação na horizontal. ** - Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 5: Interação entre os cultivares tardios e épocas de análise para os teores de nitrogênio amínico.

	IACSP94-2101	RB72454	RB867515	CTC 2	CTC 6	CTC 8	Teste F
0	24,03ABb	31,73Aa	14,00CDa	10,38Db	12,01Dab	21,70BCb	16,58**
28	40,48Aa	7,58Bb	11,43Ba	7,93Bb	11,55Bab	8,75Bc	39,52**
69	10,73Acd	7,30Ab	9,91Aa	10,61Ab	7,93Ab	9,45Ac	0,49 ^{NS}
112	18,43Abc	9,91Bb	10,85ABa	11,90ABb	11,55ABab	6,30Bc	3,78**
154	4,43Cd	23,45ABa	16,21Ba	21,23Ba	18,43Ba	31,73Aa	19,67**
Teste F	40,50**	25,73**	1,41 ^{NS}	5,58**	3,06*	24,79**	

Letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas – Comparação na vertical. Letras minúsculas - Comparação na horizontal. ** - Significativo a 1% de probabilidade.