**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Processo de peroxidação de açúcar tipo VHP na produção de
açúcar refinado: implicações químicas, tecnológicas e
microbiológicas**

Juliana Lorenz Mandro

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Microbiologia Agrícola

**Piracicaba
2016**

Juliana Lorenz Mandro
Tecnóloga em Biocombustíveis

**Processo de peroxidação de açúcar tipo VHP na produção de açúcar refinado:
implicações químicas, tecnológicas e microbiológicas**
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **CLAUDIO LIMA DE AGUIAR**

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestra em Ciências. Área de concentração:
Microbiologia Agrícola

Piracicaba
2016

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Mandro, Juliana Lorenz

Processo de peroxidação de açúcar tipo VHP na produção de açúcar refinado: implicações químicas, tecnológicas e microbiológicas / Juliana Lorenz Mandro. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.
96 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Sulfito 2. Peróxido de hidrogênio 3. Clarificação 4. Sacarose I. Título

CDD 664.113
M273p

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

*Dedico este trabalho a Deus, meus
pais Nelson e Maria Luiza e ao meu
noivo Diego*

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, por ter me ajudado a trilhar o melhor caminho e me mantido sempre perseverante e dedicada.

Aos meus pais Nelson Mandro e Maria Luiza Ap. Lorenz Mandro, por todo amor e incentivo, por ter me ajudado com conselhos valiosos nas horas em que eu me encontrava em um mar de dúvidas, por serem meu exemplo de vida e me apoiarem em todas as decisões tomadas.

Ao meu querido noivo Diego Campiol, o amor da minha vida que com carinho e dedicação sempre soube me aconselhar e me ajudar a trilhar os melhores caminhos nesta caminhada acadêmica e por sua imensa paciência, companheirismo e sabedoria ao me ajudar a contornar as horas mais difíceis.

Ao meu orientador Prof. Dr. Claudio Lima de Aguiar pelas oportunidades ao longo desses anos, pela confiança em meu trabalho e pela amizade construída.

Ao Prof. Dr. Antonio Sampaio Baptista pelo apoio, ensinamentos e pela disponibilidade em ajudar sempre que foi preciso.

A Juliana Ap. de Souza Sartori e Nathália Torres Correa, pelos conselhos, pela ajuda no desenvolvimento deste trabalhos, pela disponibilidade em ajudar sempre que precisei não importando situação ou contexto, mas acima de tudo pela amizade e pela parceria que construímos durante estes anos.

Aos amigos e colegas de laboratório do Grupo de Pesquisa Hugot-Bioenergia, especialmente a Roberta Bergamin, Jéssica Jambassi, Felipe Ogando e Gislene Manarim que sempre me auxiliaram quando precisei.

Aos técnicos do laboratório, Pedrinho, Sylvino, em especial a minha tia Rosemary Leonessa Silva, que me ajudou a entrar para este maravilhoso grupo, por seu companheirismo e dedicação.

Aos apoios financeiros durante o mestrado concedidos pelo processo nº 2014/03292-5, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e pela Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Atividades que foram realizadas durante o andamento do mestrado, que teve início em Março de 2014.

- Artigo publicado: **MANDRO, J. L.**; BRAGA, N. L. L.; CATELAN, M. G.; BAPTISTA, A. S.; SOUZA-SARTORI, J. A.; CORREA, N. T.; ROCHA, A. L. B.; LIMA, R. B.; AGUIAR, C. L. Degradação de rutina em sistemas-modelo de caldo de cana-de-açúcar pela ação de peróxido de hidrogênio. Revista de Química Industrial, 2015.
- CORREA, N. T; SARTORI, J. A. S; **MANDRO, J. L.**; OGANDO, F. I. B; CUNHA, L. R; AGUIAR, C. L. Sistemas Oxidativos $\text{Fe}_3^+/\text{H}_2\text{O}_2$ Como Processo Sustentável de Clarificação do Caldo de Cana-de-Açúcar em Processo Sulfur-Free. XX COBEQ (Congresso Brasileiro de Engenharia Química) 2014. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
- ROCHA, A. L. B; LIMA, R. B; SARTORI, J. A. S; CORREA, N. T; OGANDO, F. I. B; **MANDRO, J. L.**; AGUIAR, C. L; TONOLI, F. C; BRAGA, N. L. L. Fatores que afetam a formação de cor durante armazenamento de açúcar cristal branco. XX COBEQ (Congresso Brasileiro de Engenharia Química). 2014. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
- **MANDRO, J. L.**; CORREA, N. T; SOUZA-SARTORI, J. A; AGUIAR, C. L. Redução de cor ICUMSA da calda de açúcar VHP por peroxidação. VIII EPOA (encontro sobre aplicações ambientais dos processos oxidativos avançados) e II CIPOA (congresso ibero-americano de processos oxidativos avançados). 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
- SARTORI, J. A. S.; MAGRI, N. T. C.; **MANDRO, J.L.**; Aguiar, C. L. Degradação do ácido gálico utilizando a ozonização como processo alternativo à sulfitação. VIII EPOA- II CIPOA. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
- VII Simpósio de Tecnologia de Produção de Cana-de-Açúcar. UNIMEP-Piracicaba. 15 a 17 de julho de 2015.
- Palestra sobre espectrometria de Massas para as Ciências Agrárias. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz /USP. 2014.

*“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original”
(Albert Einstein)*

SUMÁRIO

RESUMO.....	15
ABSTRACT	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	23
1 INTRODUÇÃO	25
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
2.1 Aspectos históricos e econômicos da produção de cana-de-açúcar no Brasil	27
2.2 Açúcar	29
2.3 Contaminação microbiana do açúcar	32
2.4 Clarificação de calda na produção de açúcar refinado.....	34
2.5 Clarificação do açúcar por processo de sulfitação: problemática envolvida.....	34
2.6 Consequências do uso de aditivo sulfitante no açúcar.....	36
2.7 Processos oxidativos como alternativa para clarificação	37
2.8 Peróxido de hidrogênio.....	38
2.8.1 Atuação do peróxido de hidrogênio na indústria de alimentos.....	40
3 MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1 Reagentes e soluções	43
3.2 Caracterização do peróxido de hidrogênio	43
3.3 Condução da reação	43
3.4 Análise composicional e química da calda de açúcar bruto do tipo VHP peroxidada.....	44
3.4.1 Teor de sólidos dissolvidos	44
3.4.2 Determinação de cor ICUMSA.....	45
3.4.3 Determinação de açúcares redutores	45
3.4.4 Determinação de percentagem de sacarose.....	45
3.4.5 Determinação de turbidez	46
3.4.6 Determinação do potencial hidrogeniônico.....	46
3.5 Caracterização do açúcar VHP	46
3.5.1 Polarização (Teor aparente de sacarose)	46
3.5.2 Cinzas condutimétricas	46
3.5.3 Determinação de proteína.....	47

3.5.4 Umidade do açúcar.....	47
3.5.5 Granulometria (abertura média e coeficiente de variação).....	47
3.6 Cinética química da reação de peroxidação das amostras de açúcar bruto tipo VHP.....	48
3.7 Análises microbiológicas.....	48
3.7.1 Contagem de bactérias mesófilas totais	49
3.7.2 Contagem de fungos e leveduras.....	50
3.8 Redes neurais artificiais (RNA).....	51
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1 Caracterização do açúcar cristal bruto (tipo VHP)	53
4.2 Planejamento e otimização dos parâmetros da redução de cor ICUMSA em calda de açúcar VHP por peroxidação	54
4.2.1 Cor ICUMSA e turbidez da calda após tratada com peróxido de hidrogênio... 54	
4.2.2 Superfície de resposta e diagrama de Pareto para análise de cor ICUMSA com ênfase nas combinações entre temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio 55	
4.2.3 Superfície de resposta e diagrama de Pareto para análise de degradação de sacarose com ênfase nas combinações entre temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio	58
4.2.4 Superfície de resposta e diagrama de Pareto para análise de formação de açúcares redutores com ênfase nas combinações entre temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio	61
4.3 Modelagem dos tratamentos de otimização para o parâmetros de pH ajustado 64	
4.3.1 Superfície de resposta e diagrama de Pareto para análise de redução de cor ICUMSA, dos parâmetros pH, temperatura e dosagem de peróxido de hidrogênio. 64	
4.3.2 Comparação das diferentes gramas do parâmetro pH nos tratamentos de otimização de cor ICUMSA.....	67
4.4 Análises realizadas para o perfil cinético de calda de açúcar do tipo VHP clarificado por peroxidação	68
4.4.1 Cor ICUMSA de calda de açúcar clarificado por peroxidação sobre cinética química	68
4.4.2 Teores de Sacarose de calda de açúcar do tipo VHP clarificado por peroxidação em cinética química.....	72
4.4.3 Análises microbiológicas da calda de açúcar do tipo VHP clarificada por peroxidação em cinética química.....	76

4.4.4 Redes Neurais Artificiais (RNA) para redução de cor ICUMSA.....	78
5 CONCLUSÕES	87
REFERÊNCIAS.....	89

RESUMO

Clarificação da calda de açúcar do tipo VHP por peróxido de hidrogênio: implicações químicas, tecnológicas e microbiológicas

Atualmente, o setor sucroenergético está se tornando cada vez mais competitivo, o que de fato é incentivado, principalmente, pela representativa demanda e exigências do mercado externo. Ao se analisar a produção do açúcar refinado, podem-se encontrar barreiras para a sua ampla aceitação nacional e internacional devido ao método de clarificação empregado, uma vez que este é realizado através da queima de enxofre elementar em câmaras de combustão. O uso do sulfito acima dos limites permitidos pode ocasionar potenciais problemas de saúde pública. Neste sentido, o Brasil tem realizado estudos sobre a adoção de novas tecnologias para a substituição da sulfitação, sem alteração da qualidade do açúcar refinado a ser produzido. Partindo deste pressuposto, fez-se a avaliação do uso do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em solução comercial (35% v/v) como reagente alternativo ao dióxido de enxofre para obtenção de açúcar refinado com menor cor ICUMSA. Para isso, na calda de açúcar do tipo VHP, foram testadas doses distintas de peróxido de hidrogênio, aliadas a diferentes pH e temperaturas frente a um Delineamento composto central composto central, permitindo a otimização e o acompanhamento das transformações decorrentes do processo. Com isso, obteve-se como melhores condições o pH 7,5 e 10, temperaturas entre 50 e 70 °C e dosagens entre 500 e 797,6 ppm de H_2O_2 . A análise a partir da cinética química da peroxidação da calda permitiu observar maiores reduções da cor ICUMSA em geral nos tempos de 50 a 75 minutos e nos 30 primeiros minutos para os pontos extremos de pH, temperatura e dose de H_2O_2 . A degradação de sacarose não foi um fator expressivo quanto ao tempo, pois a mesma na maioria dos casos foi degradada nos 5 primeiros minutos e após esse tempo se mantinha sem muitas alterações, sendo mais vulnerável as condições de pH 3,32 e 11,68, altas temperaturas (83,6 °C) e máxima dosagem H_2O_2 (1000 ppm) aplicados. Além de favorecer a redução da cor ICUMSA da calda, o H_2O_2 também se mostrou como um bom agente antimicrobiano, principalmente quando associado às altas temperaturas. Agindo com maior intensidade na diminuição da carga bacteriana do que na diminuição da carga fungica. A rede neural artificial (RNA) mostrou um bom ajuste e indicou a variável °Brix (teor de sólidos solúveis) como a que apresentou maior influência na redução da cor ICUMSA e a variável tempo a que menor influenciou na redução de cor.

Palavras-chave: Peróxido de hidrogênio; Clarificação; Sacarose

ABSTRACT

Clarification of the type VHP sugar syrup by hydrogen peroxide: chemical implications, technological and microbiological

Nowadays, the sugar-energy industry is becoming increasingly competitive, which indeed is encouraged mainly by representative demand and requirements of foreign markets. When analyzing the production of refined sugar can be found barriers to their widespread international acceptance due to the clarification method employed, since this is performed by burning elemental sulfur in combustion boilers. The use of sulfite above the permitted limits can result in potential public health problems. In this regard, Brazil has conducted studies on the adoption of new technologies to replace the sulfite, without changing the quality of the produced refined sugar. On that basis, it was done the evaluation of the use of hydrogen peroxide (H_2O_2) in commercial solution (35% v/v) as an alternative reagent to sulfur dioxide to obtain refined sugar with less ICUMSA color. For this the sugar liquor VHP different doses of hydrogen peroxide were tested, together with different pH and temperatures outside a central composite design, enabling optimization and monitoring of changes resulting from the process. Thus there was obtained as the best pH conditions 7.5 to 10, temperatures between 50 and 70 °C and dosages between 500 and 797.6 ppm H_2O_2 . The analysis from the chemical kinetics of the peroxidation of the liquor has observed greater reductions in ICUMSA color in general in the time of 50 minutes to 75 minutes and in the first 25 minutes to the extremes of pH, temperature and H_2O_2 dose. As for sucrose degradation was not a significant factor, since it in most cases was first degraded within 5 minutes and after this time remained without many changes, being more vulnerable conditions (3.32 and 11.68), high temperatures (83.6 °C) and H_2O_2 maximum dosage (1000 ppm) applied. In addition to further reduce color ICUMSA H_2O_2 Liquor also showed such a good antimicrobial agent, particularly when combined with high temperatures. Acting with more intensity in the decrease of bacteria than the reduction of fungi. The artificial neural network (ANN) showed good fit and indicated the variable ° Brix (soluble solids) as the one with the greatest influence in reducing the ICUMSA color and variable time that less influenced the color reduction.

Keywords: Hydrogen peroxide; Clarification; Sucrose

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa de produção de cana-de-açúcar	28
Figura 2 - Fluxograma da etapas de produção de açúcar cristal Branco, destacando as etapas, produtos e resíduos do processo	30
Figura 3 - Estrutura química do peróxido de hidrogênio.....	39
Figura 4 - Layout exemplificado da reação de peroxidação realizado em um banho saker com agitação orbital de 100 rpm.....	44
Figura 5 - Superfície de resposta para a interação das variáveis: (A) pH e dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm); (B) temperatura (°C) e pH para obtenção dos valores de cor ICUMSA (IU) da calda de açúcar VHP através da otimização do processo de peroxidação do calda	56
Figura 6 - Superfície de resposta para a interação das variáveis: temperatura (°C) e dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm), para obtenção dos valores de cor ICUMSA (IU) da calda de açúcar VHP através da otimização do processo de peroxidação do calda.....	56
Figura 7 - Diagrama de Pareto para um Delineamento composto central de cor ICUMSA envolvendo as variáveis H_2O_2 , pH e temperatura e suas interações.....	57
Figura 8 - Superfície de resposta para a interação das variáveis: pH e dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm), para obtenção dos valores de degradação de sacarose da calda de açúcar do tipo VHP através da otimização do processo de peroxidação do calda.....	59
Figura 9 - Superfície de resposta para a interação das variáveis: pH e temperatura (°C); dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm) e temperatura (°C), para obtenção dos valores de degradação de Sacarose da calda de açúcar do tipo VHP através da otimização do processo de peroxidação do calda...	60
Figura 10 - Diagrama de Pareto para um Delineamento composto central de degradação de sacarose envolvendo as variáveis H_2O_2 , pH e temperatura e suas interações.	60
Figura 11 - Superfície de resposta para a interação das variáveis: dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm) e temperatura (°C); temperatura (°C) e pH, para obtenção dos valores de cor formação de açúcares redutores da	

calda de açúcar do tipo VHP através da otimização do processo de peroxidação do calda.....	62
Figura 12 - Diagrama de Pareto para um Delineamento composto central de açúcares redutores, envolvendo as variáveis H_2O_2 , pH e temperatura e suas interações.....	63
Figura 13 - Superfície de resposta para a interação das variáveis: dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm) e temperatura ($^{\circ}C$); temperatura ($^{\circ}C$) e pH, para obtenção dos valores de cor formação de açúcares redutores da calda de açúcar do tipo VHP através da otimização do processo de peroxidação do calda.....	65
Figura 14 - Diagrama de Pareto para um Delineamento composto central de cor ICUMSA envolvendo as variáveis H_2O_2 , pH e temperatura e suas interações.	66
Figura 15 - Comparação entre tratamento de peroxidação com os pH dos dois deliniamentos compostos centrais.....	67
Figura 16- Perfil cinéticos dos valores de cor ICUMSA obtidos durante 90 min dos 17 tratamentos de peroxidação da calda de açúcar do tipo VHP com diferentes valores de temperatura ($^{\circ}C$), pH e dose de peróxido de hidrogênio (ppm).....	72
Figura 17 - Perfil cinéticos dos valores de sacarose, obtidos entre os 90 min nos 17 tratamentos de peroxidação da calda de açúcar do tipo VHP através de diferentes valores de temperatura ($^{\circ}C$), pH e dose de peróxido de hidrogênio (ppm).....	76
Figura 18 - Representação esquemática da rede neural usada com as variáveis de entrada e saída. (Fonte: Adaptado SARTORI ,2014)	79
Figura 19 - Coeficiente de determinação (R^2) e angular (Coef) em função do número de neurônios (NH= 4 a 10, nº de apresentações = 20000 e LS= 3). Dados LS	80
Figura 20 - Coeficiente de determinação (R_2) e angular (Coef) em função do número de neurônios (NH= 4 a 10, nº de apresentações = 20000 e TS= 3). Dados TS.....	80
Figura 21 - Valores dos resíduos médios em função dos neurônios (NH= 4 a 10, nº de apresentações = 20000 e LS/TS= 3)	80

Figura 22 - Importância das variáveis da rede neural (NH=8, nº de apresentações=20000 e LS/TS= 3).....	82
Figura 23 - Valores de cor ICUMSA em comparação aos valores simulados gerados na RNA.....	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Padrões microbiológicos internacionais para qualidade do açúcar	33
Tabela 2- Padrão microbiológico determinados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)	33
Tabela 3- Limites estabelecidos para aplicação de aditivos alimentares sulfitantes	37
Tabela 4- Potencial de oxidação de diferentes oxidantes em água	39
Tabela 5 - Delineamento composto central 2^3 com 3 pontos centrais e 6 pontos axiais.....	43
Tabela 6- Delineamento composto central 2^3 com 3 pontos centrais e 6 pontos axiais	48
Tabela 7- Dados da caracterização e padronização da amostra de açúcar VHP em comparação com parâmetros estabelecidos pelo MAPA.	53
Tabela 8– Porcentagem de redução de cor ICUMSA dos tratamentos realizados sobre o Delineamento composto central	55
Tabela 9- Resultados estatísticos segundo a tabela ANOVA para os dados de cor ICUMSA	58
Tabela 10- Resultados estatísticos segundo a tabela ANOVA para sacarose	61
Tabela 11- Resultados estatísticos segundo a tabela ANOVA para glicose e frutose	63
Tabela 12- Resultados estatísticos segundo a tabela ANOVA para cor ICUMSA com pH ajustado	67
Tabela 13- Número de unidades formadoras de colônia (UFC) de bactérias mesófilas totais encontradas nos tempos 0, 30, 60 e 90 minutos dos tratamento, com menor cor ICUMSA (tratamentos 15 e 9), maior dose de H_2O_2 (tratamento17) e sem dosagem de H_2O_2 (tratamento 16).....	77
Tabela 14 - Número de unidades formadoras de colônia (UFC) de fungos e leveduras totais encontradas nos tempos 0, 30, 60 e 90 minutos dos tratamento, com menor cor ICUMSA (tratamentos 15 e 9), maior dose de H_2O_2 tratamento17 e sem dosagem de H_2O_2 (tratamento 16)	78
Tabela 15 - Pesos da rede neural ajustada (W1): pesos entre a camada de entrada e a camada oculta. (W2): pesos entre a camada oculta e a camada de saída (NH = 8; 20.000 apresentações).....	81

1 INTRODUÇÃO

Para a indústria sucroenergética, mais especificamente na produção alimentícia, o conhecimento da matéria-prima e a compreensão das suas propriedades químicas e reacionais durante e após o processamento é de suma importância. Sendo o açúcar uma das maiores *commodities* do Brasil, faz-se indispensável o cuidado com a segurança do produto final a ser consumido e exportado.

Atualmente, a forma de clarificação do açúcar brasileiro é a sulfitação, processo que consiste na adição de dióxido de enxofre gasoso (SO_2) ao caldo para auxiliar na coagulação das matérias coloidais, na formação de precipitados que farão o arraste de impurezas durante a sedimentação e na desinfecção do caldo que posteriormente será caleado com leite cal ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), para também coagular parte do material coloidal, precipitar certas impurezas e neutralizar o pH. Assim, na indústria de alimentos o sulfito é reconhecido como conservante e descolorante por suas características antioxidantes e precipitante, prevenindo a ação de micro-organismos e o escurecimento enzimático e não enzimático no meio (PAPAIOANNOU e PFEIFFER, 1984).

Entretanto, recentes estudos comprovam que o método de sulfitação envolve graves problemas ambientais com a liberação de resíduos tóxicos formadores de chuva ácida. Além disso, casos de potenciais problemas de saúde pública também vêm sendo relatados, onde segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) uma em cada 100 pessoas apresentam sensibilidade ao sulfito e dependendo da severidade, essas podem sofrer graves reações pela sua ingestão, como sensação de desconforto na garganta, congestionamento no peito, tosse, hipotensão e dermatite de contato (PAPAZIAN, 2013). A redução da biodisponibilidade das vitaminas B1 (tiamina), B9 (ácido fólico), B3 (nicotinamida) e B6 (piridoxina) também estão presentes em alguns casos (PEREIRA; MOURA; CONSTANT, 2008; SCAMPICCHIO et al., 2008; VALLY e THOMPSON, 2001).

Nesta dinâmica, Telles-Filho (2013) afirma que devido aos casos relatados de reações adversas após ingestão de sulfito, surge a necessidade de um controle mais rigoroso quanto a seu uso em alimentos visando à segurança da saúde humana. Para isso, o mercado mundial tende cada vez mais a exigir e inserir em sua alimentação produtos saudáveis, isentos de resíduos alergênicos e conservantes.

Logo, métodos alternativos como o uso de processos oxidativos, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) aplicados em caldo de cana-de-açúcar ou em calda de açúcar do tipo VHP, vem sendo cada vez mais estudados para aumentar a segurança e economia do setor. Uma vez que em contraste ao método de sulfitação, em que é gerado produtos potencialmente alergênicos em sua decomposição, com o peróxido de hidrogênio isso não ocorre, já que o produto final gerado é a água. Deste modo, propôs-se avaliar o uso do peróxido de hidrogênio em solução comercial (35% v/v) como reagente alternativo ao dióxido de enxofre para obtenção de açúcar branco avaliando a menor cor ICUMSA bem como:

- a) Os fatores que influenciam nas reações de redução da cor ICUMSA e degradação de sacarose da calda, através de um Delineamento composto central 2^3 , perante dos fatores dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm), pH e temperatura ($^{\circ}C$);
- b) O perfil cinético de parâmetros tecnológicos da calda tratada com peróxido de hidrogênio, considerando alterações na cor ICUMSA e nas concentrações de sacarose;
- c) Uma rede neural artificial para determinar qual a variável que apresenta a maior influência no resultado final de cor ICUMSA obtido;
- d) Os efeitos do uso do peróxido de hidrogênio nos micro-organismos presentes na calda de açúcar bruto tipo VHP antes e após o tratamento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos históricos e econômicos da produção de cana-de-açúcar no Brasil

A cana-de-açúcar é uma matéria-prima de grande viabilidade econômica e apelo cultural, sendo uma cultura de fácil adaptação, com produtos muito apreciados na maior parte do país. Segundo Hamerski (2009), a cana-de-açúcar teve como centro de origem a região leste da Indonésia e Nova Guiné e ao longo de muitos séculos, se disseminou para várias ilhas do sul do Oceano Pacífico, Indochina, arquipélago da Malásia e Bengala, aparecendo como planta produtora de açúcar na Índia Tropical. Os persas foram os primeiros a desenvolver técnicas de produção do açúcar estabelecendo as rotas do açúcar entre os países asiáticos e africanos.

Durante o século XIII, a cana-de-açúcar começou a ser desfrutada na Europa, sendo sua maior concentração percebida na região do Mediterrâneo. Após aproximadamente dois séculos, Cristóvão Colombo levou algumas poucas espécies de cana-de-açúcar e as plantou em Santo Domingo, na América Central (UDOP, 2014).

No Brasil o plantio da cana-de-açúcar iniciou-se em São Vicente, estado de São Paulo, no ano de 1522, trazida da Ilha da Madeira por Martim Afonso de Souza (JADOSKI, 2010).

Desde então o Brasil tem se destacado na produção de cana-de-açúcar, sendo atualmente o maior produtor mundial de cana-de-açúcar com aproximadamente um terço de todo o montante produzido no mundo (UNICA, 2016). E entre os estados, São Paulo é o maior produtor de cana-de-açúcar no país, com uma área plantada de 4.648,2 milhões ha na safra 2015/2016 (CONAB, 2016). Na Figura 1 podemos ver que no ano de 2015, a maior produção de cana-de-açúcar e seus derivados são oriundos do Estado de São Paulo, seguido por Goiás (908,0 mil ha), Minas Gerais (715,3 mil ha), Mato Grosso do Sul (713,7 mil ha) e Paraná (613,4 mil ha) (CONAB, 2016).

Figura 1 - Mapa da distribuição brasileira do plantio de cana-de-açúcar (CONAB, 2016)

A cultura da cana-de-açúcar vem crescendo nas últimas safras, especialmente na região Centro-Sul do país. Tal cenário vem sendo impulsionado pelo aumento da demanda de açúcar no mercado internacional (SILVEIRA, 2014).

Segundo a Conab (2015), na safra 2014/15 a produção chegou a 634,8 milhões ton. E a produção total de cana-de-açúcar destinada à indústria, na safra atual (2015/2016) foi de 655,1 milhões de toneladas, um acréscimo de 3,2 % (20,3 milhões ton) em relação à safra 2014/15.

De acordo com UNICA (2015), na safra 2014/2015, o Brasil produziu cerca de 32 milhões ton de açúcar, sendo que destes, mais da metade foram exportadas, fato que tem caracterizado o Brasil como maior produtor e exportador de açúcar do mundo. Por outro lado, a indústria sucroenergética é importante não somente para o agronegócio nacional como também pela relevância do açúcar para o consumo humano (RODRIGUES e MORAES, 2007). Segundo Belik (2001), a eliminação de grupos mais frágeis e a maior concentração da produção agrícola e industrial foram os motivos que induziram a busca de diversificação para produtos finais, já que era raro encontrar marcas e novos tipos de açúcar no mercado nacional.

Diante deste fato, o setor industrial busca maneiras e métodos para otimizar a produção. Fernandes et al. (2004) afirmam que o açúcar proveniente da cana-de-

açúcar está entre os produtos mais consumidos pela população e a indústria açucareira cresce continuamente, não só em porte, mas também em qualidade.

2.2 Açúcar

Segundo Azcoytia (2006), o açúcar começou a ser produzido a mais de 2.500 anos, no norte de Bengala e na China Meridional. Desde que começou a ser comercializado, obteve grande êxito, de tal forma que se transformou em uma *commodity*.

A partir do século XV, com a descoberta da América, o açúcar começa a ser produzido em larga escala tornando-se mais acessível aos compradores. Segundo o Departamento de Agricultura americano (USDA, 2008), a produção mundial de açúcar, em toneladas, entre 2002 e 2007, cresceu a uma taxa média de 1,12% a.a. (% ao ano).

Os principais países produtores de açúcar são Brasil, Índia, Tailândia e China. A produção do Brasil equivale a 19% de toda a produção mundial, ou seja, 30,8 milhões ton; a produção da Índia, segunda maior produtora do mundo (16%), é de 25,1 milhões ton (Neves e Conejero, 2007). Segundo o jornal El País (2015), o mundo nunca esteve tão inundado de açúcar. Enquanto, a colheita de cana-de-açúcar cresce na Índia e na Tailândia, os agricultores do Brasil, elevam as exportações para aproveitar a queda do real, que aumenta sua margem de lucro.

Para a Conab (2015), na safra 2014/15, mesmo com os contrapontos de clima e mercado, a produção de açúcar chegou a 35,56 milhões de toneladas. Para a safra 2015/16 a expectativa é de aumento de 5%, chegando a 37,35 milhões de toneladas, mantendo o país na constante liderança da produção mundial. Cerca de 71,5% do açúcar do país é produzido na Região Sudeste, 10,5% na Região Centro-Oeste, 9,6% na Região Nordeste, 8,3% na Região Sul e 0,1% na Região Norte.

Segundo Bueno (2012), das exportações brasileiras em 2011, o açúcar foi a segunda maior *commodity* em quantidade a ser enviada para o mercado externo, ficando atrás somente da soja.

A produção de açúcar no Brasil, além do forte apelo econômico, tem forte apelo cultural. Sua metodologia de produção vem sendo conservada desde os tempos coloniais onde basicamente o caldo é evaporado, originando o xarope que segue para o cozimento, resultando na massa cozida, que pela centrifugação separará os cristais de açúcar do mel final (MARQUES et al., 2001), como pode ser visualizado

na Figura 2. Estas etapas anteriormente descritas consistem na produção de açúcar cristal, já quando o foco é a produção de açúcar refinado as etapas de dissolução do açúcar cristal, formação de massa úmida, transferência da massa a bateadeiras e secagem são necessária para que se atinja a granulometria correta (CRUZ e SARTI, 2011).

Figura 2 - Fluxograma da etapas de produção de açúcar cristal Branco e refinado, destacando as etapas, produtos e resíduos do processo

Boscariol (2005) explica que, são produzidos diversos tipos de açúcar, entre os quais podemos citar o açúcar cristal, o refinado e o VHP (*Very High Polarization*), os quais apresentam as seguintes características:

Açúcar Cristal: é o açúcar obtido por um processo de cristalização controlada, a partir de caldo de cana-de-açúcar tratado. Possui cristais finos, regulares e com alto brilho. É comercializado diretamente no mercado interno, sendo classificado de acordo com suas características físico-químicas, em Tipo 1 (Especial Extra), Tipo 2 (Especial), Tipo 3 (Superior) e Tipo 4 (*Standard*);

Açúcar VHP: o açúcar VHP é destinado ao mercado externo. Trata-se de um açúcar bruto, que permite aos seus compradores transformá-lo em diferentes tipos de açúcar para o consumo, principalmente, como açúcar refinado;

Açúcar Refinado: é o mais utilizado no consumo doméstico, por sua brancura excelente, granulometria fina e dissolução rápida, sendo usado ainda em bolos e confeitos, caldas transparentes e incolores e misturas sólidas de dissolução instantânea.

Para Andrade (2005), no Brasil, o mercado interno de açúcar divide-se em doméstico e industrial, sendo que no primeiro prevalecem os açúcares cristal e refinado; enquanto no industrial, o açúcar VHP. Esses açúcares são diferenciados pelo tamanho, grau, polarização (teor aparente de sacarose) sendo que: açúcar cristal possui uma cor branca, podendo ser comercializado dessa forma ou enviado às refinarias para obtenção do açúcar refinado. Os açúcares VHP e V-VHP (Very Very High Polarization) são conhecidos por sua cor marrom claro. Ambos são utilizados como matéria-prima nas refinarias sendo também um produto de exportação. A diferença entre os açúcares VHP e V-VHP está na polarização mínima destes produtos, 99,0 e 99,6% respectivamente. A granulometria dos cristais pode variar de 0,6 a 0,7 mm (AM) com coeficiente de variação de 35 (%) (TFOUNI, 2005).

O consumo anual brasileiro de açúcar é de 52 kg per capita, e a média mundial está em torno de 22 kg per capita. A produtividade agroindustrial teve nos últimos anos uma relevante evolução: na região Centro-Sul, a média oscila entre 78 e 80 toneladas por hectare, em ciclo de cinco cortes (VEIRA, 2014). Em São Paulo, responsável por 71,5% da produção nacional, a média está ao redor de 80 a 85 toneladas por hectare, em ciclo de cinco a seis cortes. A qualidade da matéria-prima, em São Paulo e no Centro-Sul, medida pela sacarose, está entre 14 e 15,5% de Pol (°Z), o que equivale ao rendimento médio de 140 a 155 kg de açúcares totais por tonelada de cana (INCAPER, 2015).

Logo, além do consumo, as exigências mundiais para o açúcar são crescentes na busca de um produto de alta qualidade isento de contaminantes e resíduos nocivos à saúde.

2.3 Contaminação microbiana do açúcar

O solo é a principal via de entrada de contaminantes no açúcar, principalmente após os períodos de chuva. Este abriga várias espécies de bactérias, leveduras e fungos. Os esporos, ficam aderidos às partículas de terra sendo assim carregados junto com a cana-de-açúcar durante a colheita entrando no processo de fabricação do açúcar. O tempo de exposição desta cana-de-açúcar aos contaminantes presentes no solo é suficiente para que haja proliferação dos micro-organismos presentes, uma vez que essa matéria-prima é um ótimo meio de cultura, dada as altas concentrações de nutrientes e pH favorável (GALLO, 1990).

Nas etapas subsequentes da produção de açúcar, a maior parte dos micro-organismos contaminantes são eliminados pelo processo de tratamento térmico do caldo, que chega a atingir temperaturas em torno de 110 °C. Entretanto, o tratamento térmico do caldo não elimina completamente a microbiota presente o que acaba, conseqüentemente, seguindo para as demais etapas do processamento (EVANGELISTA, 2000).

A presença de micro-organismos, carregados no caldo ao decorrer do processo de produção, pode trazer vários prejuízos para a indústria sucroenergética como a produção de dextrana pela *Leuconostoc mesenteroides* que além de acarretar em perda de sacarose produzindo polissacarídeos como dextrana provocando o entupimento de peneiras e tubulações, além do aumento da viscosidade do mel dificultando a cristalização (JESUS, 2010). Os micro-organismos ainda podem resistir ao processo produtivo do açúcar e apresentar-se no produto final representando perigo a saúde do consumidor.

Assim, atualmente, a análise e o controle microbiológico é uma exigência de várias empresas que utilizam o açúcar na elaboração dos seus produtos. Este controle analítico faz parte do laudo que garante a qualidade do produto por parte dos fabricantes (OLIVEIRA, 2010). Para a padronização e normalização destas análises foi elaborada pela *National Food Canners And Processors* uma legislação internacional contendo a quantidade máxima de micro-organismos toleráveis no açúcar (Tabela 1) (OLIVEIRA, 2010). No Brasil a Agência Nacional de Vigilância

Sanitária (ANVISA) (2001) também estabeleceu norma para a regularização dos micro-organismos contaminantes do açúcar (Tabela 2).

Tabela 1 - Padrões microbiológicos internacionais para qualidade do açúcar

Micro-organismos	Limites
Bactérias mesófilas totais	<50 UFC/g de açúcar
Leveduras e Fungos (Fungos)	<50 UFC/g de açúcar
Termófilas Esporuladas	<150 esporos/10g de açúcar
"Flat-Sour"	<75 esporos/10 g de açúcar

Fonte: adaptado de (OLIVEIRA, 2010)

Tabela 2 - Padrão microbiológico determinados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)

Grupo de alimentos de açúcares, adoçantes e similares	Microrganismo	Tolerância para amostra indicativa	Amostra indicativa tolerância para amostra representativa			
			n ⁽¹⁾	c ⁽¹⁾	m ⁽¹⁾	M ⁽¹⁾
a) açúcar refinado, sólido (moído, em grânulos e similares) ou líquido	Coliformes a 45 °C/g (mL)	5	5	2	-	5
b) açúcar cristal não refinado, açúcar mascavo e demerara, melado, melaço e rapadura e similares	Coliformes a 45 °C/g (mL)	10 ²	5	2	10	10 ²
	<i>Salmonella</i> sp 25g (mL)	Ausente	5	0	Ausente	-

⁽¹⁾ n, c, m, M representam as formas de amostragem segundo consta na Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA. (Fonte: ANVISA, 2001)

Neste sentido, cada vez mais é crescente a preocupação da indústria quanto ao controle das taxas de contaminantes presentes tanto no processo produtivo quanto no açúcar final. Para isso técnicas de assepsia e o uso de aditivos conservantes estão cada vez mais presentes na rotina das usinas.

O uso de aditivos alimentares sulfitantes como dióxido de enxofre (SO₂) e os sais de cálcio, sódio e potássio são amplamente utilizados na indústria de açucareira para a clarificação e aumento da conservação do produto, pois além de inibirem as reações promotoras de cor como o escurecimento enzimático e não enzimático que ocorrem durante as etapas de processamento e estocagem do açúcar, possuem a

função de inibir o crescimento de fungos, leveduras e bactérias (FAVERO; RIBEIRO; AQUINO, 2011).

2.4 Clarificação de calda na produção de açúcar refinado

Para Crema (2012) a primeira etapa do processo de fabricação do açúcar refinado consiste na dissolução em água do açúcar cristal gerando uma calda. Esta solução é submetida a um novo processo de purificação, gerando outra calda. A calda gerada no processo de purificação é aquecida até um ponto estabelecido. Em seguida, ela é transferida para bateadeiras, que a transforma numa massa quente e úmida de açúcar. Nesta etapa, os cristais não têm uma forma definida. Para secar e esfriar, o açúcar é enviado para secadores com passagem de ar quente e frio. O açúcar então é peneirado para separar os aglomerados e obter a uniformidade dos cristais. Da parte mais fina é extraído o açúcar de confeitiro e do restante, obtém-se o açúcar refinado.

Para as refinarias o processo de clarificação do açúcar pode ser realizado durante a etapa de refino, especificamente depois da dissolução dos açúcares como o demerara, VHP ou V-VHP, esta quando realizada consiste na adição do açúcar a água até obter uma calda com a concentração de 66 °Brix (MANTELATO, 2005).

A clarificação e purificação da calda de açúcar é uma das etapas mais importantes na produção de açúcar refinado a partir de açúcares cristais com alta cor ICUMSA como o VHP, pois esta influencia as etapas subsequentes do processo para obtenção de produto de boa qualidade (CREMA, 2012).

A clarificação da calda no Brasil, geralmente se baseia nos processos convencionais de produção de açúcar, o mesmo realizado para a clarificação do caldo, sendo este a sulfitação, que emprega o dióxido de enxofre (SO₂).

2.5 Clarificação do açúcar por processo de sulfitação: problemática envolvida

A clarificação dos açúcares presentes no caldo é uma das etapas mais importantes nas usinas açucareiras, e visa à obtenção de um caldo livre de impurezas, envolvendo etapas de peneiramento, tratamento químico, aquecimento, decantação e filtragem do caldo (DAL-BEM; KOIKE; PASSARINI, 2006). Nas usinas, a qualidade do açúcar está associada diretamente à eficiência do processo de

clarificação do caldo. A falta de um tratamento eficaz se traduz em um açúcar de menor qualidade, com forte presença de cor e pontos pretos (SIMIONI et al., 2006).

No Brasil, os método mais empregado para a clarificação do açúcar é a sulfitação. Para a realização da sulfitação o insumo enxofre é queimado nos fornos para obtenção do dióxido de enxofre. Segundo Honig (1953), o processo consiste, basicamente, na adição de dióxido de enxofre gasoso (SO_2) ao caldo misto, pré-aquecido a temperatura de 60 °C, até atingir o valor de pH entre 3,8 e 4,2 (aproximadamente 150 a 300 g de enxofre por tonelada de cana-de-açúcar) e posterior alcalinização com leite de cal até pH 7,0-7,2.

Durante a sulfitação, ocorre a reação, com a água quando o gás é passado em contracorrente com o caldo, como está descrito na Equação 1. O dióxido de enxofre em contato com a água reagirá formando ácido sulfuroso, o qual em solução conterá H_2SO_3 molecular não dissolvido e íons dissolvidos de HSO_3^- (DELGADO; CÉSAR, 1990):

Depois que o caldo sulfitado é neutralizado, há formação de sulfito de cálcio, composto pouco solúvel, que adsorve compostos coloridos e outras impurezas. O caldo é aquecido a temperatura de 100-105 °C e conduzido aos sedimentadores para que os compostos precipitados sejam removidos (DELGADO; CESAR, 1990). Nesse sentido a sulfitação se apresenta como um processo indispensável na usina, para a produção de açúcar com menor coloração.

O processo de sulfitação porém, tende a liberar resíduos tóxicos prejudiciais ao meio ambiente e potenciais problemas de saúde pública. Segundo USDA (1998), uma em cada 100 pessoas é sensível aos sulfitos e 5% das pessoas asmáticas, também podem ser induzidas a terem episódios de asma ou broncoespasmos após a ingestão de alimentos com sulfito. Assim como, outros indivíduos sensíveis ao sulfito que potencialmente apresentam sensações de desconforto na garganta, congestionamento no peito, tosse, hipotensão e dermatite de contato (POPOLIM, 2009).

O mecanismo pelo qual os sulfitos causam reações adversas ainda não é bem conhecido e as hipóteses ainda são controversas. A hipótese mais aceita na literatura é a de que o dióxido de enxofre gasoso produzido pelo contato dos

agentes sulfitantes com o pH ácido do estômago pode ser inalado e produzir broncoconstrição através da indução de reflexo colinérgico no contato direto com as membranas traqueobrônquicas. Esta situação é particularmente importante nos indivíduos asmáticos com maior hiper-reatividade brônquica (AUN et al., 2011).

O governo do país do Canadá, em parceria com instituições, divulgou uma cartilha na qual esclarece dúvidas sobre o sulfito, que é considerado um dos dez alimentos alergênicos prioritários, no site Health Canadá. Na cartilha estão descritos os principais sintomas causados pela alergia e quais pessoas estão suscetíveis ao sintomas, além de propor medidas de regularização e rotulação indicativa da presença de sulfito no alimento (HEALT CANADA, 2012).

Enfatiza-se também a preocupação existente de outros países como a Comunidade Europeia e Estados Unidos com a quantidade de aditivos alimentares como o sulfito presente nos alimentos e a importância da limitação quanto a seu uso.

2.6 Consequências do uso de aditivo sulfitante no açúcar

Aditivo alimentar é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento (ANVISA, 1997).

O uso de conservadores e outros aditivos alimentares em diferentes países é limitado por legislações específicas, estabelecidas com base na segurança de uso e necessidade tecnológica. O Brasil, assim como outros países, segue as recomendações do JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) na utilização segura dos aditivos em alimentos (BRASIL, 1997).

Segundo a legislação da ANVISA, RDC nº 8, de 06 de março de 2013 os limites máximos para aditivos sulfitantes como o dióxido de enxofre que é aplicado na indústria de açúcar são os descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Limites estabelecidos para aplicação de aditivos alimentares sulfitantes (ANVISA, 2013)

INS ⁽¹⁾	Aditivos	Limite máximo (g/100g ou g/100ml)
220	Dióxido de enxofre, anidrido sulfuroso	
221	Sulfito de sódio	
222	Bissulfito de sódio, sulfito ácido de sódio	
223	Metabissulfito de sódio	0,01 (como SO ₂ residual) sozinhos ou em combinação
224	Metabissulfito de potássio	
225	Sulfito de potássio	
226	Bissulfito de cálcio, sulfito ácido de cálcio	
227	Bissulfito de potássio	

⁽¹⁾ INS: sistema internacional de numeração de aditivos

No entanto, segundo Who (2000), alimentos como alto consumo diário como o açúcar, pode resultar em valores de ingestão acima da Ingestão Diária Aceitável (IDA = 0,7 mg/kg peso corpóreo/dia, expressa como SO₂), quando o nível residual de sulfitos nesse alimento se aproximar do limite máximo permitido. Além disso, por se tratar de substâncias químicas adicionadas aos alimentos, para estas tornam-se fundamentais o conhecimento e esclarecimento de suas restrições e contra indicações, de maneira a garantir a segurança do produto e do consumidor. Pois assim como as drogas, a ampla utilização de substâncias químicas aditivas em alimentos são capazes de desencadear reações adversas (AUN et al., 2011).

Neste sentido, alguns métodos alternativos vem sendo propostos para a obtenção de um produto final com menor porcentagem ou isento de resíduos químicos nocivos a saúde como é o caso do processo oxidativos avançados na busca por alternativas mais viáveis.

2.7 Processos oxidativos como alternativa para clarificação

Frente ao fato de que, o processo de tratamento por sulfitação do caldo de cana-de-açúcar para a produção de açúcar branco, envolve um passivo ambiental, além

de vários inconvenientes, tais quais: irregularidades no processo, dificuldades operacionais, problemas de estocagem do enxofre, perda de sacarose por inversão, solubilização não perfeita do SO₂ gasoso no caldo (CHOU et al., 2006), desconforto no ambiente de trabalho das fábricas, corrosão em metais nas instalações industriais (RUAS, 1993) e os efeitos negativos na saúde do consumidor devido ao enxofre remanescente no açúcar. Neste sentido, alguns métodos têm sido propostos para a clarificação do caldo, xarope, ou ainda, do açúcar, aplicando uma variedade de metodologias para obter um melhor produto, em termos de cor final do açúcar (ARAÚJO, 2006).

Segundo Araújo (2007), os mercados interno e externo, tendem cada vez mais inserir em sua alimentação produtos mais saudáveis isentos de agrotóxicos, resíduos tóxicos de processos de fabricação e conservantes. Logo, o consumo do açúcar branco isento de resíduos de enxofre é uma realidade no mercado mundial. Desta forma, visando novos procedimentos mais seguros para a redução na coloração dos pigmentos presentes no caldo de cana-de-açúcar e, conseqüentemente, no açúcar final, a alternativa que tem sido cada vez mais empregada para a redução destes pigmentos são os processos oxidativos como peróxido de hidrogênio, ozônio, dentre outros que são agente altamente oxidante e reativo, que promovem a decomposição de matérias orgânicas (BOURZUTSCHKY, 2005; CLARKE; BLANCO; GODSHALL, 1985).

Os agentes oxidantes reagem sobre compostos orgânicos que podem ser mineralizados parcialmente ou totalmente (EPA, 1998).

2.8 Peróxido de hidrogênio

O peróxido de hidrogênio com fórmula molecular H₂O₂ (Figura 4), também conhecido como dióxido de hidrogênio, hidroperóxido ou, popularmente, água oxigenada, apresenta peso molecular 34,02 g/mol, distribuídos em 5,94% de H e 94,06% de O. Apresenta ponto de fulgor -0,43°C, temperatura de ebulição e fusão 141 e -11 °C, respectivamente, apresenta-se como um líquido transparente, de aparência similar a água e odor característico, não inflamável, miscível em água, sendo comercializado como solução aquosa em concentrações de 20-60% (v/v) (MERCK INDEX, 1996).

Figura 3 - Estrutura química do peróxido de hidrogênio (A) estrutura planar; (B) estrutura espacial

Dos potenciais padrões de redução de várias espécies de oxidantes, representados na Tabela 4 (EPA, 1998), observasse que o peróxido de hidrogênio é um dos mais versáteis, sendo superior ao cloro, dióxido de cloro, oxigênio molecular e permanganato de potássio.

Tabela 4 - Potencial de oxidação de diferentes oxidantes em água (EPA, 1998)

Oxidante	Potenciais padrão de redução (V)
Radical Hidroxila ($\bullet\text{OH}$)	2,80
Oxigênio Singlete ($\text{O}\bullet$)	2,42
Ozônio (O_3)	2,07
Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2)	1,77
Radical Hidroperóxido (HO_2^-)	1,70
Flúor (F_2)	3,08
Íon permanganato (MnO_4^-)	1,67
Dióxido de Cloro (ClO_2)	1,50
Cloro (Cl)	1,36
Oxigênio Molecular (O_2)	1,23

Através de catálise, o H_2O_2 pode ser convertido em radical $\bullet\text{OH}$ uma espécie altamente reativa, podendo assim ser empregado de duas formas, como agente redutor ($\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{OH}^- \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^-$, -0,15 V) ou agente oxidante ($\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$; 1,77 V), ambos com alta eficiência (SCHUMB; SATTERFIELD e WENTWORTH, 1955; EVERSE; EVERSE; GRISHOM, 1991).

Em contraste com o método da sulfitação, em que são gerados produtos tóxicos em sua decomposição, ao utilizar o peróxido de hidrogênio isso não ocorre, já que o produto gerado é a água, o que se torna um atrativo, visto as crescentes preocupações com o meio-ambiente e a saúde humana.

2.8.1 Atuação do peróxido de hidrogênio na indústria de alimentos

Fairbanks (2009) explica que o uso do peróxido de hidrogênio na indústria de alimentos e nas usinas brasileiras já é uma realidade para o branqueamento de bucho, de mocotó e até mesmo de açúcar. Na indústria de alimentos a dosagem do peróxido de hidrogênio é tipicamente controlada para assegurar que uma concentração mínima de peróxido de hidrogênio permaneça e se mantenha ao fim do processo, sendo que esta quantidade residual deverá ser decomposta nas etapas subsequentes do processamento, tais como a secagem. Em casos onde há excesso de resíduo de H_2O_2 após todas as etapas do processamento de um alimento, a adição de catalase pode destruir o excesso remanescente (SOLVAY, 2005).

O peróxido de hidrogênio atua nos compostos coloridos, como, melanoidinas, melaninas, caramelos, amido, aminoácidos e polifenóis, os quais são formados durante o processo de obtenção do açúcar, transmitindo cor ao caldo e ao xarope, o que reflete na tonalidade da cor do açúcar final. É possível nesse tratamento a remoção de substâncias promotoras de cor já existentes no caldo *in natura*, e até mesmo as que são formadas durante o processamento na etapa sulfitação. Além disso, o peróxido reflete na diminuição e até mesmo eliminação no teor de SO_2 presente no açúcar obtido por sulfitação (ACCORSI; PERETTI; FONTANA, 1988; MANE et al., 1992; 1998; 2000).

O peróxido de hidrogênio atua também na diminuição dos teores de cinza e de viscosidade e aumento na pureza do xarope pela remoção dos não-açúcares (MADSEN et al., 1978; MANE et al., 1998; 2000).

Para Davis et al. (2000), a cor do açúcar refinado estocado que passou pelo processo de peroxidação se preserva sem sofrer alterações durante o período de armazenamento. O que possibilita ao método a manutenção da brancura do açúcar durante longos períodos de estocagem, isso porque segundo Mane et al. (2000), no método há a predominância de reações irreversíveis durante a destruição das substâncias corantes.

Barrault et al. (2007) explicam que as condições de reação requeridas para o uso do H_2O_2 são simples e próximas às condições ambientais, ou seja, 0,1-0,5 MPa de pressão e temperaturas menores que 80 °C, permitindo a decomposição de uma série de compostos orgânicos, com baixo consumo energético (MADSEN et al., 1978).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Reagentes e soluções

Os seguintes reagentes foram usados: Peridrol a 35% (v/v); Açúcar VHP (97,2 polarização) doado pela Usina Iracema (Iracemópolis/SP); Catalase (lyophilized power, 2000 – 5000 units/mg protein – Sigma-Aldrich; Padrões de HPLC: Sacarose, Glicose e Frutose (Sigma-Aldrich) e Acetonitrila (Tedia-Pureza: Grau HPLC).

As soluções utilizadas durante o desenvolvimento de trabalho foram de grau analítico: ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS), ácido sulfúrico 0,1 mol.L⁻¹ e hidróxido de sódio 0,1 mol.L⁻¹.

Os meios de cultura usados foram: Batata Dextrose Ágar (BDA) e Plate Cout Ágar (PCA).

3.2 Caracterização do peróxido de hidrogênio

Para a caracterização da solução de peróxido de hidrogênio utilizada em todos os tratamentos, foi determinado o teor de peróxido livre e ativo presente, segundo a metodologia descrita por Brasil (2016), em que se utiliza solução a 0,1 mol.L⁻¹ de permanganato de potássio (KMnO₄) como solução indicadora de HCL 0,1 mol.L⁻¹ por titulometria.

3.3 Condução da reação

Para o norteamto das análises foi elaborado um delineamento composto central 2³ completo com 3 pontos centrais e 6 pontos axiais, o mesmo foi realizado com o intuito de obter as melhores condições para redução de cor da calda pelo peróxido de hidrogênio. Os fatores estudados foram pH, temperatura (°C) e doses de H₂O₂ (ppm). Os valores utilizados nos tratamentos realizados estão descritos nas Tabelas 5.

Tabela 5 - Delineamento composto central 2³ com 3 pontos centrais e 6 pontos axiais

Parâmetros	- α (1,68)	-1	0	+ 1	+ α (1,68)
pH	1,64	3,0	5,0	7,0	8,36
Temperatura (°C)	16,4	30	50	70	83,6
H ₂ O ₂ (ppm)	0	202,4	500	797,6	1000

O açúcar foi misturado à água até atingir a concentração de 66 ± 3 °Brix, para que se obtivesse uma calda, em seguida foram feitos tratamentos, onde em um Erlenmeyer foi combinado 200 mL de calda de açúcar, solução de peridrol a 35 % (ppm) e pH previamente estabelecidos nos tratamentos do delineamento composto central. A mistura foi colocada em um incubadora orbital previamente termostatizado a diferentes temperaturas conforme indicação das condições experimentais estabelecidas. A reação foi processada com agitação constante (100 rpm), por tempo reacional fixo de uma hora (Figura 5). No fim da reação foi adicionado catalase proveniente de fígado de boi para promover o término da ação do H_2O_2 . As amostras foram avaliadas quanto aos parâmetros de processo. As análises e avaliações paramétricas foram feitas em triplicata e seus resultados expressos como a média e seu desvio-padrão.

Figura 4 – Layout exemplificado da reação de peroxidação realizado em um banho saker com agitação orbital de 100 rpm

3.4 Análise composicional e química da calda de açúcar bruto do tipo VHP peroxidada

3.4.1 Teor de sólidos dissolvidos

Para a análise do teor de sólidos dissolvidos (Brix) das amostras de calda de açúcar foi utilizado um refratômetro de bancada (Bellingham+Stanley Ltd.), previamente calibrado com água destilada segundo metodologia descrita por CTC (2011a).

3.4.2 Determinação de cor ICUMSA

A análise de cor ICUMSA foi feita segundo o método GS1/3-7 (2011) da ICUMSA Methods Book. Para a análise, as amostras foram medidas quanto ao °Brix e diluídas a 30 °Brix em triplicata. Posteriormente, estas foram filtradas com membrana de filtro de nitrato de celulose (tamanho do poro 0,45 µm) e corrigida para pH $7 \pm 0,05$ com ácido clorídrico ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) e hidróxido de sódio ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$), sendo em seguida, lidas em espectrofotômetro a uma absorbância de 420 nm com cubeta de quartzo de 1 cm. O índice de cor ICUMSA das amostras de calda de açúcar foi analisado com a Equação 2:

$$\text{Cor ICUMSA (420 nm)} = \frac{\text{ABS}}{(b \times c)} \times 1000 \quad \text{Equação 2}$$

Em que:

b: Percurso ótico da célula (cm),

c: Concentração de sacarose (g/mL) na solução açucarada em função do °Brix a 20 °C.

3.4.3 Determinação de açúcares redutores

A determinação do teor de glicose e frutose (AR), das amostras de calda de açúcar foi realizada pelo método espectrofotométrico do ácido 3,5-dinitrosalicílico (3,5-DNS) (MILLER, 1959) onde, em um tubo ensaio de 25 mL foi adicionado 1 mL de amostra e 1 mL de 3,5-DNS, colocando-se o tubo em um banho com água fervente durante 5 minutos para ocorrer a reação, posteriormente foi completado o tubo até a marca de 25 mL com água destilada e lido em espectrofotômetro a uma absorbância de 520 nm com cubeta de quartzo de 1 cm. Antes das leituras o espectrofotômetro foi zerado com uma amostra em branco, apenas contendo água destilada, esta passava pelos mesmos processos decorrentes do método descrito acima.

3.4.4 Determinação de percentagem de sacarose

A dosagem de sacarose foi realizada de acordo com metodologia descrita por Shimadzu Applications News (2015). A sacarose foi determinada usando-se cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) com detector de espalhamento de luz evaporativo (UFLC/ELSD-LT). Como fase móvel foi utilizada uma solução mista de acetronitrila/água na proporção de 70/30, previamente filtrada contra membranas de

0,45 µm, bem como as amostras. A coluna utilizada foi a de poliamina (Kromasil 100 NH₂ 5 µm 250 × 46 mm), termostatizada a 30 °C no sentido de evitar flutuações na resposta do detector. As condições de trabalho foram: fluxo de 1,0 mL/min, temperatura do detector igual a 35 °C, pressão de 350 kPa e nitrogênio foi usado como gás de nebulização. As análises foram realizadas em triplicada após injeção de 5 µL de cada amostra. Antes das análises quantitativas de sacarose, soluções-padrão foram preparadas para a elaboração das curvas de calibração (0,1 a 0,5 g/L).

3.4.5 Determinação de turbidez

Para determinar a turbidez da calda de açúcar bruto do tipo VHP foi utilizado um turbidímetro de bancada TecnoPON TB-1000 (Piracicaba, Brasil), previamente calibrado com padrões de 0,1, 0,8, 8,0, 80 e 1000 NTU, fornecidos pela mesma empresa.

Para a análise, as amostras foram diluídas a 30 °Brix, devido a sua viscosidade e posteriormente foram realizadas leituras no turbidímetro, avaliando o aumento de partículas no meio.

3.4.6 Determinação do potencial hidrogeniônico

Para determinar o pH da calda de açúcar do tipo VHP foi utilizado um pHmetro de bancada Tecnal (pHmeter Tec 2), previamente calibrado com padrões.

3.5 Caracterização do açúcar VHP

3.5.1 Polarização (Teor aparente de sacarose)

Para a análise de polarização, as amostras de açúcar a serem analisadas foram homogeneizadas e pesadas a 52 g em frascos de Becker de 250 mL. Posteriormente, a amostra foi diluída em balão de 200 mL e desta uma parcela de 150 mL foi retirada e misturada com subacetato de chumbo e filtrado em papel de filtro por último a amostra foi lida em sacarímetro digital (ADS 420, Bellingham + Stanley Ltd., 2009).

3.5.2 Cinzas condutimétricas

O teor de cinza das amostras de açúcar foi feito através da medida da condutividade a partir de uma solução 5% segundo metodologia 923-03 (AOAC, 1996; CTC, 2011b).

3.5.3 Determinação de proteína

Para a determinação do teor de proteína do caldo, primeiramente foi realizado a digestão da amostra, em que se adiciona em tubo do tipo Bücchi, 20 mL de ácido sulfúrico puro, 15 g de catalisador (1,36 g de sulfato de cobre + 13,64 g de sulfato de sódio) e 1 g de amostra seca. Este conjunto foi colocado em bloco digestor por aproximadamente 4 horas.

As amostras digeridas foram acopladas no destilador de nitrogênio Bücchi, que libera o nitrogênio da amostra para frascos de Erlenmeyer com solução de ácido bórico 4% + indicador misto (0,132 g de vermelho-de-metila + 0,066 g de verde-de-bromocresol diluído em 70 mL de álcool etílico) permitindo a formação de um composto que deixava a solução esverdeada. Posteriormente, a solução presente no Erlenmeyer foi titulado com ácido clorídrico 0,1 mol.L⁻¹ até atingir a coloração rosa claro.

$$\%N = \frac{\text{HCL(mL)} - \text{Branco(mL)} \times \text{HCL}\left(\frac{\text{mol}}{\text{L}}\right) \times 14,007 \times 100}{\text{peso da amostra(mg)}} \quad \text{Equação 3}$$

3.5.4 Umidade do açúcar

A umidade da amostra de açúcar foi determinada através da perda de peso por secagem a 100-105 °C em estufa à pressão atmosférica (CTC, 2011c).

3.5.5 Granulometria (abertura média e coeficiente de variação)

Para a análise da granulometria foram pesados 100 g de açúcar e que foram adicionados a um jogo de peneiras e, posteriormente, foi inserido em agitador mecânico na seguinte ordem: Peneira ABNT N°16, Peneira ABNT N°20, Peneira ABNT N°30 e recipiente de fundo. O resultado foi obtido através da Equação 3 (ICUMSA *Methods Book*, 2011).

$$AM \text{ (mm)} = A_{50}$$

$$CV(\%) = \frac{A_{16} - A_{84}}{2 \times A_{50}} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

AM= abertura média

CV= coeficiente de variação em %

A₅₀= abertura média (AM) da peneira que retém 50% da massa de cristais, em mm

A₁₆= abertura da peneira que retém 16% da massa de cristais, em mm

A₈₄= abertura da peneira que retém 84% da massa de cristais, em mm

3.6 Cinética química da reação de peroxidação das amostras de açúcar bruto tipo VHP

Para a cinética foi utilizado, inicialmente, um delineamento composto central diferente do utilizado anteriormente, pois com as primeiras análises foi possível observar que os intervalos de pH deveriam ser refeitos para os valores que estão descritos na Tabela 6.

A calda de açúcar VHP (66 °Brix) foi submetida a cinética química, diante a um delineamento composto central 2³ com 3 pontos centrais e 6 pontos axiais (Tabela 6) onde cada ponto foi analisado ao tempo reacional de uma hora e trinta minutos, sendo ao longo da reação realizada amostragens nos tempos de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 75 e 90 min. Com o término da reação as amostras foram analisadas quanto ao °Brix, turbidez, pH, cor ICUMSA e percentagem de sacarose como descrito nos itens 3.4.1, 3.4.2, 3.4.4, 3.4.5 e 3.4.6. Todas as amostras foram analisadas em forma de triplicata nos 12 pontos retirados.

Tabela 6 - Delineamento do planejamento composto centra 2³ com 3 pontos centrais e 6 pontos axiais

Parâmetros	- α (1,68)	-1	0	+ 1	+ α (1,68)
pH	3,32	5,0	7,5	10,0	11,68
Temperatura (°C)	16,4	30	50	70	83,6
H ₂ O ₂ (ppm)	0	202,4	500	797,6	1000

3.7 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas da calda de açúcar do tipo VHP foram realizadas para as amostras obtidas no tratamento cinético descrito no item 3.6. Para isso foram analisados os tempos 0, 30, 60 e 90 min do ponto de menor cor ICUMSA (Tratamento 15), do ponto central com menor cor ICUMSA (Tratamento 9), do ponto com maior dosagem de H₂O₂ (Tratamento 17) e do ponto sem dosagem de H₂O₂ (Tratamento 16). As análises realizadas foram contagem de bactérias mesófilas

totais (aeróbias) e a contagem de fungos e leveduras segundo a metodologia descrita por Silva et al. (2007).

3.7.1 Contagem de bactérias mesófilas totais

Para contagem de bactérias mesófilas totais a técnica utilizada foi “pour-plate”. Inicialmente foram feitos testes de diluição em concentrações de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , com o intuito de obter a melhor diluição para se trabalhar. Primeiramente uma alíquota de 1,0 mL da amostra pura foi diluída em um tubo contendo 9 mL de solução salina (0,85% de NaCl) para se obter a diluição de 10^{-1} . A solução foi agitada e em seguida, 1 mL da solução de 10^{-1} foi transferida para um segundo tubo contendo 9 mL da solução salina, a fim de se obter a diluição na ordem de 10^{-2} . O processo se repetiu mais 2 vezes de forma a se obter as diluições de 10^{-3} e 10^{-4} .

Após obter as quatro diluições, 1 mL de cada solução diluída era espalhada no fundo das placas de Petri, previamente nomeadas com seus fatores de diluição. O espalhamento da alíquota diluída de cada amostra foi feita por todo o fundo da placa de forma a se obter uma melhor distribuição. Em seguida verteu-se aproximadamente 15 mL de meio *Plate Count Agar* (PCA) (DIFCO Laboratories, USA) difuso, resfriado e esterilizado em cada uma das placas. O preparo do meio foi feito segundo as instruções do próprio fabricante, de 23,5/g de PCA para cada litro de meio líquido preparado. A mistura do meio com o inóculo foi feita em uma superfície plana com aproximadamente dez movimentos na forma de oito em sentido horário e dez movimentos no sentido anti-horário, a fim de se obter a maior homogeneização possível das placas. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 48 ± 3 h, sendo que todo o procedimento foi realizado em triplicata e os resultados descritos através da soma da contagem das três placas e expressos em UFC bactérias/mL de amostra ou UFC/mL.

As placas utilizadas foram de material descartável, portanto, não houve necessidade de esterilização deste material. O material restante utilizado, como as ponteiras, o meio de cultura PCA contido em um Erlenmeyer, a solução salina de NaCl (0,85%) e os tubos de diluição foram esterilizados em uma auto clave por 15 minutos a 1 atm e 105 °C. A sala de preparo, os materiais utilizados como a pipeta e a tabela de fluxo laminar foram esterilizados com luz UV por aproximadamente 30 minutos e previamente desinfetados com álcool 70%.

Após a realização dos testes de diluição, foram determinadas quais as melhores diluições para se trabalhar com os quatro tratamentos. O Tratamento 16, realizado sem a adição de H_2O_2 , foi analisado com a diluição de 10^{-1} e os demais tratamentos foram analisados sem ser necessária a realização de diluição das amostras.

O processo de plaqueamento foi repetido como descrito para o teste de diluição, utilizando 1 mL da amostra diluída ou não em cada placa. Após a inoculação e solidificação do meio, as placas foram incubadas em estufa a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 ± 3 h e os resultados descritos através da soma da contagem das três placas e expressos em UFC de bactérias/mL.

3.7.2 Contagem de fungos e leveduras

Para contagem de fungos e leveduras também foram feitos testes de diluição em concentrações de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , com o intuito de obter a melhor diluição para se trabalhar. Para as amostras selecionadas o único tratamento que utilizou diluição foi o tratamento que não continha H_2O_2 , o Tratamento 16 onde a diluição necessária foi a de 10^{-1} , sendo os demais tratamentos analisados sem a necessidade de diluição.

A contagem de fungos e leveduras também foi realizada pela técnica de “pour-plate”. O meio utilizado foi o *Batata Dextrose Ágar* (BDA), preparado na quantidade de 39 g de BDA para cada litro de meio líquido, segundo instruções fornecidas pelo fabricante (FlukaAnalytical). A infusão de batata e a dextrose na formulação do meio promovem um abundante crescimento fúngico. O meio foi acidificado com ácido tartárico (Labsynth, Brasil) 10% (m/v), sendo utilizado 1 mL de ácido para cada 100 mL de meio preparado, com o objetivo de inibir o crescimento bacteriano.

O procedimento de teste de diluição e de inoculação das amostras para a análise de fungos e leveduras foi feito da mesma forma que o utilizado na técnica de bactérias mesófilas totais descrita anteriormente, com a inoculação de 3 placas para cada amostras dos quatro tratamentos selecionados, sendo analisados quatro pontos de cada tratamento. Após a inoculação e solidificação do meio, as placas foram incubadas em estufa à 30°C durante 73 horas e os resultados descritos através da soma da contagem das três placas e expressos em UFC de fungos e leveduras/mL.

Todo o material, bem como a sala de preparo foram previamente esterilizados com álcool 70%, luz UV e aquecimento em autoclave como o realizado para a metodologia anterior de bactérias totais.

Ao final de todas as análises, tanto de bactérias totais quanto de fungos e leveduras, assim como os testes de diluição, o material foi descartado, sendo primeiro esterilizado em autoclave à 1 atm e 121 °C por 15 minutos.

3.8 Redes neurais artificiais (RNA)

Modelos matemáticos e de engenharia de neurônios biológicos deram origem a teoria de Redes Neurais (KOVACS, 1996). Foi estruturada uma rede neural artificial (RNA) com as amostras da cinética, na qual admitirá a realização de simulações de situações que foram encontradas no laboratório prevendo, de maneira empírica, os resultados similares aos obtidos experimental baseado nas condições atribuídas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do açúcar cristal bruto (tipo VHP)

O açúcar VHP foi caracterizado em triplicata conforme as análises de polarização, pH, cinzas, umidade, granulometria, turbidez, proteína, cor ICUMSA, açúcares totais e açúcares redutores como é possível ver na Tabela 7. Dentre as análises realizadas e segundo a portaria nº152, de 06 de dezembro de 2013, elaborada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2013), disponível como consulta pública, as análises de caráter normalizador para açúcar VHP são: polarização (Min. 99 °Z), umidade (Max. 0,25%), cinzas (Max. 0,25% m/v) e cor ICUMSA (Max. 2.500 UI). Nos parâmetros estabelecidos e evidenciados acima, a amostra de açúcar VHP testada mostrou-se dentro das normas e exigências (Tabela 7), exceto pela polarização (97,21 °Z) que apresentou valor 1,8 % menor que o valor mínimo estabelecido pelo MAPA. A polarização define a porcentagem de sacarose no açúcar, então quanto maior é a polarização de um açúcar maior é sua pureza (OLIVEIRA; ESQUIAVETO; SILVA JÚNIOR, 2007).

Tabela 7 - Dados da caracterização e padronização da amostra de açúcar VHP em comparação com parâmetros estabelecidos pelo MAPA.

Caracterização	Amostra açúcar VHP	VHP (MAPA)	² Δ (%)
Polarização (°Z)	97,21 ±0,08	99,0	-1,8
Cinzas (%)	0,07 ±0,001	0,25	-72
Proteína (%)	0,45 ±0,00	-	-
Cor ICUMSA (IU)	407,65 ±40	2500	-84
pH	6,56 ±0,01	-	-
Umidade (%)	0,03 ±0,004	0,25	-88
¹ Sacarose(mg/ml)	707,00 ±0,74	-	-
¹ AR (g/l)	1,4 ±0,001	-	-
Granulometria (CV %)	19,09 ±0,00	-	-
(AM mm)	90 ±0,00	-	-
Turbidez	16,93 ±0,06	-	-

¹Valores referentes a calda de 66 °Brix e ² Diferença entre o obtido experimentalmente e o exigido pelo MAPA

4.2 Planejamento e otimização dos parâmetros da redução de cor ICUMSA em calda de açúcar VHP por peroxidação

4.2.1 Cor ICUMSA e turbidez da calda após tratada com peróxido de hidrogênio

Uma vez a amostra caracterizada, iniciou-se o processo de peroxidação em um sistema modelo enunciado por um delineamento composto central 2^3 completo com 3 pontos centrais e 6 pontos axiais, onde estabeleceu-se uma combinação entre três variáveis: pH, temperatura e H_2O_2 em concentrações por ppm.

Na Tabela 8, é possível observar que a turbidez de todos os tratamentos aumentaram em relação ao da amostra bruta (Tratamento 0), sugerindo que houve a formação de partículas maiores na calda quando em reação com o agente clarificante (H_2O_2), sendo possível ainda observar que no Tratamento 16 que não continha adição de H_2O_2 , apresentou valor de turbidez de 29 NTU, obtendo o menor valor dentre os 17 tratamentos relacionados, já para o Tratamento 17 que continha a maior concentração de H_2O_2 o aumento foi de 142 NTU em relação ao valor da amostra bruta de 17 NTU, o que reforça a ideia de que H_2O_2 agiu como precipitante na solução. Para Chunhong (1993 apud SARTORI et al., 2015) a formação de precipitados acontece a partir da reação entre derivados de não-açúcares com o H_2O_2 . Para Cahill e Burkhart (1990) e Nikonov, Tananaev e Myasoedov (2010) diversos tipos de compostos são altamente hidrolisáveis na presença de H_2O_2 , levando a consequente formação de precipitados no meio.

A redução de cor ICUMSA ocorreu em todos os tratamentos exceto no Tratamento 16 (pH=5, temperatura=50 °C e H_2O_2 = 0) como podemos observar na Tabela 8, isso porque o ensaio 16 foi aquecido sem adição de agente clareador e segundo Fennema (2000) o aquecimento de carboidratos, em especial de sacarose e de açúcares redutores, produz uma série de reações complexas, promotoras de cor, comumente conhecidas como caramelização. Dentre os tratamentos, a redução de cor ICUMSA ocorreu de forma mais abrangente no Tratamento 15 (pH=5, temperatura=83,6 °C e H_2O_2 = 500 ppm), que obteve redução de 70% da cor ICUMSA inicial e nos pontos centrais do planejamento 9, 10 e 11 (pH=5, temperatura=50 °C e H_2O_2 = 500 ppm) que reduziram em média 67, 65 e 66%. Diante disto é possível apontar estes 4 tratamento como os mais satisfatórios do experimento na redução da cor ICUMSA inicial da calda.

Tabela 8 – Porcentagem de redução de cor ICUMSA dos tratamentos realizados sobre delineamento composto central

Tratamento	pH	Temperatura (°C)	H ₂ O ₂ (ppm)	Turbidez (NTU)	Redução de cor ICUMSA (%)
0	¹ 6,56	Ambiente	0	17±0,06	0%
1	3	30	202.4	102±1,53	15%
2	7	30	202.4	111±4,36	18%
3	3	70	202.4	61±3,21	44%
4	7	70	202.4	87±25,5	53%
5	3	30	797,6	108±2,08	36%
6	7	30	797,6	128±0,58	22%
7	3	70	797,6	117±2,08	54%
8	7	70	797,6	91±15,0	59%
9	5	50	500	138±8,54	67%
10	5	50	500	124±22,4	65%
11	5	50	500	135±6,66	66%
12	1,64	50	500	109±9,29	14%
13	8,36	50	500	115±3,21	54%
14	5	16,4	500	118±6,03	61%
15	5	83,6	500	125±2,52	70%
16	5	50	0	29±3,46	-7%
17	5	50	1000	142±2,65	51%

¹Valor referente ao pH inicial da calda

4.2.2 Superfície de resposta e diagrama de Pareto para análise de cor ICUMSA com ênfase nas combinações entre temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio

Devido a desuniformidade do açúcar VHP por conta do tempo de armazenamento e excesso de pontos pretos, todos os tratamentos foram realizados através da análise da amostra bruta que posteriormente foi dividida ao resultado da amostra peroxidada equivalente (cor_f/cor_i), o que caracterizou os dados em resultados normalizados. Os fatores (pH, temperatura e H₂O₂) foram executado dois a dois no programa Statistica trial 11 para analisar a relevância da interação entre as variáveis presentes no estudo. Na Figura 6a e 6b é possível observar que o melhor resultado de pH foi de 7,0 até o ponto extremo (8,36), sugerindo que o delineamento apresentaria melhor resposta em uma gama maior de pH mais alcalinos, o que

teoricamente provocaria a concavidade ótima da superfície. Em estudo, Mane, Phadnis e Jadhav (1992) apontaram que o uso de H_2O_2 para a redução de cor ICUMSA foi eficiente em pH alcalinos. Na Figura 7 é possível observar concordância entre as variáveis H_2O_2 e temperatura, elucidando que os dois fatores propostos no modelo estatístico foram eficientes, formando uma superfície côncava com ponto ótimo entre as interações de 50 a 70 °C com 500 ppm a 797,6 ppm. Diante desta dinâmica, foi observado que os pontos com temperatura de 50 °C e 500 ppm de H_2O_2 foram os pontos mais representativos quanto a redução de cor ICUMSA.

A

B

Figura 5 - Superfície de resposta para a interação das variáveis: (A) pH e dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm); (B) temperatura (°C) e pH para obtenção dos valores de cor ICUMSA (IU) da calda de açúcar VHP através da otimização do processo de peroxidação do calda

Figura 6 - Superfície de resposta para a interação das variáveis: temperatura (°C) e dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm), para obtenção dos valores de cor ICUMSA (IU) da calda de açúcar VHP através da otimização do processo de peroxidação do calda

No diagrama de Pareto de redução de cor ICUMSA (Figura 8) podemos verificar a importância de cada fator através do comprimento das barras. Dentre os fatores temos todos os fatores presentes no delineamento composto central, desde os fatores unitários como H_2O_2 (quadrático e linear), Temperatura (linear e quadrática), pH (linear e quadrático) até as interações 1Lby2L (H_2O_2 linear interagindo com pH linear), 1Lby3L (H_2O_2 linear interagindo com temperatura linear), 2Lby3L (pH linear interagindo com temperatura linear). O valor $p = 0,05$ indica o limite de significância, a partir disto é possível observar dentre as variáveis quais são relevantes e quais não são relevantes no fatorial. O fator mais significativo como podemos ver na Figura 8 foi a temperatura (Q), seguida pelo H_2O_2 (Q) e os demais fatores abaixo dele, cada um com sua porcentagem decrescente de significância. Entretanto, podemos ver que a interação 2Lby3L e o pH (Q) não foram significativos. Neste caso é possível dizer que entre os fatores e interações utilizadas o pH foi o menos significativo entre eles. Uma vez que para duas situações estudadas ele respondeu de forma não significativa. Reforçando a ideia defendida anteriormente em que os intervalos de pH não foram expressivos no delineamento estudado.

Figura 7 - Diagrama de Pareto para um delineamento composto central de cor ICUMSA envolvendo as variáveis H_2O_2 , pH e temperatura e suas interações

Estatisticamente, o delineamento apresentou coeficiente de variação $R^2=0,83$ de significância, mostrando que o tratamento explica 83% da variação dos dados

experimentais. A comparação do $F_{\text{tab}}=3,29$ com o $F_{\text{cal}}=6,25$ ao nível de 5% de probabilidade foi satisfatória, mostrando que o delineamento foi significativo. A falta de ajuste do modelo quando comparado o $F_{\text{tab}}=19,35$ com o $F_{\text{cal}}=355,86$ ao nível 5% também foi significativa como é possível observar na Tabela 9, porém o ideal seria um modelo com falta de ajuste não significativo.

O erro puro obtido no experimento foi de ordem extremamente baixa (Tabela 9) e segundo Box e Draper (1987) o teste de significância para a falta de ajuste não deve ser considerado relevante, caso os quadrados médios do erro puro sejam muito baixos. O modelo é valido diante o resultado obtido pelo teste F, mas não deve ser considerado para fins preditivos, pois segundo Barros, Scarmínio e Bruns (2001) embora uma regressão seja significativa através do teste F, o modelo pode não ser preditivo, ou seja, ele pode não servir para realizar previsões a partir do modelo gerado, então, para que uma regressão seja considerada preditiva, o valor de F calculado deve ser no mínimo 4 vezes o valor do F tabelado.

Tabela 9 - Resultados estatísticos segundo a tabela ANOVA para os dados de cor ICUMSA

	SS	DF	MS	F calculado	P
Regressão	0,72	7	0,1	6,25	0,01
Residual	0,15	9	0,02		
Falta de ajuste	0,15	7	0,02	355,86	0
Puro erro	0	2	0		
Total	0,86	16	0,05		

4.2.3 Superfície de resposta e diagrama de Pareto para análise de degradação de sacarose com ênfase nas combinações entre temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio

Para visualizar os resultados de degradação de sacarose é importante ressaltar que uma vez os valores calculados em concentração (C/C_0), a degradação de sacarose se dá devido a maior distância das extremidades da superfície de resposta ao ponto 1,2 que encontrasse na posição vertical, representa a concentração de sacarose.

Na Figura 9 é possível observar que a degradação de sacarose foi maior nos pontos com pH mais ácidos (abaixo de 5,0) associada a uma baixa concentração de H_2O_2 (202,4 ppm). A degradação da sacarose ocorreu de forma mais agressiva em

meios mais ácidos do que em meios neutros ou alcalinos. O fato se explica uma vez que em todos os tratamentos ao fim da reação o pH da solução encontrava-se mais ácido, em média 1 ponto abaixo do determinado inicialmente, o que ao longo da reação diminuía o potencial de degradação dos pH mais básicos, deixando-os mais próximos da neutralidade. Segundo Aida e colaboradores (2007) há fortes relações entre condições de aquecimento e formação de ácidos orgânicos na solução.

Em estudo Woo e colaboradores (2009) também observaram que a uma dada temperatura de aquecimento em tempo prolongado resultou em valores de pH mais baixos. A diminuição do pH com aquecimento pode ser atribuído ao aumento da produção de ácidos orgânicos, tal como o ácido fórmico, ácido láctico, e ácido levulínico.

Figura 8 - Superfície de resposta para a interação das variáveis: pH e dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm), para obtenção dos valores de degradação de sacarose da calda de açúcar do tipo VHP através da otimização do processo de peroxidação do calda

As Figuras 10a e 10b mostram que, a temperatura independente da interação foi um fator crítico na degradação da sacarose, sendo possível observar que temperaturas acima de 30 °C são ofensivas em praticamente todos os pontos da interação com H₂O₂ e pH abaixo de 5,0 estudados. Panpae et al. (2008) analisaram as perdas de sacarose na indústria do açúcar pela ação do pH e da temperatura e observaram que quando a sacarose era submetida ao aquecimento os teores de açúcares redutores aumentaram enquanto os de sacarose reduziram, ou seja, a temperatura comporta-se como catalisador quando o assunto é degradação de sacarose.

A **B**

Figura 9 - Superfície de resposta para a interação das variáveis: pH e temperatura (°C); dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm) e temperatura (°C), para obtenção dos valores de degradação de Sacarose da calda de açúcar do tipo VHP através da otimização do processo de peroxidação do calda

Figura 10 - Diagrama de Pareto para um delineamento composto central de degradação de sacarose envolvendo as variáveis H_2O_2 , pH e temperatura e suas interações

No diagrama de Pareto de degradação de sacarose (Figura 11) acima, podemos observar que entre os fatores e interações estudados apenas três foram significativos, sendo estes a interação 1Lby2L (H_2O_2 linear interagindo com pH linear), H_2O_2 (L) e a temperatura (Q). Todos os outros fatores estudados não mostraram significativa importância no planejamento. Entretanto, considerando que

a degradação de sacarose se trata de uma condição indesejável ao tratamento, a alta incidência de fatores e interações não significativas se apresenta como um bom resultado ao modelo, salientando que os fatores utilizados no delineamento não foram tão nocivos e significativos a ponto de inviabilizarem os tratamentos.

Estatisticamente, o modelo para concentração de sacarose não foi significativo (Tabela 10). Uma vez que a comparação do $F_{\text{tab}}=3,29$ com o $F_{\text{cal}}=1,26$ ao nível de 5% de probabilidade foi insatisfatória como podemos ver na Tabela 10. O modelo ainda apresentou $R^2=0,62$ de significância, mostrando que o tratamento consegue se explicar em 62% da variação dos dados experimentais.

Tabela 10 - Resultados estatísticos segundo a tabela ANOVA para sacarose

	SS	Df	MS	F calculado	P
Regressão	0,28	9	0,03	1,26	0,39
Resíduo	0,17	7	0,02		
Falta de ajuste	0,16	5	0,03	5,94	0,15
Erro puro	0,01	2	0,01		
Total	0,44	16	0,03		

4.2.4 Superfície de resposta e diagrama de Pareto para análise de formação de açúcares redutores com ênfase nas combinações entre temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio

A formação de AR ocorreu em todos os pontos estudados, sendo que para a interação, os pontos mais críticos foram 500 ppm de peróxido e pH 5,0 em interação com todas as temperaturas relacionadas. Nas Figuras 12a, 12b e 12c é possível observar que os pontos extremos (pH=1,64 e $\text{H}_2\text{O}_2=1000$ ppm e temperatura= 83,6 °C) e a temperatura, exceto em interação com 500 ppm de peróxido e pH 5,0, tiveram baixa concentração de AR, contrapondo os resultados observados na superfícies de degradação de sacarose. Quando analisada a relação entre a degradação de sacarose e a concentração de AR, o modelo sugere que em alguns casos a sacarose não está sendo inteiramente convertida em glicose e frutose uma vez que a taxa de conversão e degradação não são proporcionais entre si. Quintas et al. (2007) explica que após o início de um tratamento térmico, o teor de sacarose

diminui, começando a formação de frutose e glicose. Pouco tempo depois, 5-HMF (5-hidroximetil furfural) é detectado, seguido por furfural.

A

B

C

Figura 11 - Superfície de resposta para a interação das variáveis: dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm) e temperatura (°C); temperatura (°C) e pH, para obtenção dos valores de cor formação de açúcares redutores da calda de açúcar do tipo VHP através da otimização do processo de peroxidação do calda

No diagrama de Pareto de Açúcares Redutores (Figura 13) podemos observar que a maioria dos fatores e interações estudados não foram significativos, sendo apenas os fatores pH (Q) e H_2O_2 (Q) significativos. E dentre estes dois fatores podemos ainda observar que eles foram significativos, mas ficaram bem próximo a

linha de base, o que para este estudo em específico tem um peso positivo, uma vez que a otimização da formação de açúcares redutores seria um resultado indesejável ao delineamento, pois diminuiria a produção do produto final de interesse.

Figura 12 - Diagrama de Pareto para um delineamento composto central de açúcares redutores, envolvendo as variáveis H₂O₂, pH e temperatura e suas interações

Para os parâmetros estatísticos dos açúcares redutores da calda (glicose e frutose) o modelo apresentou $R^2=0,86$ de significância, explicando cerca de 86% de todas as variações dos dados experimentais. Na comparação do $F_{\text{tab}}=3,29$ com o $F_{\text{cal}}=4,94$ ao nível de 5% de probabilidade o tratamento se mostrou significativo (Tabela 11). O modelo é válido diante o resultado obtido pelo teste F, mas não deve ser considerado para fins preditivos.

Tabela 11 - Resultados estatísticos segundo a tabela ANOVA para glicose e frutose

	SS	Df	MS	F calculado	P
Regressão	17,02	9	1,89	4,94	0,02
Resíduo	2,68	7	0,38		
Falta de ajuste	1,89	5	0,38	0,96	0,58
Erro Puro	0,79	2	0,39		
Total	19,69	16	1,23		

4.3 Modelagem dos tratamentos de otimização para o parâmetros de pH ajustado

4.3.1 Superfície de resposta e diagrama de Pareto para análise de redução de cor ICUMSA, dos parâmetros pH, temperatura e dosagem de peróxido de hidrogênio.

No delineamento composto central feito para as análises de cor ICUMSA, o pH se mostrou como indicativo para otimização em valores de pH mais neutros e básicos atingindo uma gama distinta de pH dos apresentados no primeiro tratamento. Para isso os tratamentos de peroxidação da calda foram refeitos atendendo uma nova gama de pH com tendência para pH mais neutros e básicos (Figura 14), uma vez que a presença de ácido no meio de reação influencia na decomposição do H_2O_2 . Segundo Voll (2008), a constante aparente de velocidade (k) para a decomposição do H_2O_2 decresce com o aumento da concentração de ácido em todas as temperaturas. Isso porque o peróxido de hidrogênio é estável em pH ácidos, diferentemente de sua ação em pH básicos onde, sua decomposição é mais rápida potencializando seu poder de oxidação aos primeiros minutos de reação, devido sua instabilidade (MATOS et al., 2003).

Para Oetterer (2015), a presença de pH ácido na solução açucarada corrobora para a formação de 5-HMF, o mesmo quando livre na solução, se polimeriza e forma cor, colaborando para o escurecimento na faixa de 1 a 3,5.

Comparando a superfícies uma a uma (Figura 14) é possível perceber que os melhores valores de redução de cor foram adquiridos com pH entre 7,5 e 10, temperaturas entre 50 e 70 °C e dosagens de peróxido de hidrogênio entre 500 e 797,6 ppm. Nesta situação estudada foi possível observar padrões indicativos entre os fatores possibilitando a otimização do processo.

A

B

C

Figura 13 - Superfície de resposta para a interação das variáveis: dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm) e temperatura (°C); temperatura (°C) e pH, para obtenção dos valores de cor formação de açúcares redutores da calda de açúcar do tipo VHP através da otimização do processo de peroxidação do calda

No diagrama de Pareto de redução de cor ICUMSA com o pH ajustado (Figura 15) podemos verificar que praticamente todos os fatores foram significativos, o único fator que não foi significativo foi o H_2O_2 (L). Entretanto, este fator quando em interação com outros fatores se mostrou significativo, isso possibilitando um melhor ajuste do delineamento.

A importância dos fatores ainda justifica-se pelo comprimento das barras e pela sua distância da linha $p=0,05$ que é o limite de significância. Diante disto, é

possível verificar que além dos fatores em sua grande maioria terem se mostrado significativos os mesmos ainda ficaram bem distante da linha de base de $p=0,05$, como é possível observar no fator mais significativo, a temperatura que obteve um índice de 114,4547.

Figura 14 - Diagrama de Pareto para um delineamento composto central de cor ICUMSA envolvendo as variáveis H_2O_2 , pH e temperatura e suas interações

Estatisticamente, o modelo de cor ICUMSA (Tabela 12) apresentou coeficiente de correlação $R^2=0,91$. Isso significa dizer que a percentagem de variação explicada pelo modelo foi maior que 90% desta forma, o modelo é estatisticamente bem representativo. De acordo com Barros, Scarmínio e Bruns (2001) na análise de variância de um modelo uma parte da variação total das observações em torno da média é descrita pela equação de regressão, enquanto o restante faz parte dos resíduos, assim, quanto maior for a fração descrita pela regressão, ou melhor, quanto mais próximo de 1 for o valor de R^2 , melhor será o ajuste do modelo aos dados observados. A comparação do $F_{tab}=3,29$ com o $F_{cal}=7,66$ ao nível de 5% de probabilidade foi significativa, reafirmando a significância e confiabilidade do delineamento. A falta de ajuste do modelo quando comparado o $F_{tab}=19,32$ com o $F_{cal}= 493,96$ ao nível 1% também foi significativa como é possível observar na Tabela 12, o que não é o ideal, pois o ideal seria um modelo não significativo. O modelo não foi preditivo.

Tabela 12 - Resultados estatísticos segundo a tabela ANOVA para cor ICUMSA com pH ajustado

	SS	Df	MS	F Calculado	P
Regressão	0,97	9	0,11	7,66	0,01
Resíduo	0,1	7	0,01		
Falta de ajuste	0,1	6	0,02	493,96	0
Erro puro	0	2	0		
Total	1,07	16	0,07		

4.3.2 Comparação das diferentes gramas do parâmetro pH nos tratamentos de otimização de cor ICUMSA

Se compararmos a redução de cor entre os dois ensaios (Ensaio 1 primeiro delineamento com intervalos de 1,64 a 8,36 e ensaio 2 delineamento com pH ajustado para intervalos de 3,32 a 11,68) como podemos ver na Figura 16. É possível perceber que em quase todos os tratamentos a redução de cor foi menor para o tratamento com o pH ajustado em uma hora de reação. Apenas nos tratamentos 3, 13 e 14 a redução de cor foi inferior que a do Ensaio 1. Além disso, quando comparado separadamente o Ensaio 2 podemos observar que os tratamentos que obtiveram maior redução de cor ICUMSA foram os tratamentos 9, 10, 11 e 15 que em comum tiveram o pH na faixa de 7,5, condição de pH privilegiada para que não ocorra a degradação de sacarose que é o produto final de interesse a ser cristalizado. Para Marques, Marques e Tasso-Júnior (2001), a etapa de clarificação deve produzir um caldo ou xarope com menor cor possível, entretanto, evitando valores de pH e temperatura muito extremos que cause a inversão ou degradação da sacarose.

Figura 15 - Comparação entre tratamento de peroxidação com os pH dos dois planejamentos compostos centrais

4.4 Análises realizadas para o perfil cinético de calda de açúcar do tipo VHP clarificado por peroxidação

Todos as análise realizadas a partir desta etapa foram feitas com o pH já ajustado.

4.4.1 Cor ICUMSA de calda de açúcar clarificado por peroxidação sobre cinética química

A cor ICUMSA foi monitorada pelo período de 90 min para cada um dos 17 tratamentos do delineamento composto central (Figura 17).

Como é possível observar nos dados cinéticos obtidos nos 17 tratamentos de cor ICUMSA, a mesma foi reduzida para todos os tratamentos, exceto no Tratamento 16 que não apresentou uma redução relevante da cor. Os menores valores de cor ICUMSA foram obtidos nos tratamentos 9, 10 e 11, os quais apresentaram um melhor desempenho de redução entre os tempos de 50 e 75 minutos, tempo médio utilizada para a maior redução de praticamente todos os tratamentos.

Já para tratamentos com pontos extremos de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio, como os tratamentos 13 (pH 11,68), 15 (temperatura de 83,6 °C) e 17 (dose de H₂O₂ 1000 ppm), os melhores valores de cor foram alcançados até os 30 min de reação, sendo a cor geralmente aumentada após este tempo. Em estudos Costa e colaboradores (2013) observaram que quando em excesso o peróxido de hidrogênio consome os radicais hidroxilas os recombinaando em H₂O₂ diminuindo seu poder de oxidação. Para Halliwell (1990) uma série de antioxidantes não enzimáticos como ubiquinona, ceruloplasmina entre outros compostos fenólicos presentes na cana, podem reagir com espécies reativas de oxigênio e está pode como consequência, influenciar no aumento de cor quando em altas concentrações do agente oxidante.

De acordo com Lange et al. (2006), o pH da reação também é um ponto importante a ser considerado em virtude de vários fatores como, por exemplo, a estabilidade do reagente e a velocidade e eficiência da oxidação, pois em pH alcalino, agentes como o H₂O₂ podem ser decomposto rapidamente formando como produto final oxigênio e água. Para Costa e colaboradores (2013) a decomposição de compostos corantes pode ser alcançada de forma rápida, sendo a cinética do processo favorecida à medida que se eleva o pH.

Entretanto, uma solução açucarada submetidas a condições de altas temperaturas e pH favorece a degradação de sacarose, que sobre baixa concentração ou ausência de compostos descolarentes, promove a recoloração da solução devido as reações de caramelização e Maillard. Neste sentido a rápida redução de cor no Tratamento 13 e posterior aumento provavelmente está ligado com a rápida decomposição do peróxido de hidrogênio em pH básicos ou extremamente básicos como era o caso.

Figura 16 - Perfil cinéticos dos valores de cor ICUMSA obtidos durante 90 min dos 17 tratamentos de peroxidação da calda de açúcar do tipo VHP com diferentes valores de temperatura (°C), pH e dose de peróxido de hidrogênio (ppm)

Figura 16 - Perfil cinéticos dos valores de cor ICUMSA obtidos durante 90 min dos 17 tratamentos de peroxidação da calda de açúcar do tipo VHP com diferentes valores de temperatura (°C), pH e dose de peróxido de hidrogênio (ppm) (Continuação)

Figura 16 - Perfil cinéticos dos valores de cor ICUMSA obtidos durante 90 min dos 17 tratamentos de peroxidação da calda de açúcar do tipo VHP com diferentes valores de temperatura (°C), pH e dose de peróxido de hidrogênio (ppm) (Continuação)

Figura 16 - Perfil cinéticos dos valores de cor ICUMSA obtidos durante 90 min dos 17 tratamentos de peroxidação da calda de açúcar do tipo VHP com diferentes valores de temperatura (°C), pH e dose de peróxido de hidrogênio (ppm) (Continuação)

4.4.2 Teores de Sacarose de calda de açúcar do tipo VHP clarificado por peroxidação em cinética química

Embora os tratamentos tenham cumprido, em alguns casos, a proposta de trabalho com reduções relevantes nos teores de cor ICUMSA, a avaliação dos teores de sacarose contidos nas amostras também fez-se necessária, para possibilitar o controle de perdas de sacaroses decorrentes das condições estabelecidas, uma vez que com degradação da sacarose ocorre a perda da porcentagem do produto final de interesse, o açúcar.

Como podemos observar na Figura 18, a sacarose foi degradada em todas as situações testadas, algumas mais do que outra, como nos tratamentos 7, 8, 12, 13, 15 e 17, que promoveu uma degradação média de 55%. Pois como é possível observar tirando os tratamentos 7 e 8 os outros 4 são tratamentos pertinentes aos pontos axiais do delineamento onde valores extremos foram utilizados induzindo o bom delineamento do modelo, como pH máximo 11,68 (tratamento 13), pH mínimo 3,32 (tratamento 12), temperatura máxima 83,6 (tratamento 15) e dose de peróxido de hidrogênio máxima 1000 ppm (tratamento 17). A taxa e o curso da degradação ácida e alcalina da sacarose podem ser influenciados por diversos parâmetros, como a concentração de íons H⁺ e OH⁻ em solução aquosa, a temperatura de reação, a presença de sais, a concentração de sacarose e de monossacarídeos (EGGLESTON; VERCELLOTTI, 2000). Para Favero (2013) a degradação da sacarose ocorre intensamente em altas temperaturas, e o resultado desta

degradação pode gerar a formação de compostos interferindo na qualidade do produto final. Durante o processo de produção de açúcar, há formação de caramelos provenientes de reações de degradação e condensação da glicose e frutose em altas temperaturas, melaninas provenientes de reações de açúcares redutores e aminoácidos por vias de reações de Maillard, complexos do ferro e a sacaretina de cor intensamente negra (ARAUJO, 2007).

Entretanto, mesmos nestes pontos mais críticos o tempo não foi um fator relevante na degradação, ocorrendo esta degradação em função dos parâmetros testado. Uma vez que a sacarose na maioria dos casos foi degradada nos primeiros 5 min de reação e posteriormente se manteve sem muitas alterações ao decorrer do tempo.

Os pontos centrais 9, 10 e 11 que ao percorrer do estudo apresentaram valores de redução de cor ICUMSA relevantes, não apresentaram alta degradação da sacarose apresentando um percentual médio de 16,6% de degradação, entretanto, estes foram realizados através da reação com as variáveis mais amenas, pH 7,5, temperatura 50 °C e dosagem de peróxido de hidrogênio 500 ppm. Para Hamerski (2009) a degradação de sacarose também ocorre na clarificação convencional do açúcar por sulfitação devido aos valores de temperatura (60 °C) e pH (3,8 e 4,2) em que o caldo é submetido durante o processo.

Figura 17 - Perfil cinéticos dos valores de sacarose, obtidos entre os 90 min nos 17 tratamentos de peroxidação da calda de açúcar do tipo VHP através de diferentes valores de temperatura (°C), pH e dose de peróxido de hidrogênio (ppm).

Figura 17 - Perfil cinéticos dos valores de sacarose, obtidos entre os 90 min nos 17 tratamentos de peroxidação da calda de açúcar do tipo VHP através de diferentes valores de temperatura (°C), pH e dose de peróxido de hidrogênio (ppm) (continuação)

Figura 17 - Perfil cinéticos dos valores de sacarose, obtidos entre os 90 min nos 17 tratamentos de peroxidação da calda de açúcar do tipo VHP através de diferentes valores de temperatura (°C), pH e dose de peróxido de hidrogênio (ppm) (continuação)

Figura 17 - Perfil cinéticos dos valores de sacarose, obtidos entre os 90 min nos 17 tratamentos de peroxidação da calda de açúcar do tipo VHP através de diferentes valores de temperatura (°C), pH e dose de peróxido de hidrogênio (ppm) (Continuação).

4.4.3 Análises microbiológicas da calda de açúcar do tipo VHP clarificada por peroxidação em cinética química

Chen e Chou (1993) relataram que os micro-organismos de maior impacto no processo de fabricação de açúcar são as bactérias, fungos e leveduras, sendo que as bactérias presentes no xarope e no açúcar final são geralmente aquelas que sobreviveram ao processo de produção e refinação do açúcar e os fungos e leveduras podem ser encontrados no açúcar final.

O peróxido de hidrogênio é um produto muito utilizado no tratamento de águas e efluentes industriais, apresentando uma reconhecida eficiência como bactericida e algicida (PEREZ et al., 2008).

Nos 5 tratamentos o peróxido de hidrogênio apresentou valores expressivos de redução para bactérias mesófilas totais (Tabela 13). O tratamento que obteve melhor redução foi o 15 que após 30 min de reação já apresentava ausências dos micro-organismos.

No tratamento 16 (sem adição de H_2O_2) como já era esperado a contaminação bacteriana ainda se mostrou presente em valores próximos ao limite permitido ao longo de uma hora e meia. Os tratamentos 9 e 17 também apresentaram diminuição de sua contaminação inicial. Entretanto, no tratamento 9 após 30 min de reação a recontaminação se mostrou presente nas amostras. O crescimento da maioria das bactérias ocorre na presença de pH na faixa de 6,5 a 7,5 (DI-TANNO, 2015) o que explica a recontaminação do ensaio 9 (pH 7,5).

Tabela 13 - Número de unidades formadoras de colônia (UFC) de bactérias mesófilas totais encontradas nos tempos 0, 30, 60 e 90 minutos dos tratamentos, com menor concentração de ICUMSA (tratamentos 15 e 9), maior dose de H_2O_2 (tratamento 17) e sem dosagem de H_2O_2 (tratamento 16)

Tempo (min)	Tratamento 9	Tratamento 15	Tratamento 16 (10×1)	Tratamento 17
0	19,6 ^a	3 ^a	60 ^a	15,6 ^a
30	7,3 ^b	Ausente ^a	43 ^a	3,6 ^a
60	11 ^{ab}	Ausente ^a	36 ^a	3,3 ^a
90	12,6 ^{ab}	Ausente ^a	36 ^a	2,6 ^a

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si (Teste de Tukey, 1%)

Leveduras e/ou fungos podem causar problemas devido à síntese de metabólitos tóxicos e por ter a capacidade de causar a perda ou modificação de odores e sabores dos alimentos, bem como de descolorir a superfície dos mesmos (SILVA et al., 2007).

O peróxido de hidrogênio, também se mostrou eficiente na redução de fungos e leveduras totais (Tabela 14). Entretanto como é possível verificar no tratamento 9 e 17 depois de 90 minutos de tratamento houve a recontaminação dos mesmos.

Na comparação entre os tratamentos com maior e menor dosagem de H_2O_2 tratamentos 17 e 16, o tratamento que apresentava máxima concentração do agente oxidante se mostrou extremamente mais eficiente na redução de leveduras e fungos. Entretanto, o tratamento que melhor apresentou redução de fungos e leveduras

totais foi o Tratamento 15 que apresentou menor valor de cor ICUMSA, isso pode estar relacionado as diferentes condições de temperatura nos dois tratamentos 15 (83,6 °C) e 17 (50 °C) potencializando a redução devido à alta temperatura aplicada no Tratamento 15.

O Tratamento 9 que também apresentou bons valores de cor ICUMSA não se mostrou tão eficiente na redução do micro-organismos quanto o Tratamento 15 porém as condições estabelecidas para redução de cor deste tratamento foram mais amenas quando comparadas ao tratamento 15 e 17. O que pode ter influenciado na redução da carga microbiana presente na amostra.

Tabela 14 - Número de unidades formadoras de colônia (UFC) de fungos e leveduras totais encontradas nos tempos 0, 30, 60 e 90 minutos dos tratamentos, com menor cor ICUMSA (tratamentos 15 e 9), maior dose de H₂O₂ (tratamento 17) e sem dosagem de H₂O₂ (tratamento 16)

Tempo (min)	Tratamento 9	Tratamento 15	Tratamento 16 (10x ¹)	Tratamento 17
0	6,3 ^a	1,3 _a	17 ^a	6,6 ^a
30	4,7 ^a	Ausente _a	13 _a	Ausente ^b
60	2,6 ^a	Ausente _a	13 _a	Ausente ^b
90	6 ^a	Ausente _a	10 _a	4 ^{ab}

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si (Teste de Tukey, 1%)

4.4.4 Redes Neurais Artificiais (RNA) para redução de cor ICUMSA

A Rede Neural Artificiais (RNA) foi aplicada nos dados com o intuito de esclarecer as interações entre as variáveis do material estudado, uma vez que a mesma possibilita a comparação de variáveis controláveis e não controláveis como o °Brix. Além disso, com RNA se torna possível a comparação entre um maior número de variáveis que a superfície de resposta.

Os valores adicionados foram divididos entre valores dependentes (resposta) e valores independentes (controláveis), estes valores foram adicionados na camada de entrada sendo eles o tempo (min) reacional, temperatura (°C), pH, dosagem de peróxido de hidrogênio (ppm) e °Brix, como valores dependentes. Como resposta foram adicionados os valores de cor ICUMSA da calda de açúcar do tipo VHP. Os valores de resposta e condições utilizados foram obtidos através do planejamento cinético descrito no item 3.6.

Para a validação das redes foram testadas de 4 a 10 neurônios, pois segundo Haykin (1994) se o número de neurônios for muito elevado, o esforço computacional é grande e a rede tem uma generalização fraca, porém se o número de neurônios é muito pequeno a rede pode não conseguir a performance desejada.

A Figura 19 representa graficamente a rede neural utilizada, com as variáveis de entrada e a de saída. Esta rede neural é do tipo acíclica, contendo três camadas: a de entrada de dados, a oculta e a de saída.

Figura 18 - Representação esquemática da rede neural usada com as variáveis de entrada e saída

O cálculo de número ideal de neurônios foi realizado através da análise de variância do resíduo médio de cada neurônio, sendo estes representados pelo menor valor possível e através do coeficiente de determinação e coeficiente angular também de cada neurônio devendo este ser representado por sua maior proximidade de 1.

As Figuras 20, 21 e 22 apresentam, respectivamente, os valores de coeficientes angular e de determinação do Learning-set (LS) e Test-set (TS) e os valores de resíduo médio de 4 a 10 neurônios. Nelas é possível observar que para as três situações os valores foram mais efetivos para 8 e 10 neurônios, estando os valores mais baixos para resíduo próximos a 8 neurônios e os valores mais próximos de 1 para os coeficientes de Learning-set (LS) e Test-set (TS) também próximos a 8 e 10 neurônios. Como isso é devido a sutil predominância do neurônio 8 optou-se por ele para um melhor ajuste das redes neurais.

Figura 19 - Coeficiente de determinação (R2) e angular (Coef) em função do número de neurônios (NH= 4 a 10, nº de apresentações = 20000 e LS= 3). Dados LS

Figura 20 - Coeficiente de determinação (R2) e angular (Coef) em função do número de neurônios (NH= 4 a 10, nº de apresentações = 20000 e TS= 3). Dados TS

Figura 21 - Valores dos resíduos médios em função dos neurônios (NH= 4 a 10, nº de apresentações = 20000 e LS/TS= 3)

Para a rede neural artificial foi gerada a tabela com as configurações ajustadas necessárias para que a rede possa ser rodada novamente seguindo os mesmos valores já estabelecidos na rede (Tabela 15). Esta rede esta ajustada para 8 neurônios para simular as resposta de cor ICUMSA.

Tabela 15 - Pesos da rede neural ajustada (W1): pesos entre a camada de entrada e a camada oculta. (W2): pesos entre a camada oculta e a camada de saída (NH = 8; 20.000 apresentações)

Neurônio	w2						w1	
	x1	x2	x3	x4	x5	bias	Neurônio	
1	-5,59E+00	-9,48E+00	-4,25E+00	2,87E+00	6,13E+00	7,34E-01	1	2,50E+00
2	3,04E+00	-6,17E+00	1,42E+00	1,64E+00	-7,77E+00	8,99E-01	2	6,56E+00
3	-5,36E-01	-1,83E-01	1,08E+01	6,17E+00	-1,21E+01	7,59E-01	3	6,91E+00
4	4,47E+01	-5,32E+00	-2,30E+00	-4,03E-01	8,94E-01	1,19E-01	4	-6,77E+00
5	-1,54E+00	-6,25E+00	-4,98E-01	8,08E+00	-4,20E+00	3,79E-01	5	-1,50E+00
6	5,86E-01	-5,21E+00	-9,29E+00	-1,01E+01	1,41E+01	5,75E-02	6	8,80E+00
7	1,70E+01	-1,64E+01	-8,89E-01	-1,42E+01	1,05E+01	4,14E-01	7	-7,19E-01
8	4,64E+00	-5,57E+00	7,92E+00	3,04E+00	-2,10E+01	8,55E-01	8	-4,55E+00
							bias	1,33E-01

Em seguida, foi feita a avaliação da importância relativa das variáveis baseada no método HIPR (“Holdback Input Randomization Method”), proposto por Kemp, Zaradic e Hansen (2007). O método baseia-se na comparação do erro causado em cada saída do modelo por perturbações aleatórias impostas a cada uma das variáveis de entrada.

Para isso, utiliza-se a base de dados original e o modelo de rede neural ajustado a esses dados, aplicando-se perturbações aleatórias em cada variável de entrada, mantendo-se as demais variáveis com seus valores reais medidos. O critério de avaliação da importância relativa das variáveis de entrada é o erro entre o valor de cada saída calculado pela rede neural e os valores medidos, causado pela aplicação de tais perturbações. As perturbações aleatórias são aplicadas a cada

variável de entrada isoladamente e para todas as observações do conjunto de dados.

Os valores do erro quadrático médio, que constituem o critério de avaliação da importância relativa das variáveis de entrada em relação a cada saída da rede, referem-se às perturbações nas variáveis de entrada.

O procedimento foi repetido 1000 vezes para cada variável de entrada. A Figura 23 apresenta a porcentagem do erro quadrático médio de cada variável. Assim é possível notar que a variável que demonstrou maior grau de significância foi o °Brix representando 39% do valor total seguido de temperatura e pH ambos representantes dos 19,7% e 19,8%. Entre as variáveis a que representou menor significância foi o tempo representando apenas 6% do total. O °Brix apesar de ter sido uma variável controlável ajustada a 66 para a obtenção da calda, sofreu variação entre os tratamentos devido a difícil dissolução do açúcar em água. Em média o percentual de variação do °Brix da calda produzida para cada tratamento foi de ± 3 , o que explicaria a indicação mesmo. Corrêa (2015) em estudos também obteve alta influência do °Brix na degradação de cor ICUMSA sobre processos oxidativos.

Figura 22 - Importância das variáveis da rede neural (NH=8, nº de apresentações=20000 e LS/TS= 3)

Foram realizados nas redes neurais artificiais uma simulação, onde com base nos valores reais e nos parâmetros de entrada da rede gerou-se valores teóricos obtidos para as mesmas condições realizadas no tratamento.

Para isso na Figura 24, está representado os valores dos 17 tratamentos obtidos experimentalmente e os valores dos mesmos 17 tratamentos simulados obtidos pela rede. Os valores obtidos na simulação reproduziram de forma similar os resultados obtidos experimentalmente, mostrando que a rede foi capaz de prever os resultados de cor ICUMSA e os tratamentos tiveram um bom ajustes.

Figura 23 - Valores de cor ICUMSA em comparação aos valores simulados gerados na RNA

Figura 23 - Valores de cor ICUMSA em comparação aos valores simulados gerados na RNA (continuação)

Figura 23 - Valores de cor ICUMSA em comparação aos valores simulados gerados na RNA (continuação)

Figura 23 - Valores de cor ICUMSA em comparação aos valores simulados gerados na RNA (continuação)

Ao observar os valores obtidos para os tratamentos já realizados e os valores obtidos na simulação de redes neurais para cor ICUMSA, foi possível observar que os tratamentos 9, 10 e 14 foram os que obtiveram melhor ajuste das redes, apresentando valores praticamente iguais aos teóricos gerados pelo estudo. Em geral é possível observar que os tratamentos que obtiveram melhores resultados de redução de cor ICUMSA 9, 10, 11 e 15 também apresentaram bom ajuste nas redes caracterizando a confiabilidade do experimento.

5 CONCLUSÕES

Os fatores estudados, pH, temperatura (°C) e dosagem de peróxido de hidrogênio, apresentaram relativa atuação na diminuição da cor ICUMSA final da calda de açúcar do tipo VHP tratada por peroxidação. Através da otimização do processo de peroxidação da calda de açúcar do tipo VHP foi possível determinar as condições ótimas da redução de cor ICUMSA, sendo estas temperaturas de 50 a 70 °C, pH próximo a 7,5 a 10,00 e dosagens de peróxido de hidrogênio de 500 a 797,6 ppm.

A análise de cinética química para redução da cor ICUMSA permitiu avaliar que a redução de cor da calda de VHP peroxidada aconteceu de forma mais abrangente após 50 ou 75 min para os pontos com menores valores de cor ICUMSA, exceto o ponto 15 que como o 13 e 17 tiveram melhores valores de redução de cor nos primeiros 30 min. Já condições de pH extremamente baixo ou alto (3,32 e 11,68), altas temperaturas (83,6 °C) e dose máxima de peróxido de hidrogênio (1000 ppm) obtiveram altos teores de degradação da sacarose, degradando em média 55% da sacarose inicial, o que acabaria inviabilizando o processo, mesmo com a redução da cor da calda de VHP, uma vez que o produto de principal interesse para a produção de açúcar é a sacarose. Entretanto, os pontos que 9, 10 e 11 (pH 7,5, 50°C e 500 ppm de H₂O₂) que se encontram entre os mais redutores de cor ICUMSA obtiveram valores menores de degradação de sacarose ficando em média com 16,6% de degradação, viabilizando o processo. O tempo reacional para os pontos 9, 10 e 11 também não inviabilizou o processo, pois não foi um ponto crítico a ser considerado.

As análises microbiológicas da calda de VHP peroxida mostraram que além de ser eficiente na redução da cor da calda, o peróxido de hidrogênio é ainda um bom agente antimicrobiano, principalmente no controle de bactérias mesófilas totais.

A rede neural apresentou um bom ajuste, tendo os valores de simulação muito próximos aos valores experimentais, na maioria dos casos. Dentre as variáveis estudadas a que apresentou maior influência foi o °Brix, seguido da temperatura (°C) e pH. A dosagem do peróxido de hidrogênio apresentou baixa influência assim como o tempo (min) que foi a variável de menor influência entre as cinco.

REFERÊNCIAS

ACCORSI, C.A.; PERETTI, M.; FONTANA, P. Additives and colour formation: effects of hydrogen peroxide (H₂O₂). **Zuckerindustrie**, Berlin, v.113, n.4, p. 299-303, 1998.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA - **Resolução da diretoria colegiada – rdc nº 8**, de 06 de março de 2013. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1cac3e004edacb17a9e8ab8a610f4177/RDC+N+08++2013+Aditivos+frutas+e+vegetais.pdf?MOD=AJPERES>> Acesso em: 18 Fev. 2016

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA - **Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares** - definições, classificação e emprego de 1997. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d1b6da0047457b4d880fdc3fbc4c6735/PORTARIA_540_1997.pdf?MOD=AJPERE> Acesso em: 18 Fev. 2016

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA - **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos 2001**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 20 Fev. 2016

AIDA, T.M.; TAJIMA, K.; WATANABE, M.; SAITO, Y.; KURODA, K.; NONAKA, T.; Hattori, H.; SMITH, R.L.; ARAI, K. Reactions of D-fructose in water at temperatures up to 400 °C and pressures up to 100 MPa. **Journal of Supercritical Fluids**, Virginia, 42, p. 110-119, 2007.

ANDRADE, R.R. **Demanda e perfil profissional de técnicos de nível médio para o setor sucro-alcóoleiro**. 2005. 213p. Dissertação (Mestrado na área de Educação agrícola) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro/Instituto de Agronomia, Seropédica, 2005.

ARAÚJO, F.A.D. Processo de clarificação do caldo de cana pelo método da bicarbonatação. **Revista Ciências e Tecnologia**, Recife, v.1, n.1, p.1-6, 2007.

AUN, M.V.; MAFRA, C.; PHILIPPI, J.C.; KALIL, J.; AGONDI, R.C.; MOTTA, A.A. Aditivos em alimentos. **Revista Associação Brasileira de Alergia Imunopatologia**, São Paulo, v. 34. n. 5, p. 117-186, 2011

AZCOYTIA, C. Una dulce história, ladelazúcar. In: Grupo Gastronautas. Organización No Gubernamental, 2006. Disponível em: <<http://www.historiacocina.com/historia/articulos/azucar.html>>. Acesso em: 28 jan. 2014.

BARRAULT, J.; BOUCHOULE, C.; ECHACHOUI, K.; FRINI-SRASRA, N.; TRABELSI, M.; BERGAYA, F. Catalytic wet peroxide oxidation (CWPO) of phenol over mixed (Alcu)-pillared clays. **Revista Ciencias e Tecnologia**, Recife, v.1, n.1, p.1-6, 2007.

BARROS N.B.; SCARMÍNIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos-pesquisas e desenvolvimento na ciência e na indústria**, Campinas: Editora da UNICAMP, 2001. 401p.

BELIK, W. **Muito além da porteira**. 2001. 184p. Tese (Livre Docência) - Instituto de Economia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

BOSCARIOL, F.C. DRD - Dedini Refinado Direto. **Revista Opiniões**, Ribeirão Preto V. 06, n. 16, 2005. Disponível em: <<http://www.revistaopinioes.com.br/aa/materia.php?id=298>>. Acesso em: 29 jan. 2014.

BOURZUTSCHKY, H.C.C. Color formation and removal: options for the sugar and sugar refining industries: a review. **Zuckerindustrie**, Berlin, v. 130, n. 7, p. 545-553, 2005.

BRASIL. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. **Diário Oficial da União**; Brasília, DF, 28 de outubro de 1997.

BRASIL. Ministério da saúde da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servet/visualizaranexo?id=2321>>. Acesso em: 29 fev. 2016.

BRASIL. Ministério da saúde da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 152, de 6 de dezembro de 2013. Regulamento técnico do açúcar D.O.U. de 1111 de dezembro de dezembro de 2013. Disponível em: <http://www.lex.com.br/legis_25168439_PORTARIA_N_152_DE_6_DE_DEZEMBRO_DE_2013.aspx>. Acesso em: 15 jul. 2015

Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC international**. Washington, 1996. 1015p.

BOX, G.E.P.; DRAPER, N.R. **Empirical model-building and response surfaces**. 3 ed. New York: John Wiley, 1987. 669p.

BUENO, M.S. **Análise da cadeia logística de exportações de açúcar**. 2012. 61p. Trabalho de (Conclusão de Curso) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

CAHILL, A.E.; BURKHART L.E. Continuous Precipitation of Uranium with Hydrogen Peroxide. **Metallurgical Transactions**, Ames, v.21, Issue 5, p. 819-826, 1990.

CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA, Determinação de sólidos solúveis em açúcar. **CTC-LA-MT1-007**, Piracicaba, v. 1, p. 2/13, 2011a.

CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA, Determinação de cinzas em açúcar. **CTC-LA-MT1-006 V.06**, Piracicaba, v. 1, p. 2/13, 2011b.

CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA, Determinação da Umidade. **CTC-LA-MT1-001 V.05**, Piracicaba, v. 01, p. 2/13, 2011c.

CHEN, J.C.P.; CHOU, C. Cane Sugar Handbook. **A manual for cane sugar manufacturers and their chemists**. 12th. Ed. New York: John Wiley, 1993.1120p.

CHUNHONG, B.; MEIYUAN, H.; ZHILAI, S. kinetics of hydrogen peroxide-sulfur (IV) reaction in atmospheric precipitation. *Journal Environmental Science*, Canada, V.5, p. 351-366

CHOU, C.C.; IQBAL, K.; MIN, Y. G.; GAO, D.W.; DUFFAUT, E. SAT process as a replacemant for sulfitation in mill white sugar production. **International Sugar Journal**, London, v. 108, n. 1289, p. 247-253, 2006.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO-CONAB. **Mercado de Cana-de-açúcar (2015)**. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_12_19_09_02_49_boletim_cana_portugues_-_3o_lev_-_2014-15.pdf>. Acesso em: 02 jan. 2015.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO-CONAB. **Mercado de Cana-de-açúcar (2016)**. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_13_08_49_33_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_15-16.pdf> Acesso em: 02 fev . 2016.

COSTA, M.P.D.; PANCOTTO, J.V.S.; ALCÂNTARA, M.A.K.; CAVALCANTI, A.S.; GUIMARÃES, O.L.C.; IZÁRIO-FILHO, H.J. Combinação de processos oxidativos fotoirradiados por luz solar para tratamento de percolado de aterro sanitário: catálise heterogênea (TiO₂) versus catálise homogênea (H₂O₂), **Revista Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, Taubaté, v. 8, n.1, p. 290-306, 2013.

CRUZ, S.H.; SARTI, D.A. **A química do açúcar**, Conselho Regional de Química – IV, São Paulo, 2011. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/quimicaviva_acucar>. Acesso em: 15 mar. 2016.

DAL-BEM, A.J.; KOIKE, G.H.A.; PASSARINI, L.C. Modelagem e simulação para o processo industrial de fabricação de açúcar e álcool. **Minerva: Pesquisa e Tecnologia**, São Carlos, v. 3, n. 1, p. 33-46, 2006.

DAVIS, S.B.; MOODLEY, C.L.; GOVENDER, B.; XABA, M. Preliminary results of hydrogen peroxide trials atgledhow refinery. **Congress proceedings** In: SOUTH AFRICAN SUGAR TECHNOLOGISTS' ASSOCIATION, 2000. Durban, v. 74, p. 358-360, 2000.

DELGADO, A.A.; CESAR, M.A. **Elementos de tecnologia e engenharia do açúcar de cana**. Piracicaba: ESALQ, 1990. 1001p.

DI-TANNO, M.F.P.; KOZUSNY-ANDREANI, D.I.; ZÂNGARO R.A. **Caracterização microbiana de contaminantes em caldo de cana de misto e clarificado -**

Encontro de Pós-Graduação e Iniciação Científica – Universidade Camilo Castelo Branco, 2014. Disponível em : <

http://www.epginic.com.br/arquivos/2014/epg/ciencias_saude/289-EPG233.pdf>

Acesso em: em: 11set.2015.

EGGLESTON, G.; VERCELLOTTI, J.R. Degradation of sucrose, glucose and fructose in concentrated aqueous solutions under constant pH conditions at elevated temperature. **Journal of Carbohydrate Chemistry**, Dretroit, v. 19, n. 9, p. 1305 - 1318, 2000.

EL PAÍS. **O mundo, inundado de açúcar**. (2015) Disponível em: http://brasil.elpais.com/brasil/2015/03/24/economia/1427187838_040365.html
Acesso em: 01 mar. 2016.

EPA US. Field applications of in situ remediation technologies: chemical oxidation. Washington, DC: **Office of Solid Waste and Emergency Response, Technology Innovation Office**, 1998.p. 1–31.

EVANGELISTA, J. Tecnologia de alimentos, 2º edição-Editora Atheneu, São Paulo 652p., 2000.

EVERSE, J.; EVERSE, K.E.; GRISHAM, M.B. **Peroxidases in chemistry and biology**. New York: CRC. Press, 1991. 368p.

FAIRBANKS, M. Celulose garante expansão da oferta de peróxido de hidrogênio. **Química e Derivados**, São Paulo. 2009. Disponível em: <http://www.quimica.com.br/pquimica/9958/h2o2-celulose-garante-expansao-da-oferta-de-peroxido-de-hidrogenio-enquanto-despontam-novos-usos/Nov>>. Acesso em: 12 nov. 2015.

FAVERO, D.M.; RIBEIRO, C.S.G.; AQUINO, A.D. Sulfitos: importância na indústria alimentícia e seus possíveis malefícios à população. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, 2011, v. 18, n. 1, p.1-20

FAVERO, D.M. **Clarificação do caldo de cana-de-açúcar pelo processo de carbonatação**. 2013. 80p. Dissertação de (Mestrado na área de Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Do Paraná, Curitiba, 2013.

FAFENNEMA, O.R. **Química de los Alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 2000. 1258p.

FERNANDES A.P.; DOS SANTOS M.C.; FERREIRA M.M.C.; NOGUEIRA A.R. A.; NÓBREGA J.A. Aplicação de análise quimiométrica na diferenciação de açúcar. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 27., 2004, Salvador, BA. **Anais...**São Paulo: Editora SBQ, 2004. Poster QA-178.

HALLIWELL, B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Research, Commun*, **Japão**, v.9, p.1-32, 1990.

HEALT CANADA. Sulphites: one of the ten priority foods allergens. Disponível em: http://hc-sc.gc.ca/fn-an/alt_formats/pdf/pubs/security/2012-allergen_sulphites-sulfites/2012-allergen_sulphites-sulfites-eng.pdf>. 2012

GALLO, C. R. **Determinação da microbiota bacteriana de mosto e de dornas de fermentação alcoólica**. 1990. 338p. Tese de (Doutorado em ciências de alimentos). Faculdade de engenharia de alimentos, Universidade estadual de Campinas, Campinas, 1990

HAMERSKI, F. **Estudo de Variáveis no Processo de Carbonatação do Caldo de Cana-de-Açúcar**. 2009.149p. Dissertação de (Mestrado na área De Tecnologia De Alimentos) – Universidade Federal Do Paraná, Curitiba, 2009.

HAYKIN, S. **Neural Networks – A comprehensive Foundation**. New York: Macmillan College, 1994. 696p

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

ICUMSA, methods book. **GS1/3-7 Determination of the solution colour of raw sugar, brown sugar and coloured syrups at pH 7.0-** official. ICUMSA methods book. Berlin: Aims, 2011.

INCAPER. Instituto Capixaba de pesquisa, assistência técnica e expansão rural. **Cana-de-açúcar: caracterização**. Disponível em: <http://www.incaper.es.gov.br/pedeag/setores10_02.htm>. Acesso em: 15 Jul. 2015.

IKEGAKI, M. **Determinação de qualidade de propolis de Apis mellifera africanizada da região sul do Brasil: avaliação de algumas propriedades físico-químicas e biológicas da própolis**. Campinas, 2001. 74p. [Thesis of PhD Degree] Faculty of Pharmaceutical Sciences. University of São Paulo, 2001.

JADOSKI, C.J. Fisiologia do desenvolvimento do estágio vegetativo da cana-de-açúcar. **Pesquisa Aplicada E Agrotecnologia**, Guarapuava, v.3, p. 169-176, 2010.

JESUS, D.A. **Qualidade microbiológica das amostra de açúcar mascavo**. 2010. 94p. Dissertação de (Mestrado na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

KEMP, S.J.; ZARADIC, P.; HANSEN, F. An approach for determining relative input parameter importance and significance in artificial neural networks, **Ecological Modelling**, Amsterdam, v. 204, p. 326-334, 2007.

KOVACS, Z.L. **Redes neurais artificiais: fundamentos e aplicações**. 3. ed. São Paulo: Livraria da Física, 2002. 174p.

LANGE, L.C.; ALVES, J.F.; AMARAL, M.C.S.; MELO-JÚNIOR, W.R. Tratamento de lixiviado de aterro sanitário por processo oxidativo avançado empregando reagente de Fenton. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, Rio Janeiro v.11 n.2, p. 175-183, 2006.

MADSEN, R.F.; KOTFOD-NIELSEN, W.; WINSTROM-OLSEN, B.; NIELSEN, T.E. Formation of Color Compounds in Production of Sugar from Sugar Beet. **Sugar Technology Reviews**, Amsterdam v. 6, n.1, p. 49-115, 1978.

MANE, J.D.; PHADNIS, S.P.; JADHAV, S.J. Effects of hydrogen peroxide on cane juice constituents. **International Sugar Journal**, London, v. 94, n. 1128, p. 322-324, 1992.

MANE, J.D.; S.P. PACHPUTE.; PHADNIS, S.P. Effects of hydrogen peroxide treatment on cane syrup. **International Sugar Journal**, London, v. 100, n. 1193, p. 210-212, 1998.

MANE, J.D.; JAMBHALE, D.B.; YEWALE, A.V.; PHADNIS, S.P. Mill Scale Evaluation of Hydrogen Peroxide as a Processing Aid: Improvement in the quality of plantation white sugar. **International Sugar Journal**, London, v. 102, n. 1222, p. 530-553, 2000

MARQUES, M.O.; MARQUES, T.A.; TASSO JÚNIOR, L.C. **Tecnologia do açúcar: produção e industrialização da cana-de-açúcar**. Jaboticabal: FUNEP, 2001.170p.

MATTOS, I.L.; SHIRAISHI, K.A.; BRAZ, A.D.; FERNANDES J. R. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. **Química Nova**, São Paulo, v. 26 n.3, p. 373-380, 2003.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, Washington v. 31, p. 426-430, 1959.

NEVES, M.F.; CONEJERO, M.A. **Sistema Agroindustrial Da Cana: N2008**. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-80502007000400007>. Acesso em: 1 mar. 2016.

NIKONOV, M.V.; TANANAEV, I.G.; MYASOEDOV, B.F. Effect of hydrogen peroxide on precipitation of Pu (IV) in alkaline solutions. **Radiochemistry**, Switzerland, 52, p. 27–30, 2010.

OLIVEIRA, M.C. **Controle microbiológico do açúcar cristal**. 2010. 90p. Trabalho de conclusão de (Curso de licenciatura e bacharelado em Ciências Biológicas) - Faculdades Integradas FAFIBE, Bebedouro, 2010.

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

PANPAE, K.; JATURONRUSMEE, W.; MINGVANISH W.; NUNTIWATTANAWONG, C.; CHUNWISSET S. SANTUDROB, K.; TRIPHANPITAK S. Minimization of sucrose losses in sugar industry by pH and temperature optimization. **The Malaysian Journal of Analytical Sciences**, Bangi, v. 12, n. 3 p.513–519, 2008.

PAPAIOANNOU, R.; PFEIFFER, C.C. Sulfite Sensitivity — Unrecognized Threat: — Is Molybdenum Deficiency the Cause?. **Journal of Orthomolecular Psychiatry**, Canada, v. 13, n. 2, p. 105-110, 1984.

PAPAZIAN, R. **Sulfites**: safe for most, dangerous for some. Disponível em: <www.fda.gov/FDAC/features/0,96_silf.html> Acesso em: 20 jul. 2015.

PEREIRA, A.C.; MOURA, S.M.; CONSTANT, P.B. Alergia alimentar: sistema imunológico e principais alimentos envolvidos. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 189-200, 2008.

PERES, F.A.S.; TEIXEIRA, L.A.C; YOKOYAMA, L.; CAMPOS, J.C.; MIGUEL, M.A.L. Tratamento de águas de refrigeração com peróxido de hidrogênio. **Química Nova**, São Paulo, v.31 n.7, p. 1607-1917, 2008.

POPOLIM, W.D. **Análise de sulfitos em sucos de frutas e estimativa de seu consumo por escolares**. 2009. 155p. Dissertação (Doutorado em Nutrição Humana Aplicada) - FCF/FEA/FSP, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

QUINTAS M.A.C, GUIMARÕES, C.; BAYLIMA, J.; BRANDÃO, T.R.S.; SILVA, C.L.M. Multiresponse modelling of the caramelisation reaction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v.8, p.306-315, 2007.

RODRIGUES, L.P.; MORAES, M.A.F.D. Estrutura de mercado da indústria de refino de açúcar na região Centro-Sul do Brasil. **Revista de Estudos Regionais**, Rio de Janeiro, v. 45, n. 1, p. 93-118, 2007.

RUAS, T.C.B.G. **O ácido sulfuroso na sulfitação do caldo misto das usinas açucareiras**.1993. 75p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.

SARTORI, J. A. S.; GALAVERNA, R.; EBERLIN, M. N.; CORREA, N. T.; MANDRO, J. L.; AGUIAR, C. L. Elucidation of color reduction involving precipitation of non-sugars in sugarcane (*Saccharum* sp.) juice by Fourier-Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. **Journal of Food Processing and Preservation**, Malden, v 39, n6 p.1826–1831, 2015.

SCAMPICCHIO, M.; LAWRENCE, N.S.; ARECCHI, A.; MANNINO, S. Determination of Sulfite in Wine by Linear Sweep Voltammetry. **Electroanalysis**, New York, v. 20, n. 4, p. 444-447, 2008.

SCHUMB, W.C.; SATTERFIELD, C.N.; WENTWORTH, R.L.; **Hydrogen Peroxide**. Reinhold: New York, 1955. p. 68–70

SHIMADZU APPLICATION NEWS, n. L294, Disponível em: <<http://www2.shimadzu.com/applications/lc/l294.pdf>>. Acesso em: 26 jun. 2015

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R. F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análises Microbiológica de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552p.

SILVEIRA, R.L.F. da. **Tecnologia para a produção de cana-de-açúcar**. Disponível em: <<http://www.endeavor.org.br/wpcontent/themes/endeavor/downloads/artigos/cana.pdf>>. Acesso em: 02 jan. 2014.

SIMIONI, K. R.; SILVA, L.F.; BARBOSA, V.; RE, F.E; BERNARDINO, C. D.; LOPES, M. L.; AMORIM, H. V. Efeito de variedades e época de colheita no teor de fenóis totais em cana-de-açúcar. Sociedade dos técnicos açucareiros e alcooleiros de brasil, V. 24, n. 3, p. 36-39, 2006.

SOLVAY. Peróxidos do Brasil. Disponível em:
<<http://www.higieneocupacional.com.br/download/agua-iqbc.pdf>> Acesso em: 07 mar. 2016.

TELLES-FILHO, P.A. **Informações técnicas:** asma brônquica. Disponível em:
<<http://www.asma-bronquica.com.br>. Acesso em: 20 jul. 2015.

TFOUNI, S.A.V. **Estudo do efeito do processamento na contaminação de cana-de-açúcar e derivados por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.** 2005. 102p. Dissertação (Doutorado na área de Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2005.

UDOP. **União dos produtores de Bioenergia.** Disponível em:
<http://www.udop.com.br/index.php?item=acucar>. Acesso em: 28 jan 2014.

UNICA. **União da Indústria de Cana-de-Açúcar,** 2016. Disponível em:
<<http://www.unica.com.br/dadosCotacao/estatistica>>. Acesso em: 27 fev. 2016.

USDA. United States Department of Agriculture. **Food safety technology:** a potential role for POA? Washington: Economic Research Service/USDA, 2008. p. 13-15.

VALLY, H.; THOMPSON, P.J. Role of sulfite additives in wine induced asthma: single dose and cumulative dose studies. **Thorax**, London, v. 56, n. 10, p. 763-769, 2001.

VIEIRA, M.C.A. **Setor Sucroalcooleiro Brasileiro:** Evolução e Perspectivas. Disponível em:
<http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/liv_perspectivas/07.pdf> Acesso em: 27 jan. 2014.

VOLL, F.A.P. **Decomposição do peróxido de hidrogênio sobre catalisadores de paládio.** 2008. 90p. Dissertação de (Mestrado na área de Desenvolvimento de Processos) - Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná - Unioeste, Toledo, 2008.

WOO, K.S.; HWANG, I.G.; LEE, Y.R.; LEE, J, JEONG, H.S. Characteristics of Sucrose Thermal Degradation with High Temperature and High Pressure Treatment. **Food Science Biotechnol**, Alemanha, v. 18, n. 3, p. 717–723, 2009.