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

Cinética química do decaimento de cor ICUMSA de caldo de cana-de-açúcar por reação de oxidação com peróxido de hidrogênio em reatores de fase homogênea

Juliana Aparecida de Souza Sartori

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
e Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2014**

Juliana Aparecida de Souza Sartori
Engenheira Agrônoma

**Cinética química do decaimento de cor ICUMSA de caldo de cana-de-açúcar
por reação de oxidação com peróxido de hidrogênio em reatores de fase
homogênea**

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: Ciência
e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2014

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

Sartori, Juliana Aparecida de Souza

Cinética química do decaimento de cor ICUMSA de caldo de cana-de-açúcar por reação de oxidação com peróxido de hidrogênio em reatores de fase homogênea / Juliana Aparecida de Souza Sartori. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2014.

116 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2014.
Bibliografia.

1. Saccharum 2. Peróxido de hidrogênio 3. Cor 4. Enxofre 5. Oxirredução
6. Precipitação I. Título

CDD 664.122
S251c

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

*Dedico este trabalho à Deus, ao
meu marido Lucas e a meus pais
Vanderleia e Reginaldo*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me ajudado a seguir sempre o melhor caminho.

Ao meu marido Lucas, por ter me apoiado, incentivado, ajudado e compreendido sempre. E pela companhia de todos os dias por todos esses anos.

Aos meus pais e à minha irmã por todo o incentivo, carinho e apoio

Ao meu orientador Prof. Dr. Claudio Lima de Aguiar pela confiança em meu trabalho, por toda ajuda, pela oportunidade e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Antonio Sampaio Baptista pela ajuda, pela amizade e pela disponibilidade sempre que foi preciso.

À Nathália Torres Correa e Juliana Lorenz Mandro, por toda ajuda prestada durante a execução deste trabalho e especialmente pela amizade construída.

Aos amigos e colegas de laboratório pelos bons momentos, seja de trabalho ou de descontração, e nas reuniões do Grupo de Pesquisa Hugot-Bioenergia. E aos técnicos do Laboratório, Pedrinho, Sylvino e Rose.

Aos colegas do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, em especial à Valéria Pandolfo, pela amizade e companhia nas disciplinas, aulas de Francês e Inglês.

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos e à Dra. Kátia Ribeiro, da Escola Politécnica da USP, pelas sugestões, pela ajuda e por oferecer a oportunidade de conhecer e aprender uma nova metodologia, que foi uma ferramenta fundamental para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcos Eberlin e seus alunos, do Laboratório Thomson – Instituto de Química /UNICAMP, pela oportunidade e disponibilidade para realização de análises essenciais para complementação desse trabalho.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro durante 2012.

À FAPESP pelo apoio financeiro prestado importante para continuação e conclusão deste trabalho.

Muito obrigada.

BIOGRAFIA

Durante a realização do mestrado, que teve início em Março de 2013, realizei inúmeras atividades e publicações:

- Artigo publicado (1): **Souza-Sartori, J.A.** ; Prado, A. ; Veiga, L.F.; Torres, N. ; Alencar, S.M. ; Aguiar, C.L. Antioxidant capacity of the fractions of alcoholic extract of sugarcane s leaves.. Zuckerindustrie (Berlin) / Sugar Industry (Berlin), v. 138, p. 165-169, 2013.
- Artigo publicado (2): **Souza-Sartori, J.A.**, Scalise, C.; Baptista, A.S.; Lima, R.B.; Aguiar, C.L. Parâmetros de influência na extração de compostos fenólicos de partes aéreas da cana-de-açúcar com atividade antioxidante total. Bioscience Journal, v.29, n.2, 2013.
- **SOUZA-SARTORI, J. A.** ; CORREA, N. T. ; FERMINO, A. C. ; MANDRO, J. L. ; AGUIAR, C. L. . Redução da Cor do Caldo de Cana-de-Açúcar pela Clarificação Com Peróxido de Hidrogênio e os Efeitos nos Perfis de Açúcares. 7º Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados” – 15 a 18 de outubro de 2013.
- CORREA, N.T.; BAPTISTA, A.S.; BRAGA, N.L.L.; **SOUZA-SARTORI, J.A.**; BRANDÃO, D.; SILVA, S.S.; CATELAN, M.G.; AGUIAR, C.L. Processo Alternativo à Sulfitação do Caldo de Cana-De-Açúcar por Processo Oxidativo Empregando Ozonização. 7º Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados” – 15 a 18 de outubro de 2013.
- ARAÚJO, A.L.; LIMA, R.B.; AGUIAR, C.L.; RELA, P.R.; BAPTISTA, A.S.; **SOUZA, J.A.**; ARTHUR, V. O Efeito da Radiação a partir de Elétrons Acelerados na Clarificação de Caldo de Cana-de-Açúcar. 7º Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados” – 15 a 18 de outubro de 2013.

- AGUIAR, C. L. ; SABBADINE, N. ; PRESOTTO, G. G. ; **SOUZA-SARTORI, J. A.** Caracterização e quantificação de compostos bioativos e clorofila total no extrato etanólico e hexânico do ponteiro de cana-de-açúcar. In: Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, 2013, Piracicaba.
- Ministrante das palestras: Superfície de resposta 1 e 2, nas reuniões semanais do Grupo Hugot-Bioenergia (2013)
- Estagiária do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE) da disciplina LAN 0653 – Tecnologia do Açúcar, sob supervisão do Prof. Dr. Claudio Lima de Aguiar; E da disciplina LAN 1458 – Açúcar e Álcool, sob supervisão do Prof. Dr. Claudio Lima de Aguiar
- Participação como ouvinte no “VI Simpósio de Tecnologia de Produção de Cana-de-açúcar” – 10 a 12 de Julho de 2013.
- Participação como ouvinte no I Workshop em Docência no Ensino superior – ESALQ/USP.
- Equipe de Apoio do 21º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, 2013.
- Aprovada na seleção de Doutorado do Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola.

*"Deus nunca disse que a jornada seria fácil,
mas Ele disse que a chegada valeria a pena"*

Max Lucado

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT	15
LISTA DE FIGURAS	17
LISTA DE TABELAS	25
1 INTRODUÇÃO	27
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	29
2.1 Cana-de-açúcar e sua importância mercadológica	29
2.2 Sulfito: Problemática envolvida	31
2.3 Produção de açúcar cristal branco	32
2.3.1 Clarificação do caldo de cana-de-açúcar	33
2.4 Pigmentos da cana-de-açúcar.....	36
2.5 Processos oxidativos avançados na clarificação.....	39
2.6 Uso do peróxido de hidrogênio na indústria de alimentos	42
3 MATERIAL E MÉTODOS	45
3.1 Reagentes e soluções.....	45
3.1.1 Caracterização do peróxido de hidrogênio	45
3.2 Influência da maturação da cana-de-açúcar na ação do peróxido hidrogênio	45
3.2.1 Cor ICUMSA do caldo de cana-de-açúcar	46
3.3 Planejamento e otimização do processo de redução de cor de caldo de cana-de-açúcar por peroxidação	46
3.3.1 Determinação de açúcares presentes no caldo	48
3.3.2 Determinação de açúcares redutores	48
3.4 Cinética das reações químicas.....	49
3.4.1 Determinação de turbidez	49
3.5 Redes Neurais Artificiais (RNA)	49
3.5.1 Cor do caldo - Absorbância à 420 nm	50
3.6 Espectrometria de massas com transformada de Fourier de ressonância ciclotron de íons (FT-ICR)	51
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
4.1 Influência da maturação da cana-de-açúcar na peroxidação	55
4.2 Planejamento e otimização do processo de redução de cor de caldo de cana-de-açúcar	57

4.3 Cinéticas de redução de cor e degradação de sacarose	66
4.3.1 Cinética de decaimento e/ou formação de cor ICUMSA no caldo	66
4.3.2 Cinética de turbidez do caldo.....	71
4.3.3 Cinética de degradação de sacarose.....	75
4.4 Redes neurais artificiais	79
4.5 Espectrometria de massas dos ensaios de peroxidação	88
6 CONCLUSÃO	97
REFERÊNCIAS	99
APÊNDICE	107

RESUMO

Cinética química do decaimento de cor ICUMSA de caldo de cana-de-açúcar por reação de oxidação com peróxido de hidrogênio em reatores de fase homogênea

O processo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar tem sido alvo de vários trabalhos de pesquisa, no intuito de melhorar a qualidade do açúcar obtido, tanto do ponto de vista de novas tecnologias em equipamentos e processos, quanto a respeito do estudo das propriedades físico-químicas da sacarose durante sua decomposição na clarificação. Os POA (Processos Oxidativos Avançados) têm sido aplicados, em especial, ozonização do caldo, tal qual este projeto propõe estudar uma alternativa ao processo convencional de sulfitação do caldo para a obtenção do açúcar cristal branco, através da utilização do peróxido de hidrogênio como agente de redução de cor ICUMSA do caldo e o impacto na degradação da sacarose em compostos não-cristalizáveis, reduzindo o rendimento industrial. Não há relatos na literatura sobre condições ideais de uso do peróxido de hidrogênio, bem como quais alterações essa tecnologia pode ocasionar no caldo. Por isso, buscaram-se elucidar quais são as melhores condições de trabalho e quais fatores influenciam na sua ação, bem como quais são os seus efeitos sobre o caldo tratado. As melhores condições para o uso do peróxido de hidrogênio são: pH entre 3,0 e 7,0, temperatura entre 40 a 70°C, peróxido de hidrogênio maior que 600 ppm e dextrana menor que 750 ppm. Pode-se verificar que a maturidade da cana-de-açúcar no corte pode influenciar na ação do peróxido de hidrogênio, uma vez que quanto maior o grau de maturação da cana-de-açúcar, maior quantidade de compostos fenólicos e maior a cor inicial do caldo. A cinética de degradação da cor ICUMSA não apresentou distribuição regular, oscilando em pequenos intervalos de tempo, devido provavelmente à pequena quantidade de peróxido de hidrogênio utilizada nos ensaios. Não houve diminuição visual da cor do caldo quando utilizado doses até 5.000 ppm de H_2O_2 . Com relação à turbidez, não foi possível identificar a influência da peroxidação nos valores. Houve degradação de sacarose quando foi feito o tratamento combinando temperatura elevada (62°C) com pH ácido (3,8). A rede neural artificial (RNA) mostrou um bom ajuste na maioria dos casos apresentados e indicou a variável temperatura como a que apresentou maior influência na diminuição da absorbância à 420 nm. A segunda variável com maior influência foi o Brix do caldo de cana-de-açúcar. A espectrometria de massa mostrou que a peroxidação, nas condições reacionais avaliadas, não foi capaz de reduzir significativamente a cor do caldo, sugerindo que haja uma promoção de sedimentação de algumas impurezas do caldo, o que faz com que haja uma diminuição visual da cor do mesmo, não ocorrendo aparentemente reação química no caldo, quando utilizamos doses de 50.000 ppm. Assim o peróxido de hidrogênio não funcionou como um agente clarificante, nas condições estudadas.

Palavras-chave: *Saccharum*; Peróxido de hidrogênio; Cor; Enxofre; Oxirredução; Precipitação

ABSTRACT

Chemical kinetics of the decay of ICUMSA color sugarcane juice by oxidation with hydrogen peroxide in homogeneous phase reactors

The process of sugarcane juice clarification has been the subject of several research papers in order to improve the quality of sugar obtained both from the point of view of new technologies in equipment and processes, as concerning the study of physico-chemical properties of sucrose during decomposition in clarification. The AOP's (Advanced Oxidation Process) have been applied in particular ozonation of the juice as such this design proposed to study an alternative to conventional process sulphiting of the juice to obtain sugar white crystal through the use of hydrogen peroxide as reduction ICUMSA color of juice and the impact on the degradation of sucrose into non-crystallizable compounds by reducing industrial productivity agent. There are no reports in the literature on optimal conditions of use of hydrogen peroxide as well as the technology changes which may result in the juice. Therefore, we sought to elucidate what are the best working conditions and factors which influence in its action, and what are its effects on the treated juice. The best conditions for the use of hydrogen peroxide are: pH lower than 7.0 or higher than 3.0, temperature greater than 40 °C and below 70 °C, hydrogen peroxide greater than 600 ppm and lower than 750 ppm dextran. We observed that the maturity of the sugarcane cutting can influence the action of hydrogen peroxide, since the more mature sugarcane, a greater number of phenolic compounds are produced and the higher the initial color of the juice. The kinetics of ICUMSA color degradation showed no regular distribution, oscillating at short time intervals, probably due to the small amount of hydrogen peroxide used in the tests. There was no visual color decrease of the juice. Regarding turbidity, it was not possible to identify the influence of peroxidation values. There was sucrose degradation when the treatment was made by combining high temperature (62°C) at acid pH (3.8). The artificial neural network (ANN) showed a good fit in most cases presented and indicated the variable temperature with the highest influence on the absorbance decrease at 420 nm. The second variable with the greatest influence was the Brix of sugarcane juice. Mass spectrometry showed that peroxidation in the reaction conditions evaluated was not able to significantly reduce the sugarcane juice color, suggesting a promotion of sedimentation of some impurities in the juice, hindering a reduction of its visual color, and apparently, there was no chemical reaction in the juice, using rate of hydrogen peroxide of 50,000 ppm. Thus hydrogen peroxide did not work as a clarifying agent, in the studied conditions

Keywords: *Saccharum*; Hydrogen peroxide; Color; Sulphur; Oxidation-Reduction; Precipitation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Saccharum officinarum</i>	29
Figura 2 - Fluxograma geral da produção de açúcar cristal branco, destacando as etapas, produtos e resíduos do processo.....	33
Figura 3 - Forno de queima do enxofre.....	34
Figura 4 – Estruturas químicas de alguns pigmentos encontrados em cana-de-açúcar.....	37
Figura 5 – Vias de formação de pigmentos marrons (Extraído do original “Citation Classic” de HODGE, 1953).....	38
Figura 6 - (A) Diagrama esquemático de íons em um FT MS; (B) Ilustração de uma célula de ICR.....	51
Figura 7 - Ilustração esquemática de um Ion Trap M.....	52
Figura 8 - Representação esquemática do sistema reacional utilizado no acompanhamento cinético da peroxidação de caldo de cana-de-açúcar a 45°C com duas concentrações de H ₂ O ₂ (1000 e 50.000 ppm).....	53
Figura 9 - Valores de pol aparente (%) obtidos da variedade de cana-de-açúcar RB 85-5453.....	56
Figura 10 - Superfície de resposta para interação das variáveis X3: peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) e X4: dextrana para obtenção de menores valores de cor ICUMSA através da peroxidação.....	59

- Figura 11 - Superfície de resposta para interação das variáveis X1: pH e X3: peróxido de hidrogênio (H_2O_2) para obtenção de menores valores de cor ICUMSA através da peroxidação.....60
- Figura 12 - Superfície de resposta para interação das variáveis X3: peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e X2: temperatura para obtenção de menores valores de cor ICUMSA através da peroxidação.....61
- Figura 13 - Superfície de resposta para a interação das variáveis X1:pH e X2: temperatura para obtenção de menores valores de cor ICUMSA através da peroxidação.....61
- Figura 14 - Superfície de resposta para a interação das variáveis X4:dextrana e X1: pH para obtenção de menores valores de cor ICUMSA através da peroxidação.....62
- Figura 15 - Superfície de resposta para interação das variáveis X4:dextrana e X2: temperatura para obtenção de menores valores de cor ICUMSA através da peroxidação.....63
- Figura 16 - Valores de sacarose (mg/mL) para os ensaios de otimização do uso de peróxido de hidrogênio para redução da cor do caldo.....64
- Figura 17 - Valores de frutose (mg/mL) para os ensaios de otimização do uso de peróxido de hidrogênio para redução da cor do caldo.....64
- Figura 18 - Valores de glicose (mg/mL) para os ensaios de otimização do uso de peróxido de hidrogênio para redução da cor do caldo.....65
- Figura 19 - Superfície de resposta para a interação das variáveis X1:pH e X3: peróxido de hidrogênio para obtenção de valores de açúcares redutores (AR) através da peroxidação.....65

- Figura 20 - Superfície de resposta para a interação das variáveis X1:pH e X2: temperatura para obtenção dos valores de açúcares redutores (AR) através da peroxidação.....66
- Figura 21 - Perfil dos valores de cor ICUMSA obtidos após o tratamento de peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 38°C, pH: 3,8 e H₂O₂: 1011 ppm; (B) Temp.: 38°C, pH: 3,8 e H₂O₂: 3989 ppm; (C) Temp.: 38°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 1011 ppm; (D) Temp.: 38°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 3989 ppm; (E) Temp.: 62°C, pH: 3,8 e H₂O₂: 1011 ppm; (F) Temp.: 62°C, pH: 3,8 e H₂O₂: 3989 ppm.....68
- Figura 22 - Perfil dos valores de cor ICUMSA obtidos após o tratamento de peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 62°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 1011 ppm; (B) Temp.: 62°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 3989 ppm; (C) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (D) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (E) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (F) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 0 ppm.....69
- Figura 23 - Perfil dos valores de cor ICUMSA obtidos após o tratamento de peroxidação para diferentes de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 5000 ppm; (B) Temp.: 50°C, pH: 3,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (C) Temp.: 50°C, pH: 7,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (D) Temp.: 30°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (E) Temp.: 70°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm.....70
- Figura 24 - Perfil dos valores de turbidez obtidos após a peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 38°C, pH: 3,8 e H₂O₂: 1011 ppm; (B) Temp.: 38°C, pH: 3,8 e H₂O₂: 3989 ppm; (C) Temp.: 38°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 1011 ppm; (D) Temp.: 38°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 3989 ppm; (E) Temp.: 62°C, pH: 3,8 e

H₂O₂: 1011 ppm; (F) Temp.: 62°C, pH: 3,8 e H₂O₂: 3989 ppm.....72

Figura 25 - Perfil dos valores de turbidez obtidos após a peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 62°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 1011 ppm; (B) Temp.: 62°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 3989 ppm; (C) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (D) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (E) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (F) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 0 ppm.....73

Figura 26 - Perfil dos valores de turbidez obtidos após a peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 5000 ppm; (B) Temp.: 50°C, pH: 3,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (C) Temp.: 50°C, pH: 7,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (D) Temp.: 30°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (E) Temp.: 70°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm.....74

Figura 27 - Perfil dos valores de sacarose obtidos após a peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 38°C, pH: 3,8 e H₂O₂: 1011 ppm; (B) Temp.: 38°C, pH: 3,8 e H₂O₂: 3989 ppm; (C) Temp.: 38°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 1011 ppm; (D) Temp.: 38°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 3989 ppm; (E) Temp.: 62°C, pH: 3,8 e H₂O₂: 1011 ppm; (F) Temp.: 62°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 1011 ppm.....76

Figura 28 - Perfil dos valores de sacarose obtidos após a peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 62°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 3989 ppm; (B) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (C) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (D) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (E) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 0 ppm; (F) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 5000 ppm.....77

- Figura 29 - Perfil dos valores de sacarose obtidos após a peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 50°C, pH: 3,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (B) Temp.: 50°C, pH: 7,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (C) Temp.: 30°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (D) Temp.: 70°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm.....78
- Figura 30 - Cromatogramas obtidos na análise de teores de sacarose por UFLC para o ensaio : Temp.: 62°C, pH: 3,8 e H₂O₂: 3989 ppm (onde: F= Frutose, G = Glicose e S = Sacarose).....79
- Figura 31 - Representação esquemática da rede neural usada com as variáveis de entrada e saída.....80
- Figura 32 - Coeficiente de determinação (R²) e angular (Coef) em função do número de neurônios (NH= 4 a 10, n° de apresentações = 20000 e LS/TS= 3). (A) Dados LS; (B) Dados TS.....80
- Figura 33 – Valores dos resíduos médios em função dos neurônios (NH= 4 a 10, n° de apresentações = 20000 e LS/TS= 3).....81
- Figura 34 - Importância das variáveis da rede neural (NH=9, n° de apresentações = 20000 e LS/TS= 3).....82
- Figura 35 - Valores de absorvância obtidos na simulação e experimentalmente com diferentes dados de entrada. Sendo que as condições iniciais: (A) Temp: 38°C, Brix: 18, pH: 3,2 , [H₂O₂]: 1.011 ppm; (B) Temp: 38°C, Brix: 17,7, pH: 4,0 , [H₂O₂]: 3.989 ppm; (C) Temp: 38°C, Brix: 18,8, pH: 5,3 , [H₂O₂]: 3.989 ppm; (D) Temp: 38°C, Brix: 17,3, pH: 5,9, [H₂O₂]: 3.989 ppm.....83
- Figura 36 - Valores de absorvância obtidos na simulação e experimentalmente com diferentes dados de entrada. Sendo que as condições iniciais: (A) Temp: 62°C, Brix: 18, pH: 3,1 , [H₂O₂]: 1.011 ppm; (B) Temp: 62°C, Brix: 17,2,

pH: 2,5 , [H₂O₂]: 3.989 ppm; (C) Temp: 62°C, Brix: 17,4, pH: 6,3 , [H₂O₂]: 1.011 ppm; (D) Temp: 62°C, Brix: 16,8, pH: 6,2, [H₂O₂]: 3.989 ppm.....84

Figura 37 - Valores de absorvância obtidos na simulação e experimentalmente com diferentes dados de entrada. Sendo que as condições iniciais: (A) Temp: 50°C, Brix: 15,9 , pH: 5,3 , [H₂O₂]: 2.500 ppm; (B) Temp: 50°C, Brix: 18,1, pH: 5,1 , [H₂O₂]: 2.500 ppm; (C) Temp: 50°C, Brix: 17,9, pH: 4,7 , [H₂O₂]: 2.500 ppm.....85

Figura 38 - Valores de absorvância obtidos na simulação e experimentalmente com diferentes dados de entrada. Sendo que as condições iniciais: (A) Temp: 50°C, Brix: 19,2 , pH: 4,3 , [H₂O₂]: 0 ppm; (B) Temp: 50°C, Brix: 19,1, pH: 3,8 , [H₂O₂]: 5.000 ppm.....85

Figura 39 - Valores de absorvância obtidos na simulação e experimentalmente com diferentes dados de entrada. Sendo que as condições iniciais: (A) Temp: 50°C, Brix: 17,8 , pH: 2,6 , [H₂O₂]: 2.500 ppm; (B) Temp: 50°C, Brix: 17,8, pH: 6,6 , [H₂O₂]: 2.500 ppm.....86

Figura 40 - Valores de absorvância obtidos na simulação e experimentalmente com diferentes dados de entrada. Sendo que as condições iniciais: (A) Temp: 30 °C, Brix: 17,4, pH: 4,8 , [H₂O₂]: 2.500 ppm; (B) Temp: 70 °C, Brix: 17,9, pH: 4,1, [H₂O₂]: 2.500 ppm.....87

Figura 41 - Aspecto do caldo de cana-de-açúcar submetido à peroxidação com doses crescentes (expressas em ppm) de peróxido de hidrogênio a 35%, à temperatura ambiente e sem agitação constante.....88

Figura 42 - Aspecto do caldo de cana-de-açúcar submetido à peroxidação com duas doses (1.000 e 50.000 ppm) de peróxido de hidrogênio a 35%, à temperatura ambiente e sem agitação constante89

- Figura 43 - Espectros de massas referentes ao caldo de cana-de-açúcar submetido à peroxidação com dose de 1.000 ppm de uma solução de peróxido de hidrogênio a 35% (m/m) à 45°C, obtidos por FT-ICR.....91
- Figura 44 - Espectros de massas referentes ao caldo de cana-de-açúcar submetido à peroxidação com dose de 50.000 ppm de uma solução de peróxido de hidrogênio a 35% (m/m) à 45°C, obtidos por FT-ICR.....95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Potencial de oxidação de diferentes oxidantes em água, de acordo com EPA (1998).....	40
Tabela 2 - Processos oxidativos avançados de acordo com Parsons e Williams (2004) e Andreozzi et al. (1999).....	41
Tabela 3 - Valores codificados e reais dos parâmetros do planejamento fatorial completo.....	47
Tabela 4 - Valores de cor ICUMSA das amostras de caldo de cana-de-açúcar tratadas com peróxido de hidrogênio retiradas de minuto a minuto no tempo total de 10 minutos para diferentes meses de colheita (Abril, Maio e Junho).....	57
Tabela 5 - Planejamento Fatorial 2^4 com 3 pontos centrais e 8 pontos axiais.....	58
Tabela 6 – Análise da variância para redução de cor ICUMSA.....	63
Tabela 7 - 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 = 9; 20.000 apresentações).....	81

1 INTRODUÇÃO

Há uma crescente preocupação quanto ao uso de sulfito em alimentos, devido a dificuldade de quantificar com precisão a quantidade de sulfito ingerido diariamente e a associação existente do consumo do mesmo aos riscos à saúde dos consumidores (MACHADO et al., 2006). Segundo a Food and Agriculture Organization (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, sendo que muitas vezes podem não associar as reações sofridas ao sulfito presente no alimento. Asmáticos podem ter suas crises asmáticas aumentadas devido a ingestão do mesmo (PAPAZIAN, 2013).

Várias providências estão sendo tomadas com o objetivo de diminuir ao máximo o seu uso pela indústria uma vez que qualquer pessoa pode desenvolver sensibilidade ao sulfito em qualquer fase da vida. Há uma emenda proposta na Câmara dos Deputados Federais do Brasil, que estabelece a redução dos teores de sulfito em açúcar para o consumo humano, assim como apoia a disponibilização de crédito para as usinas se adaptarem e buscarem alternativas para redução do mesmo ou até a eliminação do seu uso no processo¹. Devido a necessidade de substituição da sulfitação (processo tradicional), outros processos alternativos têm sido propostos buscando por novas tecnologias para a clarificação do caldo de cana-de-açúcar. Dentre estes, o uso do peróxido de hidrogênio tem sido uma alternativa viável na produção de açúcar refinado, sendo que tem como vantagem não exigir grandes modificações na infraestrutura da usina.

O peróxido de hidrogênio tem mostrado, em diferentes estudos discutidos na revisão de literatura, que pode reduzir os teores de aminoácidos, açúcares redutores, amido e polifenóis, consequentemente aumentando a pureza do xarope (produto resultante da concentração do caldo de cana-de-açúcar por evaporação, com teor de sólidos solúveis entre 60 a 70%) e resultando num caldo mais límpido e cristalino devido à redução dos precursores de cor, tais como aldeídos (furfural e 5-hidroximetilfurfural), e remoção de não açúcares (aminoácidos, lipídeos, minerais).

¹ RIBEIRO, P. Disposição sobre teores máximos de dióxido de enxofre residual em açúcar, estabelece normas aplicáveis a operações de crédito industrial ou agroindustrial, e dá outras providências. **Comissão de Seguridade Social e Família**. Emenda substitutiva global: PL 6639 de 2009.

Além disso, não ocorre geração de compostos tóxicos (sulfito de cálcio) como ocorre com o uso do enxofre, sendo atrativo do ponto de vista ambiental. Segundo a literatura, o açúcar tratado com o peróxido de hidrogênio tem como vantagem não sofrer alterações durante seu armazenamento e diminuição de “mela” (ressolubilização).

O H_2O_2 apresenta características físicas e químicas que o tornam uma alternativa viável na clarificação de pigmentos do caldo de cana-de-açúcar. Porém são necessários estudos aprofundados sobre a interação com os elementos presentes no caldo de cana-de-açúcar, de modo que a sacarose seja preservada e que não haja a formação de compostos indesejados, mantendo a qualidade do açúcar branco para o consumidor.

Assim, este trabalho de pesquisa teve como objetivos estudar o uso do peróxido de hidrogênio como agente clarificante do caldo de cana-de-açúcar, bem como:

- a) identificar os fatores que influenciam nas reações de redução da cor ICUMSA do caldo de cana-de-açúcar;
- b) determinar o perfil cinético das reações de oxirredução no caldo tratado com soluções preparadas a partir de peridrol a 35% (v/v), considerando alterações na cor ICUMSA, turbidez e concentrações de sacarose;
- c) obter um modelo de rede neural artificial para prever o comportamento da cor do caldo em função dos dados apresentados e qual das variáveis (tempo, temperatura, pH e dosagem de H_2O_2) que apresentou a maior influência;
- d) verificar a formação de possíveis compostos resultantes da peroxidação do caldo de cana-de-açúcar.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Na agroindústria da cana-de-açúcar a composição da matéria-prima e a compreensão das propriedades químicas e reacionais de seus componentes durante o processamento são de fundamental importância para estabelecer novas tecnologias com maior eficiência e, principalmente, maior viabilidade econômica em todas as etapas de produção, incluindo as etapas de tratamento do caldo – purificação e clarificação.

2.1 Cana-de-açúcar e sua importância mercadológica

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) (Figura 1) se constitui no suporte da maior indústria agrícola do mundo em razão do enorme valor econômico e notável difusão geográfica, possuindo diferentes centros de origem, sendo algumas espécies da Oceania e outras asiáticas (VILA, 2006).

Figura 1 - *Saccharum officinarum*

Fonte: Wikipedia (2013)

O colmo é cilíndrico, ereto, fibroso e rico em sacarose, sendo a propagação feita por meio dos colmos com 2-3 gemas. É uma planta perene da família Poaceae e gênero *Saccharum* (GODOY; TOLEDO, 1972).

Açúcar, etanol potável e/ou combustível, alimentação animal (variedades forrageiras), produtos tradicionais tais como: rapadura e açúcar mascavo podem ser

produzido a partir da cana-de-açúcar (BRAZ, 2003). Segundo Neves e Conejero (2007), o sistema agroindustrial da cana-de-açúcar é complexo dependendo de fornecedores de cana-de-açúcar e de bens de capital. Os três produtos principais (açúcar, etanol e energia) são distribuídos na forma de combustíveis, energia elétrica, alimentos e através de "tradings" exportadoras. Segundo Cortez et al. (1992), os coprodutos, como bagaço, palha, vinhaça, torta de filtro, levedura, entre outros, podem ser destinados a outras agroindústrias; bem como, a utilização de vinhaça, cinzas, fuligem e torta de filtro na forma de fertilizantes organo-minerais.

Segundo a União dos Produtores de Bioenergia (UDOP, 2013), o Brasil teve uma produção de cerca de 590 milhões t de cana em 2012/2013, valor semelhante ao estimado para a safra 2013/2014. Segundo a União da Indústria de Cana-de-Açúcar (UNICA, 2013), na safra 2012/2013, foram produzidos mais de 38 milhões de t de açúcar, sendo que destes, quase 19 milhões de t foram exportadas; fato que tem caracterizado o Brasil como maior produtor e exportador mundial de açúcar cristal. Até 2018/2019, a produção de açúcar deve atingir 47,34 milhões de t, sendo que 32,6 milhões deverão ser exportados (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2013). Esses dados mostram que a indústria sucroenergética tem importância relevante quanto ao açúcar para o consumo humano, além de ser importante para o agronegócio nacional (RODRIGUES; 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. Fernandes et al. (2004) afirmam que o açúcar proveniente da cana-de-açúcar está entre os produtos mais consumidos e a indústria açucareira cresce continuamente, não só em porte, mas também em tecnificação e qualidade.

O estado de São Paulo (responsável por 60% da produção nacional) tem média de 80-85 t/ha, em ciclo de cinco a seis cortes, com uma qualidade entre 14-15,5% (m/m) de Pol (teor de sacarose aparente em base mássica), o que equivale ao rendimento médio de 140-155 kg açúcares totais/t cana, respectivamente (SEAG, 2012) e segundo conversões do IAA em base a 1 Kg de açúcar standard equivale a 1,04726 Kg de ART (açúcar redutor total).

Os avanços foram intensos nos últimos 30 anos e alguns resultados já podem ser observados, como um maior número de variedades da cana-de-açúcar; controles biológicos na sua produção agrícola; e aumento na capacidade de geração de

energia elétrica (CANA-DE-AÇÚCAR, 2013). No entanto, é sabido que os processos industriais no processamento da cana-de-açúcar e caldo extraído nas usinas não sofreram quaisquer modificações há mais de 80 anos (BRASILAGRO, 2013). Logo, é notável que o desenvolvimento de novas tecnologias para a purificação e clarificação do caldo de cana-de-açúcar para a fabricação de açúcar cristal seja um ponto crítico ao processo industrial, ainda mais se levarmos em conta outro fato importantíssimo que se refere às barreiras impostas pela Comunidade Européia ao açúcar branco sulfitado. O açúcar cristal branco obtido pelo processo convencional de clarificação (através da sulfitação) é um produto que encontra barreiras à sua exportação devido a questões de saúde pública, dado à presença potencial de compostos reduzidos de enxofre tais como: dimetildissulfeto, dimetilsulfito, sulfeto de hidrogênio e metilmercaptana. Ressalta-se ainda que o açúcar bruto, denominado VHP (“Very High Polarization”), é o tipo de açúcar mais exportado pelo Brasil (~60% da produção nacional), apresentando cristais amarelados, os quais são utilizados como matéria-prima para outros produtos de maior valor agregado (BAYMA, 1974).

Sendo o açúcar branco um produto de boa aparência e fácil solubilidade, no entanto, apresenta potencialmente maior teor residual de compostos reduzidos de enxofre, os quais são associados a doenças respiratórias nos EUA (CAMPAGNA et al., 2004).

2.2 Sulfito: Problemática envolvida

Favero et al. (2011) relatam que a deficiência da enzima sulfito-oxidase, que está presente naturalmente nos seres humanos, pode estar relacionada com as reações adversas sofridas pelos agentes sulfitantes. Pessoas asmáticas podem ser induzidas a terem episódios de asma ou broncoespasmos após a ingestão de alimentos com sulfito. Assim como indivíduos sensíveis ao sulfito podem apresentar sensação de desconforto na garganta, congestionamento no peito, tosse, hipotensão e dermatite de contato (POPOLIM, 2009; PAPAIZIAN, 2013; MACHADO, 2008). Enfatiza-se também a preocupação existente de outros países com a quantidade de sulfito presente em alimentos e a importância da limitação quanto a seu uso. Assim Telles-Filho (2013) afirma que devido aos casos relatados de reações adversas após ingestão de sulfito, surge a necessidade de um controle mais rigoroso sobre o uso em alimentos visando à segurança da saúde humana. Em trabalho publicado por

Machado et al. (2006), além de evidenciar toda a problemática envolvida pelo uso de agentes sulfitantes como aditivos alimentares em relação a saúde humana, eles recomendam que seja feito o uso de métodos alternativos de conservação pelas indústrias de alimentos e bebidas como tentativa de minimizar esses efeitos.

O governo 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 Canada. Na cartilha estão descritos os principais sintomas causa pela alergia e quais pessoas estão suscetíveis a esses problemas, que são as quem tem sensibilidade ao mesmo. Além disso, também descreve a preocupação do país com a regularização de rótulos explicitando a presença de resíduos de sulfito, bem como a fiscalização da veracidade das informações. Ou seja, é uma medida que o governo adotou para esclarecer uma questão que tem sido frequentemente levantada e discutida no mundo todo (HEALTH CANADA, 2012).

2.3 Produção de açúcar cristal branco

A cana-de-açúcar ao chegar à usina é descarregada na mesa receptora e transportada pelas esteiras à etapa do preparo, que é feito por jogos de facas e desintegradores. A extração do caldo é feita ao passar pelas moendas, sendo que o resíduo, denominado bagaço, é utilizado para geração de vapor pela sua queima nas caldeiras. O caldo é conduzido à fase de purificação (peneiragem, sulfitação e caleagem). Ocorre em seguida a etapa de aquecimento e decantação. Dessa etapa, o resíduo resultante é a torta de filtro produzida através da filtragem do lodo da decantação. O caldo clarificado é enviado para a etapa de evaporação e cozimento. A sacarose do xarope, que é o produto resultante da evaporação, passa pelo processo de cristalização e gera como produto a massa cozida. Essa massa passa pelo processo de centrifugação, onde ocorre a separação do entre o mel e os cristais. O açúcar, então, passa pelas etapas finais: secagem, classificação, acondicionamento e armazenamento (MARQUES et al., 2001). O fluxograma simplificado da produção de açúcar está demonstrado na Figura 2:

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

2.3.1 Clarificação do caldo de cana-de-açúcar

A purificação visa a obtenção de um caldo livre de impurezas, claro e transparente, envolvendo etapas de peneiragem, tratamento químico, aquecimento, decantação e filtração do caldo (MARQUES et al., 2001; DAL-BEM et al., 2006). A falta de eficiência do processo de purificação/clarificação do caldo se traduz em um açúcar de menor qualidade, com forte presença de cor e pontos pretos (ENGENHO NOVO, 2013a). A medição de cor está relacionada com o decréscimo da quantidade de luz que passa através de uma solução, sendo que a diminuição dessa passagem

pode ser causada pela absorção de luz por compostos coloridos e/ou dispersão da mesma por compostos de peso molecular elevado ou partículas em suspensão. (MARQUES et al., 2001). A sulfitação é atualmente um processo indispensável na produção deste açúcar com menor coloração, onde o anidrido sulfuroso (SO_2) é misturado ao caldo, reagindo quimicamente com substâncias pigmentosas que dariam cor ao açúcar, além de transformar os compostos férricos coloridos em compostos ferrosos incolores (ENGENHO NOVO, 2013b). A obtenção do anidrido sulfuroso é feito através da queima do enxofre feita em forno rotativo (Figura 3). No entanto, novas tecnologias têm sido avaliadas no intuito de melhorar a eficiência industrial, bem como, melhorar a qualidade da matéria-prima com, por exemplo, o melhoramento genético trazendo novas variedades (SCORTECCI et al., 2012) e dos produtos derivados da cana-de-açúcar. Entre estas opções tecnológicas, o uso de agentes com alto potencial redox como o peróxido de hidrogênio (MANE et al., 1992, 1988 e 2000), bem como processos físicos, como ultrafiltração reportada por Okuno e Tamaki (2002) são propostas avaliadas atualmente no país.

Figura 3 - Forno de queima do enxofre (Arquivo pessoal - R.B. Lima)

A purificação do caldo ocorre através da coagulação, floculação (pode ser obtida por uma mudança de pH do caldo, utilizando-se reagentes químicos seguida de aquecimento) e precipitação dos colóides e substâncias corantes, eliminadas por decantação e filtração (LEITÃO, 1973). As reações que ocorrem durante o processo de sulfitação são descritas na Expressão abaixo, quando o gás é borbulhado no caldo em contracorrente através da coluna de contato (ou de sulfitação), ocorrendo reação com a água, gerando ácido sulfuroso e esta solução contendo H_2SO_3 molecular não dissolvido e íons dissolvidos de HSO_3^- (DELGADO e CESAR, 1990):

A clarificação do caldo é constituída pelas etapas de sulfitação (contato contracorrente do caldo e SO_2), caleagem (o caldo recebe leite de cal) e adição de compostos poliméricos para aumentar a velocidade de sedimentação das impurezas. Os agentes coagulantes, em geral, são sais de cátions trivalentes (Al^{+3} , Fe^{+3}) cujo poder complexante é muitas vezes maior que o de cátions bi e monovalentes. Os flocos por eles formados apresentam grande superfície de adsorção de colóides e de material em suspensão. Para que a coagulação ocorra é necessário que o meio esteja alcalino, o que é conseguido pela adição de agentes alcalinizantes tais como: óxido de cálcio (cal virgem), hidróxido de cálcio (cal hidratada), hidróxido de sódio ou carbonato de sódio. Tais reagentes quando adicionados ao caldo modificam o seu pH, e aliados ao efeito da temperatura formam precipitados que removem as impurezas (KOBELITZ, 1998) As reações ocorridas pela adição do leite de cal estão descritas abaixo.

- Adição do leite de cal

- Reação inicial

- Continuando a reação

Atualmente, ainda não se tem estabelecido um pH ótimo para o processo de clarificação, mas sabe-se que a simples aplicação de cal (no caldo fresco) até alcançar um pH entre 7,5 e 8,5 produzirá uma clarificação satisfatória. O aquecimento posterior do caldo tem por objetivo acelerar e facilitar a coagulação e floculação de colóides e elementos protéicos, emulsificar matérias graxas e ceras, ou seja, acelerar o processo de clarificação, aumentando a eficiência da decantação. A filtração, etapa posterior à decantação do caldo clarificado, é fundamental para a remoção não apenas de colóides, mas também de impurezas em suspensão (LEITÃO, 1973).

A obtenção do caldo clarificado ocorre através do aquecimento e decantação, sendo que esse caldo segue para as etapas de concentração (MARQUES et al., 2001; TFOUNI et al., 2007). Defecação simples (emprego de cal e aquecimento para obtenção de açúcar VHP) e sulfo-defecação (antes do tratamento com cal e aquecimento, ocorre adição de SO₂ ao caldo para fabricação de açúcar branco) são os modelos que predominam no Brasil (KOBLOITZ, 1998; REIN, 2007). A clarificação tem como finalidade obter um líquido turvo com coloração amarelada e não um líquido límpido. A acidificação do caldo de cana-de-açúcar faz com que haja mudança na coloração devido à degradação da clorofila, sendo que o caldo tende a perder a tonalidade de verde indo para o amarelo com o aumento da quantidade de ácido adicionada (PATRI et al., 2005).

2.4 Pigmentos da cana-de-açúcar

Não somente os açúcares são componentes importantes na obtenção de um açúcar cristal de qualidade, mas há outros componentes na cana-de-açúcar, como os pigmentos presentes no colmo (principalmente, nas cascas e folhas) que podem promover um aumento na coloração do açúcar. Segundo Mersad et al. (2003), os pigmentos são fontes de significativos problemas durante a produção de açúcar branco e para Bovi e Serra (2001), a presença de impurezas vegetais (como folhas nos carregamentos de cana-de-açúcar entregues nas usinas de açúcar) tem preocupado os técnicos não somente por se tratar de material que prejudica os processos tecnológicos, mas como fonte de geração de cor no caldo e, conseqüentemente, cor no açúcar final. Basicamente, os pigmentos no açúcar podem ser de dois tipos: naturais e os formados durante o processo industrial. A cana-de-açúcar possui mais pigmentos que a beterraba sacarina e estes pigmentos são encontrados principalmente no caldo após a moagem (SMITH; PATON, 1985). A cana-de-açúcar possui diversas substâncias, estruturas apresentadas na Figura 4, que proporcionam cor ao caldo como clorofilas (insolúvel em água), antocianinas (precipitada com excesso de cal), sacaretina (presente na fibra e cascas, é solúvel em meio alcalino ou meio ácido) e polifenóis (ARAÚJO, 2007).

Antocianinas

Estrutura básica do fenol

Clorofila

Figura 4 – Estruturas químicas de alguns pigmentos encontrados em cana-de-açúcar.

Todos os pigmentos envolvidos na fabricação do açúcar entram misturados ao caldo de cana-de-açúcar durante a extração. Como já mencionado, as clorofilas, xantonas e β -caroteno são insolúveis em água e são prontamente removidos durante a clarificação (BOURZUTSCHKY, 2005), no entanto, deve ser mencionado que Clarke et al. (1986) observaram a presença de compostos similares às clorofilas em açúcar bruto. Os flavonóides são um grupo a ser estudado, sendo estes solúveis em água, eles passam através do processo e podem ser encontrados nos cristais de açúcar. Este é particularmente o caso daqueles flavonóides glicosilados, como as antocianinas, as quais são polifenólicos solúveis em água, decompondo-se a altas temperaturas e pH, formando compostos precursores de cor. Gillett (1953) reportou que a carbonatação remove completamente as antocianinas e a sulfitação parcialmente, embora ácido sulfuroso descolore-as temporariamente.

Durante a produção de açúcar, o caldo pode escurecer devido à formação de caramelos provenientes de reações de degradação e condensação da glicose e/ou frutose em altas temperaturas, complexos de ferro, sacaretina e melaninas provenientes de reações de açúcares com aminoácidos por via de reações de Maillard (ARAÚJO, 2007). Segundo Castro e Andrade (2007), a sacaretina em

contato com soluções ácidas é incolor, no entanto, em contato com soluções alcalinas toma a cor amarela intensa. Dentre os pigmentos formados durante o processamento da cana-de-açúcar estão as melanoidinas. São substâncias poliméricas e coloridas das reações de Maillard, responsáveis por propriedades físicas como cor e viscosidade e, propriedades sensoriais como estabilidade de substâncias aromáticas (HAYMAN, 2013). São importantes pelos aspectos nutricional, fisiológico e ambiental, bem como, devido à sua complexidade estrutural, cor escura e odor (CHANDRA et al., 2008). Temperatura, pH, umidade e presença de açúcares são fatores envolvidos nas reações de escurecimento, ditas não-enzimática (ESKIN et al., 1971). Conforme ilustrado na Figura 5, Hodge (1953) propôs que ocorre formação de melanoidinas, bem como também de vários compostos voláteis e aromas tais como aldeídos, cetonas e pirazinas, via intermediários como HMF (hidróximetil-furfural), redutonas, aldiminas e outros.

Figura 5 – Vias de formação de pigmentos marrons (Extraído do original “Citation Classic” de HODGE, 1953).

Segundo Painter (1998), as melanoidinas estão comumente presentes em alimentos, bebidas e em grande quantidade em produtos agroindustriais, como melaço e açúcares. Para a indústria açucareira, constituem um grande problema, principalmente durante a cristalização devido à perda de pureza do açúcar branco (MERSAD et al., 2003). As melanoidinas podem ser descoloridas pela ação de algumas espécies de oxigênio ativo (O_2^- , H_2O_2) produzidas por diferentes reações químicas e/ou enzimáticas (CHANDRA et al., 2008).

2.5 Processos oxidativos avançados na clarificação

O consumo de produtos alimentícios mais saudáveis, com ausência de resíduos tóxicos de processo de degradação e conservantes, ou agrotóxicos, é uma tendência nos mercados interno e externo (ARAÚJO, 2007). Assim, a realidade no mercado mundial é o consumo do açúcar branco isento de resíduos de compostos reduzidos de enxofre. Diante disto, muitos processos oxidativos avançados (POA ou AOP, do inglês Advanced Oxidative Processes), como o uso de O_3/H_2O_2 , O_3/UV , O_3 /metais, têm sido desenvolvidos numa tentativa de aumentar a eficiência do processo de clarificação, bem como, de reduzir o impacto na qualidade nutricional dos alimentos. Tradicionalmente, os POA são empregados para o tratamento e desinfecção de água, sendo que o primeiro trabalho utilizando o ozônio como desinfetante foi realizado em 1886 (TEIXEIRA; JARDIM, 2004). Os POA se baseiam na ação de espécies altamente oxidantes, denominadas radicais hidroxila ($\bullet OH$), geradas no sistema reacional, sobre compostos orgânicos que podem ser mineralizados parcial ou total (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - EPA, 1998). O radical $\bullet OH$ é uma espécie altamente reativa, que ataca a maior parte das moléculas orgânicas e apresenta baixa seletividade para reagir, sendo ideal para o tratamento de efluentes contendo várias classes de compostos orgânicos (ANDREOZZI et al., 1999). Os POA podem ser divididos em processos homogêneos (apenas uma fase) e heterogêneos (sistema polifásico na presença de catalisadores sólidos).

Os POA têm sido alvo de muitos estudos nas últimas décadas, uma vez que são tecnologias com potencial para tratamento de uma grande variedade de compostos químicos, recalcitrantes ou não (CARDONA, 2001; EPA, 1998).

O tratamento de efluentes com processos biológicos e convencionais é dificultado pela presença de compostos tóxicos e recalcitrantes em efluentes, sendo uma alternativa o uso de processos de separação de fase (adsorção ou arraste) ou métodos que destruam esses contaminantes (reações de oxirredução). Esses processos de oxidação química tem como vantagem não apresentar resíduos como os processos convencionais de separação de fase, uma vez que possuem como característica principal a possibilidade de se alcançar a completa mineralização de compostos orgânicos, formando água, CO₂ e compostos inorgânicos, em condições de temperatura ambiente e pressão atmosférica, (ANDREOZZI et al., 1999).

Os potenciais padrão de redução (EPH) de várias espécies oxidantes e mostra que o radical •OH apresenta o maior potencial estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Potencial de oxidação de diferentes oxidantes em água, de acordo com EPA (1998)

OXIDANTE	POTENCIAL PADRÃO DE REDUÇÃO (V)
•OH (Radical hidroxila)	2,80
O• (Oxigênio singlet)	2,42
O ₃	2,07
H ₂ O ₂	1,77
Radical hidroperóxido (HO ₂)	1,70
F ₂	3,08
Íon permanganato (MnO ₄ ⁻)	1,67
Dióxido de cloro	1,50
Cloro	1,36
O ₂	1,23

Os sistemas POA apresentam vantagens como: transformar compostos refratários em compostos biodegradáveis e ser usados com outros processos, podendo servir com pré ou pós-tratamento. Se utilizado em quantidade suficiente, o oxidante mineraliza o contaminante e não forma subproduto (TEIXEIRA; JARDIM, 2004).

Há inúmeras combinações entre tipos de POA que podem e vem sendo utilizadas. Na Tabela 2, estão apresentados alguns exemplos desses processos.

Tabela 2 – Processos oxidativos avançados de acordo com Parsons e Williams (2004) e Andreozzi et al. (1999)

<i>Processos Oxidativos Avançados</i>	
Reagente de Fenton ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{+2(+3)}$)	$\text{Mn}^{+2}/\text{ácido oxálico}/\text{O}_3$
Foto-Fenton ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{+2(+3)}/\text{UV}$)	Oxidação supercrítica úmida
Fotocatálise ($\text{TiO}_2/\text{UV}/\text{O}_2$)	Ultra-som
Ultravioleta (UV)	UV/vácuo
$\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$	Oxidação ar úmido
$\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$	Radiação ionizante
O_3/UV	Microondas
$\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3/\text{UV}$	Plasma Pulsado

O uso de agentes redox para descolorir o caldo de cana-de-açúcar durante o processo ou o açúcar branco tem recebido crescente interesse nos últimos tempos. Entre esses oxidantes podemos citar os casos de ozônio, peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hipoclorito; muito embora, não são recomendados compostos que possam produzir subprodutos indesejados no caldo, como clorados, devido às preocupações toxicológicas envolvidas. (DAVIS, 2001 apud NGUYEN; DOHERT, 2011).

O H_2O_2 pode ser utilizado para oxidar um determinado poluente mesmo na presença de outro, ou originar diferentes produtos de oxidação para uma mesma espécie oxidável, controlando-se temperatura, concentração, tempo de reação, adição ou não de catalisadores (MATTOS et al., 2003). Alnaizy e Akgerman (2000) relataram que alguns processos reativos do H_2O_2 tornam-se menos eficientes pela auto-decomposição de H_2O_2 em $\text{HO}^\bullet_2$ (com menor potencial redox) e água. A velocidade máxima de decomposição do H_2O_2 (Equação 1), que foi descrita por Legrini et al. (1993), aumenta à medida que o pH atinge o valor do pKa (11,6).

Alguns mecanismos têm sido propostos quanto à decomposição do H_2O_2 , descrevendo diferentes rotas de degradação de compostos orgânicos. Isto se deve ao fato das interferências inerentes as condições operacionais (temperatura, pH, concentração de H_2O_2 e presença ou ausência de matéria orgânica e/ou contaminantes) (MAMBRIN FILHO, 1999). Algumas reações paralelas podem acontecer à degradação do substrato (Equações 2), sendo que os radicais hidroxilas gerados podem atacar diretamente o substrato (S), oxidando-o a S^* ou o próprio

H_2O_2 , devido ao excesso de oxidante, podendo levar à formação de radicais hidroperoxil ($\text{HO}^\bullet_2$) e, subsequentemente, o radical hidroperoxil pode reagir com o H_2O_2 formando radicais hidroxilas, que podem gerar mais H_2O_2 (ANDREOZZI et al., 2002 apud FLORES, 2008).

Equação 2

2.6 Uso do peróxido de hidrogênio na indústria de alimentos

O H_2O_2 é 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 a 60% (m/v) (MATTOS et al., 2003).

Apresenta usos em diferentes áreas, como: alimentos (envelhecimento artificial de vinhos e licores, em refinaria de óleos e gorduras, esterilização de embalagens em sistema asséptico, clarificação de sucos e açúcar refinado), medicamentos, monitoramento de processos, branqueador na indústria de plásticos, penas, cabelos, pele, marfim, dentes, além de estar presente em inúmeras reações biológicas como principal produto de várias oxidases e é um parâmetro importante na quantificação destes bioprocessos (MARTINEZ-CALATAYUD, 1996; GORTON et al., 1991).

Através de catálise, H_2O_2 pode ser convertido em radical $^\bullet\text{OH}$ com alta reatividade, além de agente oxidante ($\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$; 1,77 V), pode também ser empregado 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) (SCHUMB et al., 1955; EVERSE et al., 1991) sendo que radicais hidroxila destacam-se por possuir a capacidade de degradar diversos compostos orgânicos e reagir de 10^6 a 10^{12} vezes mais rápido (HUANG et al., 1993).

Segundo a Legislação Brasileira (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA, 2012), quando o H_2O_2 é utilizado na tecnologia de alimentos,

é assegurado uma dosagem tal que garanta a segurança e qualidade dos produtos, ou seja:

“Pequenos resíduos de peróxido de hidrogênio em alimentos (os quais foram tratados com soluções de lavagem antimicrobianas), prontos para consumo, não apresentam preocupação quanto à segurança alimentar”.

O uso do peróxido de hidrogênio no tratamento de efluentes industriais e municipais é favorecido pela sua efetividade e a geração de produtos inofensivos na sua decomposição, sendo capaz de remover substâncias indesejadas como sulfeto de hidrogênio, cianetos, hipocloritos, fenóis e outras substâncias orgânicas. Devido às propriedades bactericidas, este é aplicado na desinfecção de água e de alimentos (THOMPSON, 1995).

O uso do H_2O_2 é considerado de baixo custo e não exige grandes modificações na infraestrutura das usinas, o que se torna ainda mais atrativo como promissor branqueador na indústria de açúcar (MADSEN et al., 1978). Segundo Barrault et al. (1998), as condições de reação requeridas para o uso do H_2O_2 são próximas às condições ambientais, ou seja, 0,1 a 0,5 MPa de pressão e temperaturas menores que 80°C , permitindo a decomposição de uma série de compostos orgânicos, com baixo consumo energético. Estas condições reacionais são favoráveis à manutenção dos teores de sacarose, evitando a decomposição térmica. No tratamento do caldo de cana-de-açúcar com H_2O_2 , há reduções significativas nos teores de aminoácidos, açúcares redutores, amido e polifenóis, ocorrendo ainda diminuição nos teores de cinzas e de viscosidade, bem como o aumento na pureza do xarope pela remoção dos não-açúcares (MADSEN et al., 1978; MANE et al., 1998, 2000). Destacando ainda a notável redução nos precursores de cor que possuem baixo peso molecular (melanoidinas), através dos processos de oxidação, resultando num caldo mais límpido e transparente, atendendo às exigências industriais que preconizam um produto com menor intensidade de cor.

A remoção destas substâncias promotoras de cor, se já presente no caldo ou formadas durante o processamento, em processos com sulfitação era facilitada na presença de H_2O_2 . Além de refletir, na diminuição e até mesmo eliminação no teor de $\text{SO}_2/\text{HSO}_3^-$ presente no açúcar obtido por sulfitação (ACCORSI et al., 1988; MANE et al., 1992, 1998, 2000), o que caracteriza um produto de qualidade superior,

atendendo as expectativas dos consumidores mais exigentes. Segundo Mane et al.(2000), a cor do açúcar tratado por peroxidação permanece sem sofrer alterações por longos períodos de armazenamento, uma vez que há predominância de reações irreversíveis durante a destruição das substâncias corantes. Há uma diminuição na quantidade de água doce (“mela”) e de efluentes gerados durante a fabricação do açúcar.

Nguyen e Dohert (2011) avaliaram a potencial degradação de compostos fenólicos do caldo de cana-de-açúcar por peróxido de hidrogênio e por reação Fenton, sendo que foi possível verificar houve degradação de ácido cafeíco, um dos compostos fenólicos presente no caldo, assim como houve redução da cor do caldo. A reação Fenton, em que o ferro é utilizado como catalisador em condições de meio ácido, mostrou ser um oxidante efetivo para degradação do ácido cafeíco quando comparada com o uso do peróxido apenas.

Davis et al. (2000) constataram que o H_2O_2 manteve inalterada a cor do açúcar refinado estocado e reduziu o aumento de cor durante o cozimento em ensaios feitos em refinarias na África do Sul. O uso de H_2O_2 também foi relatado por Carlini-Junior et al. (2006) na produção de açúcar refinado em usina localizada no Estado de Pernambuco (Brasil), em sua injeção é feita na etapa de dissolução do açúcar bruto para produção de calda.

Segundo Bento (2004 apud REIN, 2012), o uso de H_2O_2 trouxe inúmeros benefícios, uma vez que o H_2O_2 quebra as ligações duplas conjugadas e ácidos carboxílicos são formados, com diminuição da massa molecular dos corantes, há um aumento das chances de ser removido pela coluna de resina de troca iônica.

Logo, a dissertação propõe o estudos cinéticos envolvidos nos processos de oxirredução de compostos pigmentosos na forma de absorbância a 420 nm presentes no caldo de cana-de-açúcar, admitindo que a peroxidação tem sido uma prática cada vez mais presente nas usinas brasileiras, seja como auxiliar no processo de sulfitação ou como descorante de açúcar refinado, ou ainda como clarificante do caldo de cana-de-açúcar, que é a função estudada nesta dissertação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Reagentes e soluções

Os seguintes reagentes foram utilizados: Peridrol a 35% (v/v) doado pela Solvay-Peróxidos do Brasil; Permanganato de potássio; Ácido Sulfúrico (Sigma-Aldrich – Pureza: 95 a 98%); Padrões de HPLC e Espectrometria de massas: Sacarose , Glicose e Frutose (Sigma-Aldrich); Dextrana (Symylar); Catalase bovina (pó liofilizado, 2.000 – 5.000 unidades/mg proteína – Sigma-Aldrich); Ácido Clorídrico (ECIBRA); Hidróxido de sódio (Synth – Pureza: mín. 99,0%); Acetonitrila (Tedia – Pureza: Grau HPLC).

As soluções utilizadas durante o desenvolvimento do trabalho foram: Permanganato de potássio 0,1N; Ácido sulfúrico 2N e Hidróxido de sódio 1 N.

3.1.1 Caracterização do peróxido de hidrogênio

Para os ensaios de peroxidação do caldo de cana-de-açúcar foi utilizado solução comercial de peróxido de hidrogênio (Interox 35®) fornecido pela Peróxidos do Brasil, Grupo Solvay (São Paulo, SP). 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 (2012), em que se utiliza solução a 0,1N de permanganato de potássio como solução indicadora por titulometria.

Através do volume gasto ($V = 2,1 \text{ mL}$) na titulação e da fatoração do permanganato de potássio ($F = 1,0313$), foi determinada que a concentração do peróxido de hidrogênio utilizado nos ensaios é de $36,8 \text{ g H}_2\text{O}_2/\text{L}$.

3.2 Influência da maturação da cana-de-açúcar na ação do peróxido hidrogênio

A variedade de cana RB 85-5453 foi utilizada nesse experimento devido à disponibilidade para coleta que foi realizada em três meses: abril, maio e junho. Amostras de cana-de-açúcar variedade que foram moídas em moenda Mod. Mause (Piracicaba/SP). O caldo obtido em cada período, teve o pH ajustado para 5,0 e foi tratado com 900 ppm de peróxido de hidrogênio, sendo esses valores pré-

estabelecidos em estudos preliminares de acordo com Urbano et al. (2011). Foram coletadas amostras de minuto a minuto pelo tempo total de 10 minutos. Foram feitas análises de Pol (% sacarose, m/m) e Brix (% sólidos solúveis totais, em massa) do caldo extraído para fazer a curva de maturação (LOPES et al., 1985). E as amostras foram analisadas quanto a cor ICUMSA conforme descritos a seguir.

3.2.1 Cor ICUMSA do caldo de cana-de-açúcar

Foi feita a leitura do Brix de cada amostra e em seguida, a diluição à $1,25 \pm 0,05$ Brix, em triplicata. As amostras foram filtradas e foi feita a correção do pH para $7,0 \pm 0,05$. Foi feita a leitura em espectrofotômetro à 420 nm.

O valor da cor ICUMSA das amostras foi expresso como: **Cor ICUMSA (420 nm) = $[(ABS * 1000)/(densidade * (Brix/100))]$** , onde, *ABS* é a absorbância da amostra lida; densidade é calculada através da leitura do Brix diluído; Brix é o valor de sólidos solúveis totais da amostra diluída. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro a 420 nm com cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm.

3.3 Planejamento e otimização do processo de redução de cor de caldo de cana-de-açúcar por peroxidação

Caldo de cana-de-açúcar: A cana-de-açúcar utilizada nesta etapa foi a variedade SP 81-3250 proveniente de plantação no município de Piracicaba/SP (22°42'S, 47°38'W e 596 m), na Estação Experimental da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/Universidade de São Paulo (ESALQ/USP). O caldo foi obtido com o auxílio de uma moenda Mod. Mause (Piracicaba/SP), em seguida peneirado e acondicionado em frascos de polipropileno e acondicionados em *freezer* a $-18 \pm 2^\circ\text{C}$, em frações homogêneas e subdivididas para os ensaios experimentais e amostragem analítica.

Planejamento: O planejamento fatorial 2^4 completo com 3 repetições do ponto central e 8 pontos axiais foi realizado com o intuito de obter as melhores condições para redução de cor do caldo pelo peróxido de hidrogênio. Os fatores estudados foram pH, temperatura ($^\circ\text{C}$), doses de H_2O_2 (ppm) e dextrana (ppm), para um tempo

fixo de uma hora (1 h), sendo os frascos colocados em agitação constante em *shaker*.

A dextrana é um polímero de glicose produzida a partir de sacarose por microrganismos, especialmente por bactérias do gênero *Leuconostoc*. Tem sido um fator de preocupação por influenciar durante a produção do açúcar, como, por exemplo, ocasionar perda de sacarose, alteração dos cristais e aumento da viscosidade do xarope. O desenvolvimento desse microrganismo pode ser favorecido por danos físicos causados por condições climáticas ou por insetos. Bem como, há relatos da influência da dextrana nos resultados das análises de Pol e Brix. Assim, a dextrana é considerada um fator de relevância a ser considerado no uso do peróxido de hidrogênio como agente clarificante (OLIVEIRA et al., 2002).

Os valores utilizados nos ensaios realizados estão descritos na Tabela 3 abaixo.

Tabela 3 - Valores codificados e reais dos parâmetros do planejamento fatorial completo

Parâmetros	- α (-2)	-1	0	+ 1	+ α (+2)
pH	1,0	3,0	5,0	7,0	9,0
Temp. (°C)	10	30	50	70	90
H₂O₂ (ppm)	0	300	600	900	1200
Dextrana	0	250	500	750	1000

Após a realização de cada ensaio, foi feita a adição de solução de catalase de fígado bovino (2300 UI) para a paralisação da ação do H₂O₂. Amorim et al. (2002) afirma que o uso da catalase para eliminação de resíduos de peróxido de hidrogênio em tecidos de algodão pré-alvejados antes do tingimento melhorou significativamente o resultado do tingimento, uma vez que a enzima catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, acarretando na paralisação da sua ação e sua eliminação.

Assim, as amostras foram devidamente armazenadas em recipientes e analisadas quanto a cor ICUMSA (conforme descrito no item 3.2.1), teores de açúcares (conforme descrito no item 3.3.1) e açúcares redutores, conforme descrito no item 3.3.2 a seguir.

Através das respostas, foi possível obter superfícies relacionando-as com os fatores dois a dois utilizando o programa Statistica 11 (STATSOFT, 2012), bem

como, obter as melhores condições experimentais de peroxidação do caldo de cana-de-açúcar quanto à redução da coloração do mesmo.

3.3.1 Determinação de açúcares presentes no caldo

A dosagem dos açúcares (sacarose, glicose e frutose) foi realizada por CLAE-FR, de acordo com metodologia descrita por Agblevor et al. (2007). Os açúcares foram determinados usando-se cromatógrafo líquido ultra rápido com detector de espalhamento de luz evaporativo a baixa temperatura (UFLC/ELSD-LT) (Projeto Bioen-FAPESP; Processo FAPESP#2008/56146-5). Como fase móvel foi utilizada uma solução mista de acetronitrila/água na proporção de 70/30, previamente filtrada contra membranas Millipore de 0,45 μm , bem como as amostras. A coluna usada foi amino (Shodex NH₂P-50 4E), termostatizada a 30°C. As condições de trabalho foram: fluxo de 1,0 mL/min, temperatura do detector igual a 40°C, pressão de 350 kPa e nitrogênio foi usado como gás de nebulização. As análises foram feitas em triplicada após injeção de 20 μL de cada amostra. Antes das análises quantitativas dos açúcares, soluções-padrão foram preparadas para os açúcares para a elaboração das curvas de calibração (0,1 a 0,5 g/L).

3.3.2 Determinação de açúcares redutores

A amostra inicialmente foi diluída colocando 25 mL da amostra em balão de 100 mL que foi completado com água destilada e, quando necessárias, foram feitas mais diluições para a determinação. Para essa determinação foram misturados 5 mL da solução A (sulfato de cobre) e 5 mL da solução B (tartarato duplo de sódio e potássio, hidróxido de sódio e indicador azul de metileno) dos reativos de Fehling, que foram adicionados no aparelho Redutec e levados à ebulição. Utilizou-se a amostra contendo açúcares redutores como solução titulante e o aparecimento de precipitado vermelho como indicador do ponto de viragem (adaptado de QUISUMBING; THOMAS, 1921).

3.4 Cinética das reações químicas

Os ensaios para avaliar os perfis cinéticos resultantes da clarificação do caldo de cana-de-açúcar foram desenvolvidos a partir de condições experimentais pré-definidas no item 3.3, do qual foram obtidas as condições de otimização do processo de redução da coloração do caldo em função do tempo, sendo considerado um tempo máximo de uma hora e 30 minutos (90 min) e amostragens nos intervalos de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 75 e 90 minutos. Os resultados foram expressos graficamente, considerando valores de cor ICUMSA, Turbidez e Sacarose (mg/mL).

3.4.1 Determinação de turbidez

Foi utilizada a metodologia NBR 9757 (ABNT, 1987) para determinar a turbidez do caldo. A metodologia se constituiu em diluir o caldo até o valor de brix de $1,25 \pm 0,05$ e fazer leitura em espectrofotômetro à 420 nm. Em seguida, a amostra foi filtrada em membrana Sartorius $0,45 \mu\text{m}$ e foi feita uma nova leitura na mesma condições que a primeira. A partir deste dados, foi calculada a utilizando a seguinte equação (Equação 3):

$$Cor = \frac{(ABS \times 1000)}{D \times (Brix \div 100)} \quad \text{Equação 3}$$

Onde: ABS = Absorbância (420 nm), D= Densidade, BRIX (teor de sólidos solúveis)

Após o cálculo da cor antes (Cor i) e depois de filtrada (Cor f), foi feita uma subtração na qual o valor resultante é considerado a turbidez do caldo (Equação 4).

$$Turbidez = Cor\ i - Cor\ f \quad \text{Equação 4}$$

3.5 Redes Neurais Artificiais (RNA)

Modelos matemáticos e de engenharia de neurônios biológicos deram origem a teoria de Redes Neurais (KOVACS, 1996). Segundo Haykin (2001):

“Uma rede neural é um processador maciçamente paralelo e distribuído constituído por unidades de processamento simples, o qual tem a propensão natural de armazenar conhecimento experimental e torná-lo disponível para uso.”

De acordo com Kovacs (1996), Rosenblatt criou uma rede de múltiplos neurônios do tipo discriminadores lineares, denominada de perceptron - Um perceptron é uma rede que possui neurônios dispostos em diversas camadas. A camada de entrada é constituída de neurônios que recebem diretamente as entradas da rede e a camada de saída é a camada final. E as camadas ocultas são as intermediárias, que não são nem de saída e nem de entrada. Para Basheer e Hajmeer (2000), a RNA é uma ferramenta computacional que tem sido utilizada para resolver problemas complexos reais.

Utilizando os dados obtidos durante os diversos experimentos realizados, foi estruturada uma rede neural artificial na qual se permitiu realizar simulações de situações que foram encontradas no laboratório e prever, de maneira empírica, resultados similares aos obtidos experimental baseado nas condições atribuídas.

Os programas utilizados para preparação dos dados, bem como para ajuste e simulação de redes neurais, foram desenvolvidos no CESQ/DEQ-EPUSP (NASCIMENTO et al., 2000). Os dados experimentais foram divididos em um conjunto para ajuste das redes neurais, Learning-Set (LS) e um conjunto de teste para validação, Test-Set (TS). A relação entre o número de dados foi de 2/3 para o conjunto LS e 1/3 para o conjunto TS, sendo que foi feito o treinamento da rede mantendo-se fixo o número de apresentações em 20000. Os dados foram distribuídos aleatoriamente.

3.5.1 Cor do caldo - Absorbância à 420 nm

Baseada em discussão presente na literatura sobre a falta de consenso da melhor metodologia para analisar cor do açúcar e, conseqüentemente, cor do caldo que é adaptada da metodologia feita para analisar açúcar (PUKE; LAKENBRINK, 2013), sugere-se que a cor do caldo não seja baseada em ajuste de pH, mas sim apenas em diluição da amostra para Brix igual a 1,25 e leitura da absorbância à 420 nm em espectrofotômetro, que segundo Rein (2007), que é o comprimento de onda onde a maioria dos compostos presentes no caldo absorvem em maior quantidade.

Essa metodologia foi utilizada para analisar o desempenho do H_2O_2 ao longo do período de 90 minutos, na redução da cor do caldo de cana-de-açúcar dos ensaios que compuseram o treinamento da rede neural.

3.6 Espectrometria de massas com transformada de Fourier de ressonância cíclotron de íons (FT-ICR)

As análises de identificação dos compostos químicos presentes nas reações de peroxidação do caldo de cana-de-açúcar, sob condições reacionais pré-estabelecidas (como indicado a seguir) foram desenvolvidas por espectrometria de massas com transformada de Fourier de ressonância cíclotron de íons (FT-ICR; Figura 6). No detalhe, uma ilustração de uma célula de ICR (Figura 6A). Como uma técnica analítica para a identificação de compostos desconhecidos e/ou quantificação de compostos conhecidos, apresenta alta sensibilidade, uma vez que substâncias podem ser detectadas com quantidades mínimas de amostra (10-12g, 10-15 mol para um composto de massa de 1000 Daltons, ou ainda, ter alta seletividade, ou seja, substâncias podem ser identificadas e quantificadas em concentrações muito baixas (uma parte em 10^{12}) em misturas complexas (IGLESIAS, 2012). A transformada de Fourier de ressonância cíclotron de íons de espectrometria de massas é um tipo de analisador de massas para a determinação da relação massa/carga dos íons sobre a frequência de cíclotron dos íons em um campo magnético fixo.

(B)

(A)

Figura 6 - (A) Diagrama esquemático de íons em um FT MS; (B) Ilustração de uma célula de ICR ((IGLESIAS, 2012)

Os íons gerados na fonte de ionização são introduzidos no espectrômetro de massas pelo uso de um sistema de alto vácuo, a partir do qual os íons entram numa célula (ion trap; Figura 6B) com vácuo da ordem de 10^{-11} mBar e temperatura absoluta zero. A célula está localizada dentro de um campo magnético supercondutor espacialmente uniforme entre 4 – 15 Tesla, o qual é resfriado por Hélio ou Nitrogênio Líquidos. Os íons são aprisionados perpendicularmente ao campo magnético. A voltagem RF é aplicada ao eletrodo anel (ring electrode) para confinar (trap) os íons. Damping gas (Hélio 99,998%) é necessário para reduzir a energia dos íons através de colisões, reduzindo as oscilações até que eles estabilizem próximos ao centro do eletrodo, onde os campos de confinamento estão próximos do ideal (menos distorcidos), apresentando melhor resolução e sensibilidade (Figura 7).

Figura 7 - Ilustração esquemática de um Ion Trap MS (IGLESIAS, 2012)

Neste trabalho, amostras de caldo de cana-de-açúcar foram submetidas ao tratamento em duas concentrações, ou seja, 1000 ppm e 50000 ppm de peridrol (solução de peróxido de hidrogênio a 35% m/m), em banho-maria a 45°C e agitação circular constante (100 rpm), sendo feitas amostragens de 1 mL em intervalos de tempo pré-estabelecidos, sendo: Controle (tempo zero), 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 90 e 120 minutos de reação, conforme ilustra a Figura 8.

2 μL de caldo de cana-de-açúcar foram diluídos em 1000 μL de uma solução de $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1/1) 0,1% NH_4OH , sendo em seguida injetados diretamente por infusão em uma fonte de ionização em electrospray de um espectrômetro de massas Thermo LTQ – FT –Ultra (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) operado em modo negativo. As condições da fonte foram: voltagem do capilar 3.0 kV (íon em modo negativo), cone de amostras 30 V, cone de extração 3.0 V, temperatura da fonte 100°C, temperatura de dessolvatação 100 °C, fluxo de dessolvatação 400 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ de N_2 . Experimentos foram adquiridos entre m/z de 50 a 1500.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Influência da maturação da cana-de-açúcar na peroxidação

Cor é o termo genérico usado para uma vasta gama de componentes que contribuem para a cor do açúcar. A maioria destes compostos são complexos e não são fáceis de quantificar e então a cor é mensurada como o efeito total de todos os corantes na absorção de luz (REIN, 2007).

Segundo Smith e Paton (1985) os compostos coloridos podem ser divididos em dos grupos maiores de acordo com a sua origem: aqueles originados da cana-planta e aqueles formados durante o processo. Davis (2001), em outra classificação, especificou os que são formados no processo e afirmou que existem quatro tipos de compostos coloridos existentes presentes no açúcar: pigmentos das plantas, melanoidinas (que são insensíveis para o pH), caramelos (não sensíveis ao pH), produtos da degradação alcalina da frutose e precursores de cor.

Em relação aos compostos provenientes da cana-de-açúcar trazida do campo, Bovi e Serra (2001) afirmam que a presença de impurezas vegetais (folhas verdes e secas) tem causado preocupação nas usinas, uma vez que causam aumento na cor no caldo clarificado e no açúcar produzido, contribuindo para diminuição da qualidade do açúcar.

Assim, a composição da matéria prima bem como o seu estágio de maturação pode influenciar na eficiência do processo de clarificação do caldo. Foram analisadas amostras diferentes ao longo de 3 meses no início da safra com o objetivo de verificar a existência de relação entre a maturação da cana e a ação do peróxido de hidrogênio na clarificação.

Na Figura 9 são apresentados os valores de POL nos meses de Abril, Maio e Junho para a variedade RB 85-5453. Essa variedade é considerada precoce, o que foi confirmado ao atingir 13% de Pol no mês de Maio.

Figura 9 - Valores de Pol aparente (%) obtidos da variedade de cana-de-açúcar RB 85-5453

Segundo Horii (2004), dependendo da época do ano que atinge a maturação, as cultivares de cana-de-açúcar são classificadas: precoces (quando apresentam um teor de Pol acima de 13% no início de maio), médias (quando atingem a maturação em julho) e tardias (pico de maturação em agosto/setembro).

Em trabalho realizado por Simioni et al. (2006), ao analisar dez variedades de cana-de-açúcar em diferentes épocas de colheita, encontrou em seis delas, aumento da concentração de compostos fenólicos totais com o aumento da idade da planta. Porém Paton (1992), não encontrou nenhuma relação entre cor e compostos fenólicos quando analisou 100 amostras de cana cultivadas em Queensland, Australia. Porém, ela afirma que um dos fatores que podem ter contribuído para esse resultado é que a cor do caldo de cana-de-açúcar é constituída de pigmentos da planta e compostos formados pelo escurecimento enzimáticos, o que pode mascarar essa relação.

Stupiello (2002) relata em estudo realizado que houve aumento da cor ICUMSA dos açúcares devido a entrada de matéria prima com maior teor de compostos fenólicos, que é consequência da colheita mecanizada que introduz maior quantidade de impurezas vegetais.

Na tabela 4 são apresentados os valores de cor ICUMSA obtidos para as diferentes amostras. É possível perceber que houve a diminuição da cor ICUMSA na cana-de-açúcar colhida no mês de Abril de 18,6 % no tempo total de 10 minutos, enquanto que em Maio e Junho a redução foi de 4,5%. Ou seja, houve diminuição na resposta de redução de cor com o aumento do grau de maturação da cana e com o provável aumento de compostos fenólicos.

Tabela 4 - Valores de cor ICUMSA das amostras de caldo de cana-de-açúcar tratadas com peróxido de hidrogênio retiradas de minuto a minuto no tempo total de 10 minutos para diferentes meses de colheita (Abril, Maio e Junho)

Tempo (min)	Abril	Desvio-padrão	Maio	Desvio-padrão	Junho	Desvio-padrão
0	8714.1	41.0	9183.4	76.5	10814.6	108.2
1	9471.8	41.0	8673.2	54.1	8774.1	54.1
2	9079.9	0.0	10371.0	0.0	9488.3	0.0
3	8741.6	0.0	8596.7	0.0	9947.4	0.0
4	9235.0	44.2	8112.0	76.5	10049.4	192.6
5	9985.7	38.3	9234.4	0.0	10125.9	44.2
6	8327.7	0.0	8879.2	0.0	9998.4	44.2
7	9510.8	95.8	8926.6	41.0	9998.4	44.2
8	8291.1	108.2	9336.4	0.0	9386.3	0.0
9	7060.4	0.0	9068.7	41.0	10355.5	44.2
10	7090.6	52.3	8760.8	41.0	10330.0	132.5

Davis (2001) afirma em comparação feita com diversos processos utilizados para remoção de cor que os processos oxidativos atuam sobre os fenólicos, flavonóides e precursores de cor. Ainda, segundo Davis (2001), flavonóides são polifenóis que estão presentes na cana-planta e estão envolvidos com as reações de escurecimento enzimático. Shore et al. (1984) demonstrou que a concentração de polifenóis diminuiu para menos de 10% do caldo tratado com peróxido de hidrogênio quando comparado com o bruto. Portanto, com a diminuição dos polifenóis diminuiu o valor da cor. Assim como Mane et al. (1992) demonstrou que o uso de peróxido de hidrogênio provocou redução de polifenóis e açúcares redutores no tratamento do caldo.

4.2 Planejamento e otimização do processo de redução de cor de caldo de cana-de-açúcar

A matriz utilizada no planejamento pode ser observada na Tabela 5 a seguir, onde estão descritos os 27 ensaios realizados:

Tabela 5 - Planejamento Fatorial 2^4 com 3 repetições do ponto central e 8 pontos axiais

Ensaio	X 1	X 2	X 3	X 4	pH	Temp (°C)	H ₂ O ₂ (ppm)	Dextrana (ppm)
1	-1	-1	-1	-1	3,0	30	300	250
2	1	-1	-1	-1	7,0	30	300	250
3	-1	1	-1	-1	3,0	70	300	250
4	1	1	-1	-1	7,0	70	300	250
5	-1	-1	1	-1	3,0	30	900	250
6	1	-1	1	-1	7,0	30	900	250
7	-1	1	1	-1	3,0	70	900	250
8	1	1	1	-1	7,0	70	900	250
9	-1	-1	-1	1	3,0	30	300	750
10	1	-1	-1	1	7,0	30	300	750
11	-1	1	-1	1	3,0	70	300	750
12	1	1	-1	1	7,0	70	300	750
13	-1	-1	1	1	3,0	30	900	750
14	1	-1	1	1	7,0	30	900	750
15	-1	1	1	1	3,0	70	900	750
16	1	1	1	1	7,0	70	900	750
17	-2	0	0	0	1,0	50	600	500
18	2	0	0	0	9,0	50	600	500
19	0	-2	0	0	5,0	10	600	500
20	0	2	0	0	5,0	90	600	500
21	0	0	-2	0	5,0	50	0	500
22	0	0	2	0	5,0	50	1200	500
23	0	0	0	-2	5,0	50	600	0
24	0	0	0	2	5,0	50	600	1000
25	0	0	0	0	5,0	50	600	500
26	0	0	0	0	5,0	50	600	500
27	0	0	0	0	5,0	50	600	500

Alguns trabalhos tem demonstrado que há redução de cor do caldo e xarope com o uso do peróxido de hidrogênio. Porém trabalhos como Mane et al. (1992), o peróxido foi utilizado em caldo previamente caleado e com pH alcalino. Em outro trabalho como Mane et al. (1998), o uso do peróxido de hidrogênio foi feito em xarope com pH em torno de 6,0.

Não há relatos na literatura do uso de pH ácidos ou de temperatura mais amenas ou mais elevadas. Nem há relatos do uso de peróxido antes da caleagem como substituto da sulfitação.

De acordo com Rathi et al. (2003), no uso do peróxido de hidrogênio, em pH ácidos, o OH⁻ é o oxidante reativos predominante, porém, em pH alcalino, radicais

hidroperóxidos são formados pela reação dos radicais hidroxílicos com o peróxido de hidrogênio. Sendo que esses radicais hidroperóxidos não tem alto poder de oxidação como o $\text{OH}\cdot$. Por isso, esse estudo propôs avaliar o uso de pH que variam de 1,0 a 9,0. Bem como otimizar a clarificação do caldo, determinando os valores ótimos de temperatura e dose de peróxido de hidrogênio. Além de avaliar a influência da dextrana na cor final do caldo.

Foram feitas análises de Brix e pH de todos ensaios não ocorrendo variações significativas dos mesmos. Cor ICUMSA foi o principal parâmetro a ser estudo, além dos açúcares (Sacarose, Glicose e Frutose). Foram feitas várias superfícies de resposta comparando as variáveis dois a dois em relação a cor ICUMSA final do caldo tratado com peróxido de hidrogênio.

Observando a Figura 10, pode-se verificar que houve uma interação entre os fatores envolvidos, uma vez que os menores valores de cor ICUMSA final foram obtidos em condições de elevada quantidade peróxido de hidrogênio (maior de 300 ppm) quando em menores quantidades de dextrana. Em condições de maiores quantidades de dextrana (maior que 250 ppm), os menores valores de cor ICUMSA final foram obtidos com menor quantidade de peróxido de hidrogênio. Na superfície apresentada, as respostas foram obtidas sob valores de pH igual a 5,0 e temperatura igual a 50°C

Figura 10 - Superfície de resposta para interação das variáveis X3: peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e X4: dextrana para obtenção de menores valores de cor ICUMSA através da peroxidação

Os menores valores de cor ICUMSA final foram obtidos em pH abaixo de 7, ou seja pH ácido, independentemente da quantidade de peróxido de hidrogênio utilizada (0 a 1200 ppm). Porém para pH básico, com o aumento da quantidade utilizada houve uma diminuição da cor final obtida (Figura 11). Os resultados apresentados acima estão representados sob condições de quantidade de dextrana de 500 ppm e temperatura igual à 50°C.

Figura 11 - Superfície de resposta para interação das variáveis X1: pH e X3: peróxido de hidrogênio (H_2O_2) para obtenção de menores valores de cor ICUMSA através da peroxidação

Considerando a superfície de resposta para interação das variáveis pH e peróxido de hidrogênio (Figura 12), em temperatura menores que 50°C, foi necessária uma maior quantidade de peróxido de hidrogênio (maior que 300 ppm) para obter baixos valores de cor ICUMSA final. Em temperaturas maiores que 50°C, menores quantidades de peróxido de hidrogênio (menor que 300 ppm) já foram suficiente para obter baixa cor ICUMSA final.

Figura 12 - Superfície de resposta para interação das variáveis X3: peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e X2: temperatura para obtenção de menores valores de cor ICUMSA através da peroxidação

Os menores valores de cor ICUMSA foram obtidos em pH menores que 7, ou seja ácidos. Com relação à temperatura, a cor ICUMSA final foi menor na faixa de temperatura de 30 a 70°C quando em pH ácido (Figura 13). Em pH básico, os valores de cor ICUMSA final foram elevados independente da temperatura (10 a 90°C). Os valores dos demais fatores para a superfície apresenta são 600 ppm de peróxido de hidrogênio e 500 ppm de dextrana.

Figura 13 - Superfície de resposta para a interação das variáveis X1:pH e X2: temperatura para obtenção de menores valores de cor ICUMSA através da peroxidação

Na interação pH e dextrana, foi possível obter os menores valores de cor ICUMSA final em valores de pH menor que 7 (ácido) e quantidades de dextrana entre 250 e 750 ppm. Em pH básico, elevados valores de cor final foram obtidos independentemente do valor de dextrana utilizado (Figura 14). Essa superfície é apresentada para o valor de peróxido de hidrogênio é igual a 600 ppm e de temperatura igual a 50°C.

Figura 14 - Superfície de resposta para a interação das variáveis X4:dextrana e X1: pH para obtenção de menores valores de cor ICUMSA através da peroxidação

Na Figura 15, é possível observar que os menores valores de cor ICUMSA final foram obtidos em valores de dextrana entre 250 e 750 ppm. Valores elevados de cor final foram obtidos em quantidades de maiores de dextrana (maior que 750 ppm) quando independente da temperatura e em quantidades menores de 125 ppm quando em temperaturas maiores que 70°C.

Figura 15 - Superfície de resposta para interação das variáveis X4:dextrana e X2: temperatura para obtenção de menores valores de cor ICUMSA através da peroxidação

Ao comparar as variáveis estudadas, foi possível obter a análise da variância para redução de cor ICUMSA apresentada na Tabela 6. O valor de R^2 obtido foi igual à 0,626.

Tabela 6 - Análise da variância para redução de cor ICUMSA

FV	SQ	GL	MQ	Teste f
Regressão	4500826	10	450083	2,68*
Resíduo	2691494	16	168218	
Falta de ajuste	2683689	14	191692	49,12*
Erro puro	7804	2	3902	
Total	7192320	26		

Devido a falta de ajuste ter sido significativa e o R^2 ter sido menor que 0,70, não foi possível obter um modelo válido para situação estudada, porém foi possível obter faixas mais estreitas para determinar as condições ideais. Essas condições foram: pH menor que 7,0 e maior que 3,0, temperatura maior que 40°C e temperatura menor que 70°C, peróxido de hidrogênio maior que 600 ppm e dextrana menor que 750 ppm.

A dextrana, segundo Alves (2013), causou interferências nas análises de polarimetria e refratometria em amostras de caldo e solução padrão, elevando valores das leituras obtidas quando comparado com menores quantidades de dextrana. Nesse experimento foi possível perceber que quantidades maiores de

dextrana (acima de 750 ppm) podem ter contribuído para um caldo com cor final elevada quando tratado com peróxido de hidrogênio.

Embora as determinadas condições geraram uma maior redução de cor ICUMSA, foi necessário analisar as condições em que ocorreu aumento de açúcares redutores (glicose e frutose), o que significaria a inversão de sacarose. Esse parâmetro é importante uma vez que se há inversão de sacarose, o processo se torna inviável, por degradar o produto final. Os dados das concentrações de sacarose, glicose e frutose estão demonstrados abaixo (Figuras 16, 17 e 18)

Figura 16 - Valores de sacarose (mg/mL) para os ensaios de otimização do uso de peróxido de hidrogênio para redução da cor do caldo

Figura 17 - Valores de frutose (mg/mL) para os ensaios de otimização do uso de peróxido de hidrogênio para redução da cor do caldo

Figura 18 - Valores de glicose (mg/mL) para os ensaios de otimização do uso de peróxido de hidrogênio para redução da cor do caldo

Os ensaios que tiveram combinações de pH 3,0 e temperatura de 70°C (Ensaio 3, 7, 11 e 15), independentemente do valor de peróxido de hidrogênio e dextrana, foram os que apresentaram elevação dos valores de glicose e frutose quando comparado com o do caldo antes do tratamento. Também houve elevação dos açúcares redutores para o ensaio com pH igual a 1,0 (Ensaio 17). Portanto, houve inversão de sacarose em condições de pH ácido e temperaturas elevadas, como podemos observar também nas superfícies de respostas das Figuras 19 e 20.

Figura 19 - Superfície de resposta para a interação das variáveis X1:pH e X3: peróxido de hidrogênio para obtenção de valores de açúcares redutores (AR) através da peroxidação

Figura 20 - Superfície de resposta para a interação das variáveis X1:pH e X2: temperatura para obtenção dos valores de açúcares redutores (AR) através da peroxidação

Há relatos na literatura que abaixo pH 5,5 começa a ocorrer hidrólise da sacarose e essa inversão favorece a formação de novas melanoidinas (MANE et al., 1998). Nos ensaios realizados, não ocorreu inversão em pH 5,0 e sim igual a 3,0 quando em temperatura igual a 70°C e em pH igual a 1,0.

Os cromatogramas obtidos em UFLC para quantificação dos açúcares (sacarose, glicose e frutose) podem ser observados no item Apêndice.

4.3 Cinéticas de redução de cor e degradação de sacarose

4.3.1 Cinética de decaimento e/ou formação de cor ICUMSA no caldo

A cor ICUMSA foi determinada em cada período de tempo de cada ensaio com objetivo de comparar com a cor antes e depois do tratamento com peróxido de hidrogênio. Os perfis cinéticos para cada ensaio estão descritos nas Figuras 21, 22 e 23.

Com o tratamento do caldo com peróxido de hidrogênio, houve tendência em aumentar a cor ICUMSA para os ensaios nas Figuras 21A, 21B e 21E. Comparando os três, o pH inicial foi o mesmo (3,8). Nos ensaios das Figuras 21D e 21F, houve uma tendência em diminuir a cor final em relação a inicial. Em ambos os ensaios, foi

utilizado a dose de peróxido de hidrogênio igual a 3989 ppm, porém em temperaturas e pH diferentes entre eles.

Em todos os ensaios representados na Figura 22, houve tendência em diminuir a cor final em relação a inicial. Porém no ensaio da Figura 22B, houve uma tendência de redução significativa. Nesse ensaio, houve uma combinação entre temperatura elevada (62°C), com pH levemente ácido (6,2) e dose de peróxido elevada (3989 ppm).

Conforme representado na Figura 23, os ensaios 23C e 23D indicaram a tendência em reduzir a cor do caldo com a peroxidação, sendo que ambos tiveram como parâmetros pH neutros a levemente ácidos (5,0 a 7,0) e temperaturas amenas (30 a 50°C). No ensaio da Figura 23E foi possível verificar a tendência de aumento da cor final em relação a inicial, que pode ter sido influenciada pelo uso de temperatura mais elevada (70°C).

Figura 21 - Perfil dos valores de cor ICUMSA obtidos após o tratamento de peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 38°C, pH: 3,8 e H_2O_2 : 1011 ppm; (B) Temp.: 38°C, pH: 3,8 e H_2O_2 : 3989 ppm; (C) Temp.: 38°C, pH: 6,2 e H_2O_2 : 1011 ppm; (D) Temp.: 38°C, pH: 6,2 e H_2O_2 : 3989 ppm; (E) Temp.: 62°C, pH: 3,8 e H_2O_2 : 1011 ppm; (F) Temp.: 62°C, pH: 3,8 e H_2O_2 : 3989 ppm

Figura 22 - Perfil dos valores de cor ICUMSA obtidos após o tratamento de peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 62°C, pH: 6,2 e H_2O_2 : 1011 ppm; (B) Temp.: 62°C, pH: 6,2 e H_2O_2 : 3989 ppm; (C) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 2500 ppm; (D) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 2500 ppm; (E) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 2500 ppm; (F) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 0 ppm

Figura 23 - Perfil dos valores de cor ICUMSA obtidos após o tratamento de peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 5000 ppm; (B) Temp.: 50°C, pH: 3,0 e H_2O_2 : 2500 ppm; (C) Temp.: 50°C, pH: 7,0 e H_2O_2 : 2500 ppm; (D) Temp.: 30°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 2500 ppm; (E) Temp.: 70°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 2500 ppm

Em todos os perfis cinéticos ilustrados nas Figuras 21, 22 e 23, houve dispersão entre os valores obtidos para a cor ICUMSA do caldo ao longo do tempo.

A análise de cor tem sido alvo de recentes discussões que questionam a metodologia utilizada. Segundo o artigo publicado por Singh et al. (2013), na 28ª sessão de ICUMSA, em 2012, um dos tópicos importantes discutidos foi a mensuração da cor em soluções açucaradas. Segundo os autores, não há um consenso sobre o ajuste de pH para a realização da análise da cor. Uma vez que esse método tem como desvantagem a extrema sensibilidade a pequenos erros no

ajuste do pH. Os valores de absorbância variam bruscamente com pequenas variações do pH.

Puke e Lakenbrink (2013) relatam que em trabalho apresentado durante essa mesma sessão foram comparados os resultados obtidos com o ajuste de pH para 7,0 e para 6,4, uma vez que o valor de 6,4 foi sugerido por representar o valor mais próximo do pH natural do açúcar. Porém com a modificação do pH não ocorreu alterações na repetitividade e nem na reprodutibilidade dos valores obtidos.

A discussão foi feita baseada no método de cor ICUMSA para o produto final: o açúcar. A análise da cor do caldo é baseada nessa análise, sendo necessário fazer o ajuste de pH do mesmo antes da leitura no espectrofotômetro. Portanto essa falta de repetitividade e reprodutibilidade relatada durante a última sessão ICUMSA pode sustentar a oscilação e discrepância entre os valores obtidos em uma mesma amostra ao longo do tempo.

4.3.2 Cinética de turbidez do caldo

A turbidez difere da cor por indicar a presença de material em suspensão. Pode influenciar na qualidade de final do açúcar. Porém não há muitos relatos para esse parâmetro na literatura.

Por isso, a turbidez foi determinada em cada período de tempo de cada ensaio com objetivo de comparar com a turbidez antes do tratamento com peróxido de hidrogênio. Os perfis cinéticos para cada ensaio estão descritos nas Figuras 24, 25 e 26.

Os ensaios da Figura 24A e 24E ilustraram uma tendência de elevação da turbidez final em relação a inicial, sendo que esses ensaios também mostraram uma elevação dos valores de cor ICUMSA do caldo. Porém, o ensaio da Figura 24B mostrou uma diminuição da turbidez, embora tenha demonstrado um aumento da cor do caldo com a peroxidação.

Figura 24 - Perfil dos valores de turbidez (Turb) obtidos após a peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 38°C, pH: 3,8 e H_2O_2 : 1011 ppm; (B) Temp.: 38°C, pH: 3,8 e H_2O_2 : 3989 ppm; (C) Temp.: 38°C, pH: 6,2 e H_2O_2 : 1011 ppm; (D) Temp.: 38°C, pH: 6,2 e H_2O_2 : 3989 ppm; (E) Temp.: 62°C, pH: 3,8 e H_2O_2 : 1011 ppm; (F) Temp.: 62°C, pH: 3,8 e H_2O_2 : 3989 ppm

Figura 25 - Perfil dos valores de turbidez obtidos após a peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 62°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 1011 ppm; (B) Temp.: 62°C, pH: 6,2 e H₂O₂: 3989 ppm; (C) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (D) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (E) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (F) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 0 ppm

Os ensaios das Figuras 25A, 25C, 25D, 25E e 25F, indicaram uma tendência em diminuir a turbidez do caldo. Esses ensaios apresentam parâmetros diferentes entre si, menos os ensaios apresentados nas Figuras 25C, 25D e 25E que tem os mesmos. Não foi possível correlacionar essa diminuição de turbidez com o peróxido,

uma vez que no tratamento do ensaio representado pela letra F não foi feita a adição de peróxido apesar de ter ocorrido a diminuição da turbidez.

Figura 26 - Perfil dos valores de turbidez obtidos após a peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 5000 ppm; (B) Temp.: 50°C, pH: 3,0 e H_2O_2 : 2500 ppm; (C) Temp.: 50°C, pH: 7,0 e H_2O_2 : 2500 ppm; (D) Temp.: 30°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 2500 ppm; (E) Temp.: 70°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 2500 ppm

Entre os ensaios apresentados na Figura 26, o único que mostrou uma tendência em diminuir a turbidez ao longo do tratamento com o peróxido de

hidrogênio foi o 26A. Esse ensaio difere dos demais por utilizar a maior dose de peróxido de hidrogênio (5000 ppm).

Não foi possível relacionar a diminuição da turbidez do caldo tratado comparado com o não tratado (valor inicial).

4.3.3 Cinética de degradação de sacarose

A quantidade de sacarose foi determinada em cada período de tempo de cada ensaio com objetivo de comparar com o teor antes e depois do tratamento com peróxido de hidrogênio. Os perfis cinéticos para cada ensaio estão descritos nas Figuras 27, 28 e 29.

De acordo com a Figura 27E, foi possível verificar a ocorrência da degradação de sacarose, sendo que esse representa uma combinação entre temperaturas mais elevadas (62°C) com pH mais baixo (3,8). Os demais ensaios não demonstraram tendência em degradar a sacarose.

Em nenhum dos ensaios representados na Figura 28, foi observada a tendência em degradar sacarose. Assim como os ensaios representados na Figura 29, nos quais não houve tendência de degradação de sacarose.

Figura 27 - Perfil dos valores de sacarose obtidos após a peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 38°C, pH: 3,8 e H_2O_2 : 1011 ppm; (B) Temp.: 38°C, pH: 3,8 e H_2O_2 : 3989 ppm; (C) Temp.: 38°C, pH: 6,2 e H_2O_2 : 1011 ppm; (D) Temp.: 38°C, pH: 6,2 e H_2O_2 : 3989 ppm; (E) Temp.: 62°C, pH: 3,8 e H_2O_2 : 1011 ppm; (F) Temp.: 62°C, pH: 6,2 e H_2O_2 : 1011 ppm

Figura 28 - Perfil dos valores de sacarose obtidos após a peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 62°C, pH: 6,2 e H_2O_2 : 3989 ppm; (B) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 2500 ppm; (C) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 2500 ppm; (D) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 2500 ppm; (E) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 0 ppm; (F) Temp.: 50°C, pH: 5,0 e H_2O_2 : 5000 ppm

Figura 29 - Perfil dos valores de sacarose obtidos após a peroxidação para diferentes valores de temperatura, pH e dose de peróxido de hidrogênio: (A) Temp.: 50°C, pH: 3,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (B) Temp.: 50°C, pH: 7,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (C) Temp.: 30°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm; (D) Temp.: 70°C, pH: 5,0 e H₂O₂: 2500 ppm

Durante a análise das amostras no HPLC, houve um ensaio no qual não foi possível analisar a quantidade de sacarose ao longo do tempo uma vez que a quantidade de sacarose diminuiu significativamente nos primeiros 10 minutos, não sendo possível detectá-la a partir dos 15 minutos. Esse ensaio combinou temperaturas elevadas (62°C) com valores de pH ácido (3,8). Apesar desses parâmetros terem sido usados separadamente, apenas em dois ensaios foram utilizados combinados e em ambos ocorreu a degradação de sacarose (o outro ensaio está representado na Figura 27E). Na amostra na qual não foi feita a cinética completa devido a degradação mais acentuada da sacarose, foi feito o uso de uma maior quantidade de peróxido de hidrogênio.

A figura 30 apresenta os cromatogramas das amostras desse ensaio nos primeiros 15 minutos. É possível verificar que o pico de sacarose diminui com o tempo e até desaparecer no ultimo cromatograma (15 minutos).

Figura 30 - Cromatogramas obtidos na análise de teores de sacarose por HPLC para o ensaio: Temp.: 62°C, pH: 3,8 e H₂O₂: 3989 ppm (onde: F = Frutose, G = Glicose e S = Sacarose)

4.4 Redes neurais artificiais

O Brix é uma variável não controlada, não permitindo utilizá-lo como variável em experimentos fatoriais e nem obter superfícies de resposta tendo esse parâmetro como variável. A Rede Neural Artificial (RNA) foi escolhida com o intuito de esclarecer as interações entre as propriedades do material de estudo (caldo) e o uso do peróxido de hidrogênio, fazendo uso da grande capacidade das redes neurais em associar padrões dos valores das variáveis de entrada aos padrões das variáveis de saída dos modelos. Os valores das variáveis da camada de entrada controláveis foram determinadas com base nas condições otimizadas obtidas no item anterior (Item 4.2), permitindo trabalhar com faixas de pH e temperatura restritas, uma vez que condições em que ocorriam inversão de sacarose não foram utilizadas.

A dosagem de peróxido de hidrogênio obtida na otimização não foi utilizada nessa etapa do experimento. Uma vez que ao trabalhar com condições de Brix diferenciadas, em dosagens abaixo de 1000 ppm não foi observada alteração nos valores de absorvância ao longo do tempo. Foi utilizada uma faixa mais ampla de quantidade de peróxido de hidrogênio, que variou de 0 ppm até 5000 ppm.

A Figura 31 mostra a rede utilizada, com as variáveis de entrada e saída. Essa rede neural é do tipo acíclica, com três camadas: a de entrada de dados, a oculta e a de saída.

Figura 31 - Representação esquemática da rede neural usada com as variáveis de entrada e saída

A partir da análise da variação do resíduo médio por ponto experimental, bem como da análise dos coeficientes angular e de determinação (Figura 32) selecionou-se o melhor número. Optou-se por 9 neurônios devido fato dos valores dos coeficientes angular e de determinação serem os mais próximos de 1 (Figura 32) e apresentar os menores valores de resíduo médio (Figura 33).

Figura 32 - Coeficiente de determinação (R2) e angular (Coef) em função do número de neurônios (NH= 4 a 10, n° de apresentações = 20000 e LS/TS= 3). (A) Dados LS; (B) Dados TS

Figura 33 – Valores dos resíduos médios em função dos neurônios (NH= 4 a 10, nº de apresentações = 20000 e LS/TS= 3).

A Tabela 7 apresenta a configuração de rede a ser usada na simulação:

Tabela 7 - 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 = 9; 20.000 apresentações)

Neurônios	W ₁						W ₂	
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	bias	Neurônios	
1	3.03E+00	-1.04E-01	-2.08E-01	-1.24E+00	-1.18E+01	5.75E-02	1	-3.50E+00
2	-4.42E-01	-2.20E+00	-1.81E+00	-1.02E+01	1.95E+00	4.14E-01	2	-6.84E+00
3	-2.71E+00	2.80E+00	4.06E+00	8.53E+00	-7.48E+00	8.55E-01	3	-2.32E+00
4	-9.24E-01	9.35E+00	1.20E+01	-8.95E+00	-8.34E+00	2.11E-01	4	4.00E+00
5	3.22E+00	4.53E+00	2.22E+00	-6.25E-01	-4.65E+00	2.28E-01	5	-3.82E+00
6	4.27E-01	-3.01E+00	7.06E+00	-2.52E+00	-5.39E+00	4.33E-01	6	2.25E+00
7	9.20E+00	4.19E+00	-9.47E+00	2.27E+00	-8.58E+00	2.41E-01	7	-2.16E+00
8	4.59E+00	-3.78E+00	-7.25E+00	4.93E+00	-8.51E-01	5.03E-01	8	3.50E+00
9	1.86E+00	1.72E+00	-1.12E+01	5.20E+00	-2.19E+00	6.92E-01	9	3.61E+00
							bias	5.67E-01

X₁: Tempo (min); X₂: Temperatura (°C); X₃: pH; X₄: Concentração de [H₂O₂] (ppm); X₅: Brix

Em seguida, foi feita a avaliação da importância relativa das variáveis baseada no método HIPR (“Holdback Input Randomization Method”), proposto por Kemp et al., (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 34 apresenta a porcentagem do erro quadrático médio de cada variável.

Figura 34 - Importância das variáveis da rede neural (NH=9, nº de apresentações = 20000 e LS/TS= 3)

A variável que demonstrou maior importância quando comparada com as demais variáveis foi a temperatura, que representou 35,4% do valor total. A segunda variável de maior importância foi o Brix, com 32, 2% do valor total. A variável com menor importância para rede foi o tempo, com 3,6%.

Durante a realização dos experimentos, foi observado que a temperatura possui influência na absorbância. Em pH mais ácidos (<5,0) , ocorre diminuição nos valores de absorbância em valores de temperatura mais próxima ao do ambiente (38°C). Em pH nas faixas de 5 a 6,2, ocorreu diminuição da absorbância apenas em temperaturas mais elevadas, em torno de 50 a 62°C. Nos experimentos que ocorreram em pH igual a 5,0 e temperatura igual a 50°C, independentemente do valor de peróxido de hidrogênio utilizado, verificou-se uma diminuição nos valores de absorbância.

De modo geral, a absorbância teve variação com a mudança dos valores de Brix. Com a diminuição do valor do Brix, houve diminuição dos valores de absorbância. Quando os valores de Brix permaneceram estáveis, em alguns casos, houve redução da absorbância ao longo do tempo. Ou seja, outras variáveis influenciaram nessa redução.

Baseado nos pesos obtidos na rede neural, foram feitas simulações para verificar o ajuste da rede comparando os resultados obtidos experimentalmente com os obtidos na simulação.

Na Figura 35, estão dispostos alguns ensaios comparando os resultados obtidos experimentalmente e os obtidos na simulação, todos ocorreram em temperatura de 38°C.

Figura 35 - Valores de absorvância obtidos na simulação e experimentalmente com diferentes dados de entrada. Sendo que as condições iniciais: (A) Temp: 38 °C, Brix: 18, pH: 3,2, [H₂O₂]: 1.011 ppm; (B) Temp: 38 °C, Brix: 17,7, pH: 4,0, [H₂O₂]: 3.989 ppm; (C) Temp: 38 °C, Brix: 18,8, pH: 5,3, [H₂O₂]: 3.989 ppm; (D) Temp: 38 °C, Brix: 17,3, pH: 5,9, [H₂O₂]: 3.989 ppm

Como pode ser observado na Figura 35, os valores obtidos na simulação reproduziram similarmente os resultados obtidos experimentalmente, mostrando que a rede foi capaz de prever os resultados de absorvância.

Na Figura 36 estão demonstrados os resultados obtidos nos ensaios com temperatura igual a 62°C. É possível observar que houve, de modo geral, um bom

ajuste pela rede, demonstrando que foi feito um bom treinamento. Assim, os ensaios em que o pH foi em torno de 6,0, houve uma diminuição do valor de absorbância quando comparado com os com pH em torno de 3,0, na mesma temperatura.

Figura 36 - Valores de absorbância obtidos na simulação e experimentalmente com diferentes dados de entrada. Sendo que as condições iniciais: (A) Temp: 62°C, Brix: 18, pH: 3,1 , [H₂O₂]: 1.011 ppm; (B) Temp: 62°C, Brix: 17,2, pH: 2,5 , [H₂O₂]: 3.989 ppm; (C) Temp: 62°C, Brix: 17,4, pH: 6,3 , [H₂O₂]: 1.011 ppm; (D) Temp: 62°C, Brix: 16,8, pH: 6,2, [H₂O₂]: 3.989 ppm

Na Figura 37, estão dispostos os ensaios nos quais os valores de entrada foram semelhantes nas variáveis controláveis, porém diferiram com relação ao valor do Brix inicial. Podemos observar que o ensaio que teve o menor Brix inicial apresentou uma redução do valor de absorbância maior quando comparado aos outros que tiveram valores de Brix semelhantes entre si. Porém, para esses ensaios, a rede não apresentou um bom ajuste. Isso se deve, provavelmente, a dificuldade de reprodutividade dos resultados obtidos encontrada nesse tipo de experimento.

Figura 37 - Valores de absorvância obtidos na simulação e experimentalmente com diferentes dados de entrada. Sendo que as condições iniciais: (A) Temp: 50°C, Brix: 15,9 , pH: 5,3 , [H₂O₂]: 2.500 ppm; (B) Temp: 50°C, Brix: 18,1, pH: 5,1 , [H₂O₂]: 2.500 ppm; (C) Temp: 50°C, Brix: 17,9, pH: 4,7 , [H₂O₂]: 2.500 ppm

Na Figura 38, os ensaios apresentados diferem entre si pela quantidade de peróxido de hidrogênio utilizado.

Figura 38 - Valores de absorvância obtidos na simulação e experimentalmente com diferentes dados de entrada. Sendo que as condições iniciais: (A) Temp: 50°C, Brix: 19,2 , pH: 4,3 , [H₂O₂]: 0 ppm; (B) Temp: 50°C, Brix: 19,1, pH: 3,8 , [H₂O₂]: 5.000 ppm

No ensaio da Figura 38 (A), não foi feita a adição de peróxido de hidrogênio. Enquanto que no ensaio da Figura 38 (B), foi feito uso da maior quantidade de peróxido de hidrogênio dos ensaios (5.000 ppm). Em ambos os casos houve diminuição de absorbância ao longo do tempo. Porém, não houve diferenças significativas entre os ensaios. Após a conclusão dos ensaios, foi possível verificar que a faixa de peróxido de hidrogênio utilizada foi muito estreita. Para verificar o efeito do peróxido de hidrogênio seria necessário trabalhar com valores maiores que os utilizados, na faixa de 10.000 ppm até 50.000 ppm.

Na Figura 39 estão dispostos dois ensaios que diferem entre si pelo valor inicial de pH utilizado.

Figura 39 - Valores de absorbância obtidos na simulação e experimentalmente com diferentes dados de entrada. Sendo que as condições iniciais: (A) Temp: 50°C, Brix: 17,8 , pH: 2,6 , [H₂O₂]: 2.500 ppm; (B) Temp: 50°C, Brix: 17,8, pH: 6,6 , [H₂O₂]: 2.500 ppm

O ajuste do ensaio da Figura 39 (B) não ficou bom, diferindo em vários pontos os valores obtidos na simulação como os valores obtidos experimentalmente. O brix variou ao longo desse experimento, o que pode influenciar nos valores da absorbância. No ensaio apresentado na Figura 39 (A), o ajuste da rede ficou bom. Os valores de Brix não variaram ao longo do tempo, o que pode ter motivado a permanência em valores semelhantes de absorbância.

Na Figura 40, os ensaios apresentados diferem entre si pelos valores de temperatura utilizados. O primeiro ensaio foi conduzido com temperatura de 30°C, enquanto que o segundo foi conduzido em temperatura de 70°C.

Figura 40 - Valores de absorbância obtidos na simulação e experimentalmente com diferentes dados de entrada. Sendo que as condições iniciais: (A) Temp: 30°C, Brix: 17,4, pH: 4,8 , [H₂O₂]: 2.500 ppm; (B) Temp: 70 °C, Brix: 17,9, pH: 4,1, [H₂O₂]: 2.500 ppm

Apesar do ajuste entre pontos experimentais e simulados não estar satisfatório, o programa das redes neurais conseguiu prever a tendência para ambas as situações. Sendo que nas condições de pH em torno de 5,0 e dose de peróxido de hidrogênio em torno de 2.500 ppm, observou-se uma diminuição maior dos valores de absorbância para temperatura de 70°C.

Ao observar todos os ensaios realizados e os valores obtidos na simulação, pode-se afirmar que o programa da rede neural apresentou um bom ajuste na maioria dos casos. Foi possível verificar que há um relação entre a temperatura e o pH, sendo que a diminuição da absorbância é favorecida por pH em torno de 3,8, quando em temperaturas mais amenas (38°C) e é favorecida por pH em torno de 6,2, quando em temperaturas mais elevadas (62°C). Em ambas condições ideais, o uso de uma maior quantidade de peróxido de hidrogênio favoreceu a redução do valor da absorbância. Quanto ao Brix, foi possível observar que em vários pontos em que houve variações do seu valor durante o ensaio, houve oscilação do valor de absorbância, sendo que o aumento do Brix resultou em aumento da absorbância. A oscilação de Brix, durante o processo, pode ser resultante da condução do experimento, uma vez que a coleta das amostras durante o ensaio foi feita manualmente com pipetador automático e agitação dos reatores foi feita em *shaker*, que não permitiu a homogeneização eficiente do caldo.

4.5 Espectrometria de massas dos ensaios de peroxidação

Estudos preliminares da peroxidação de caldo de cana-de-açúcar demonstraram que a redução da cor (aspecto visual; Figura 41) está intimamente ligada ao aumento da dose de peróxido de hidrogênio. Como não foi possível perceber alterações significativas da cor do caldo visualmente com doses de até 5.000 ppm, optou-se por testar doses maiores para verificar a eficiência das mesmas. Foram testadas um amplo espectro das doses de peróxido de hidrogênio (controle = caldo original; 1000; 5000; 10.000; e 50.000 ppm) injetadas diretamente no caldo de cana-de-açúcar previamente filtrado (Observação: sem tratamento térmico). O caldo de cana-de-açúcar foi recém obtido de plantas saudáveis da variedade SP 81-3250, submetidas à extração do caldo em moenda mod. Mause (Piracicaba, SP) e o caldo gerado foi peneirado em telas de 0,032 mm de diâmetro. Após a peneiragem, o caldo peneirado foi submetido à filtração contra filtro qualitativo com 2 µm de diâmetro de poro. Os resultados, após duas horas de reação, são ilustrados na Figura 41 abaixo.

Figura 41 - Aspecto do caldo de cana-de-açúcar submetido à peroxidação com doses crescentes (expressas em ppm) de peróxido de hidrogênio a 35%, à temperatura ambiente e sem agitação constante. No detalhe, a formação de precipitado ceroso após 2 h de reação de peroxidação

Por análise visual dos tratamentos pode-se observar que há formação de precipitado no fundo dos tubos de ensaio, os quais são em maior quantidade quanto maior foi a dose de peróxido de hidrogênio (resultados não mostrados) e que no tratamento com 1000 ppm, após 2 h de reação, o caldo de cana-de-açúcar apresentou intensificação da coloração, ao contrário do que se esperava para esta tecnologia de clarificação. De qualquer forma, há uma correlação inversa entre o aumento da dose de peróxido e a redução da coloração do caldo de cana-de-açúcar.

Durante os estudos cinéticos de redução da coloração do caldo de cana-de-açúcar por peroxidação por espectrometria de massas, também foi possível perceber a notada diferença de coloração dos tratamentos (doses de peróxido) entre as amostras controle, 1000 e 50000 ppm de peróxido de hidrogênio (Figura 42).

Figura 42 - Aspecto do caldo de cana-de-açúcar submetido à peroxidação com duas doses (1.000 e 50.000 ppm) de peróxido de hidrogênio a 35%, à temperatura ambiente e sem agitação constante

Notadamente, o tratamento com 1.000 ppm apresentou escurecimento da coloração do caldo de cana-de-açúcar, tal como havia sido apresentado na Figura 42 e, o tratamento com 50.000 ppm de peróxido apresentou menor coloração final do caldo de cana-de-açúcar. A partir deste ensaio cinético, foi possível observar que não ocorre degradação dos açúcares (sacarose; m/z 341 e glicose/frutose; m/z 179), bem como, também não ocorre formação de “novos” compostos ao longo do processo de clarificação com peróxido de hidrogênio naquelas concentrações.

Estes resultados se contrapõem ao culto tradicional de que o peróxido de hidrogênio tem seu uso na indústria como agente clarificante (MANE et al., 1992).

Patel e Moodley (1991)apud Madho e Davis (2008) conduziram alguns estudos preliminares sobre o uso do peróxido de hidrogênio em xarope. A baixa capacidade de descoloração (cerca de 16% de redução de cor) associada às altas doses necessárias ao tratamento do xarope exigiam, demonstraram aos autores uma baixa viabilidade econômica do processo. No entanto, tecnologias combinadas têm sido sugeridas como no caso da patente de Qian e Yazhi (2010), onde o processo prevê uma clarificação conjunta entre ácido fosfórico e peróxido de hidrogênio para caldo misto de cana-de-açúcar. O método é baseado no processo de clarificação acoplada de ácido sulfuroso-ácido fosfórico e é caracterizado pela ação do H_2O_2 -MgO, o qual serve como agente de clarificação enquanto o ácido fosfórico é adicionado ao caldo; nas quantidades de: H_2O_2 é 150 mL/m³; MgO é 700 g/m³; e leite de cal é adicionada para neutralização após agitação.

De acordo com os resultados obtidos por espectrometria de massas com FT-ICR os tratamentos com soluções de peróxido de hidrogênio não apresentaram decomposição efetiva de compostos químicos pigmentosos, uma vez que não se percebe quaisquer aparecimentos de sinais nos espectros analisados e, há caracterizada a purificação da sacarose (m/z 341) pela redução na abundância relativa de outros compostos nos espectros, conforme pode ser visto nas Figuras 43 e 44; tanto para os tratamentos com 1.000 ppm (Figura 43) como para 50.000 ppm (Figura 44) de peróxido de hidrogênio.

Figura 43 - Espectros de massas referentes ao caldo de cana-de-açúcar submetido à peroxidação com dose de 1.000 ppm de uma solução de peróxido de hidrogênio a 35% (m/m) à 45°C, obtidos por FT-ICR

A partir da comparação dos sinais nos espectros de massas dos íons de maior abundância relativa, pode-se verificar a presença dos íons m/z 179 (Glicose/Frutose); m/z 207 (Glicose/Frutose + CO); m/z 225 (Glicose/Frutose + COOH); m/z 341 (Sacarose); m/z 377 (Sacarose + Cl); m/z 387 (Sacarose + COOH); m/z 683 (Dímero de Sacarose); m/z 719 (Dímero + Cl); e m/z 729 (Dímero + COOH).

Percebe-se que os íons são sempre os mesmos, mudando apenas o número de carbonos, oxigênio e hidrogênio, ou seja, nota-se a manutenção da estruturas primárias das moléculas nas quais vão sendo adicionadas carbonilas, Cl, entre outros substituintes.

Como pode ser observado, há um aumento da abundância relativa da sacarose com o passar do tempo e aumento inicial dos íons de glucose/fructose. Porém, com o tempo de 120 min, esses íons apresentam um leve redução da abundância relativa. Provavelmente, a quantidade de peróxido utilizada foi insuficiente para uma boa sedimentação dos compostos presentes no caldo de cana-de-açúcar.

Na Figura 44 são apresentados os espectros de massa das amostras em que foi feita a dosagem de 50.000 ppm de peróxido de hidrogênio. Foram feitas análises no tempo e foi possível verificar que houve a sedimentação de compostos, uma vez que houve o aumento da abundância relativa da sacarose e seus íons. E não houve o surgimento de nenhum composto, pois nenhuma massa diferente foi detecta nos espectros durante a reação.

Figura 44 - Espectros de massas referentes ao caldo de cana-de-açúcar submetido à peroxidação com dose de 50.000 ppm de uma solução de peróxido de hidrogênio a 35% (m/m) à 45°C, obtidos por FT-ICR

6 CONCLUSÃO

Os fatores estudados apresentaram influência em relação à diminuição da cor ICUMSA final, sendo que o pH ótimo foi maior que 3,0 e menor que 7,0, a temperatura ótima estabelecida ficou na faixa entre 40 a 70°C e a dosagem de peróxido de hidrogênio foi maior que 600 ppm. Concentrações de dextrana de baixo peso molecular (menor que 10 KDa) em quantidades menores que 750 ppm não influenciaram na cor ICUMSA do caldo.

A cinética de degradação da cor ICUMSA não apresentou distribuição regular, oscilando em pequenos intervalos de tempo, devido provavelmente à pequena quantidade de peróxido de hidrogênio utilizada nos ensaios. Não houve diminuição visual da cor do caldo, com concentrações de H_2O_2 de até 5.000 ppm.

Com relação à turbidez, não foi possível identificar a influência da peroxidação nos valores. O ensaio em que não foi feito a adição de peróxido de hidrogênio houve diminuição da turbidez. Houve degradação de sacarose quando foi feito o tratamento combinando temperatura elevada (62°C) com pH ácido (3,8).

A rede neural estabelecida mostrou um bom ajuste na maioria dos casos apresentados e indicou a variável temperatura como a que apresentou maior influência na diminuição da absorbância à 420 nm. A segunda variável com maior influência foi o Brix do caldo de cana-de-açúcar.

A espectrometria de massa mostrou que a peroxidação, nas condições reacionais avaliadas, não foi capaz de reduzir significativamente a cor do caldo, muito embora, não foi percebida a formação de compostos de degradação, sugerindo que haja uma promoção de sedimentação de algumas impurezas do caldo, o que faz com que haja uma diminuição visual da cor do mesmo, não ocorrendo aparentemente reação química no caldo.

Assim, o peróxido de hidrogênio, nas condições estudadas, não seria indicado como agente clarificante do caldo de cana-de-açúcar, tendo demonstrado a capacidade de sedimentar as impurezas do caldo, uma vez que não apresentou degradação específica de quaisquer compostos pigmentosos.

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, 1988.
- AGBLEVOR, F. A.; HAMES, B. R.; SCHELL, D.; CHUM, H. L. Analysis of biomass sugars using a novel HPLC method. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v.136, n.3, p. 309-326, 2007.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/34_311007.htm>. Acesso em: 03 jul. 2012.
- ALNAIZY, R.; AKGERMAN, A. Advanced oxidation of phenolic compounds. **Advances in Environmental Research**, New York, v. 4, p. 233-244, 2000.
- ALVES, F.V.; AGUIAR, C.L.; SARMENTO, S.B.S. Interferência dos teores de amido e destranas na análise tecnológica do caldo de cana-de-açúcar. **Sugar Journal**, New Orleans, v. 76, n. 3, p. 26-31, Aug. 2013.
- AMORIM, A.M.; GASQUES, M.D.G.; ANDREUS, J.; SCHARF, M. The application of catalase for the elimination of hydrogen peroxide residues after bleaching of cotton fabrics. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 74, n. 3, p. 433-436, set. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652002000300006&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 12 jun. 2013.
- ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; INSOLA, A.; MAROTTA, R., Advanced Oxidation Process (AOP) for water purification and recovery. **Catalysis Today**, Amsterdam, v. 53, n. 1, p. 51-59, out. 1999.
- 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.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Metodologia NBR 9757: açúcar: determinação de turbidez**. Rio de Janeiro, 1987. 5 p.
- 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. **Applied Catalysis B: Environmental**, Amsterdam, v. 15, p. 269-274, 1998.
- BASHEER, I.A.; HAJMEER, M. Artificial neural networks: fundamentals, computing, design and application. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 43, p. 3-31, 2000.
- BAYMA, C. **Tecnologia do açúcar: da matéria-prima à evaporação**. Rio de Janeiro: Companhia Editora Americana, 1974. 292 p. (Coleção Canavieira, 13).

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

BOVI, R.; SERRA, G.E. Folhas verdes, folhas secas, fibra de colmo e a clarificação do caldo de cana-de-açúcar. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 457-463, 2001

BRASIL. Ministério de 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/servlet/visualizaranexo?id=2321>>. Acesso em: 05 maio 2012.

BRASILAGRO. **Programa Brasilagro 109**. Disponível em: <<http://video-hned.com/video/eFDyrNz0CvE/Programa-Brasilagro-109.html>>. Acesso em: 29 out. 2013.

BRAZ, H. Garapa boa deve vir de cana apropriada. **O Estado de São Paulo**, São Paulo, 27 ago. 2003. Suplemento Agrícola, p. 1-3.

BOURZUTSCHKY, H.C.C. Color formation and removal – Options for the sugar and sugar refining industries: a review. **Zuckerindustrie**, Berlin, v. 130, n. 6, p. 470-475, 2005.

CAMPAGNA, D.; KATHMAN, S.J.; PIERSON, R.; STEVEN G. INSERRA, S.G.; PHIFER, B.L.; MIDDLETON, D.C.; ZARUS, G.M.; WHITE, M.C. Ambient hydrogen sulfide, total reduced sulfur, and hospital visits for respiratory diseases in northeast Nebraska, 1998–2000, **Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology**, New York, v. 14, n. 2, p. 180-187, 2004.

CANA-DE-AÇÚCAR: ascensão e queda de uma indústria. Disponível em: <<http://app.crea-rj.org.br/portalcraev2midia/documentos/capitulo01.pdf>>. Acesso em: 30 jun. 2013.

CARDONA, S.P.P. **Coupling of photocatalytic and biological processes as a contribution to the detoxification of water**: catalytic and technological aspects. 2001. 148 p. These (Docteur ès Sciences Techniques), Lausanne, École Polytechnique Fédérale de Lausanne, 2001.

CARLINI JUNIOR, R.J.; ARAÚJO, R.O.; SILVA, F.S.C.M.; FONSECA, A.B.; LISBOA FILHO, W. O controle de qualidade em uma agroindústria canavieira do estado de Pernambuco. In: SIMPÓSIO DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 12., 2006, Bauru. **Anais...** Bauru: UNESP, 2006.

CASTRO, S.B.; ANDRADE, S.A.C. **Tecnologia do açúcar**. Recife: Editora UFPE, 2007. 380 p.

CHANDRA, R.; BHARAGAVA, R.N.; RAI, V. Melanoidins as major colourant in sugarcane molasses based distillery effluent and its degradation. **Bioresource Technology**, New York, v. 99, p. 4648-4660, 2008.

CLARKE, M.A.; BLANCO, R.S.; M.A GODSHALL, M.A. Color tests and other indicators of raw sugar refining characteristics. **Proceedings of the 1984 Sugar Processing Research Conference**, New Orleans, p. 284-302, 1986.

CORTEZ, L.; MAGALHÃES, P.; HAPPI, J. Principais subprodutos da agroindústria canaveira e sua valorização. **Revista Brasileira de Energia**, Itajubá, v. 2, n. 2, p. 1-17, 1992.

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. The chemistry of colour removal: a processing perspective. **Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association**, Durban, v. 75, p. 328-336, 2001.

DAVIS, S.B.; MOODLEY, C.L.; GOVENDER, B.; XABA, M. Preliminary results of hydrogen peroxide trials at Gledhow Refinery. **Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association**, Durban, v. 74, p. 358-360, 2000.

ENGENHO NOVO. **Clarificação de xarope por flotação**. Rio de Janeiro: TecEn Comercial, 2013. Disponível em: <<http://www.engenovo.com.br/pt/artigostecnicos/fxc.pdf>>. Acesso em: 30 ago. 2013a.

_____. **Sulfitação de cana por ejeter de mistura líquido-gás**. Rio de Janeiro: TecEn Comercial, 2013. Disponível em: <<http://www.engenovo.com.br/pt/artigostecnicos/sc.pdf>>. Acesso em: 30 ago. 2013b.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Field applications of in situ remediation technologies: chemical oxidation**. Washington: Office of Solid Waste and Emergency Response, Technology Innovation Office, 1998. 31 p.

ESKIN, N.A.M.; HENDERSON, H.M.; TOWNSEND, R.J. **Biochemistry of foods**. New York: Academic Press, 1971. 240 p.

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

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, v. 18, n. 1, p. 1-20, 2011.

FERNANDES, A.P.; SANTOS, M.C. dos; 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. **Anais...** São Paulo: Editora SBQ, 2004. Poster QA-178.

FLORES, R.G. Aplicação de processos oxidativos avançados homogêneos e heterogêneos na degradação de efluentes de curtume. 2008. 76 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

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

GODOY, O.P.; TOLEDO, F.F. **Plantas extrativas**: cana-de-açúcar, amendoim, girassol, mamona, mandioca, soja. Piracicaba: ESALQ, 1972. v. 1, 352 p.

GORTON, L.; CSÖREGI, E.; DOMINGUEZ, E.; EMNÉUS, J.; JÖNSSON-PETTERSSON, G.; MARKO-VARGA, G.; PERSSON, B. Selective detection in flow analysis based on the combination of immobilized enzymes and chemically modified electrodes. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 250, p. 203-248, 1991.

HAYKIN, S. **Redes neurais**: princípios e prática. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2001. 900 p.

HAYMAN, C. **Food science and nutrition and the Maillard reaction**: melanoidins. Disponível em: <http://www2.warwick.ac.uk/fac/med/research/csri/proteindamage/food_nutrition/melanoidins>. Acesso em: 24 jun. 2013.

HEALTH CANADA. **Sulphites**: one of the ten priority food allergens . Disponível em : <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/alt_formats/pdf/pubs/securit/2012-allergen_sulphites-sulfites/2012-allergen_sulphites-sulfites-eng.pdf>. 2012.

HODGE, J.E. Chemistry of browning reactions in models systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 1, n. 15, p. 928-943, 1953.

HORII, J. A qualidade da matéria-prima, na visão agrícola. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v.1, n.1, p. 91-93, 2004

HUANG, C.P.; DONG, C.; TANZ, Z. Advanced chemical oxidation: its present role and potential future in hazardous waste treatment. **Waste Management**, New York, v. 13, p. 361-377, 1993.

IGLESIAS, A.H. Introdução ao acoplamento cromatografia líquida-espectrometria de massas. In: XVIII ENCONTRO NACIONAL SOBRE METODOLOGIA E GESTÃO DE LABORATÓRIOS, 18., 2012, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: Embrapa, 2012. p. 1-239.

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, June 2007.

KOBLITZ, M.G.B. **Estudo de método para remoção de polissacarídeos que precipitam em cachaça**. 1998. 85 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

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

LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, A. M. Photochemical processes for water treatment. **Chemical Reviews**, Washington, n. 93, p. 671-698, 1993.

LEITÃO, M.F.F. Microbiologia de sucos e produtos ácidos. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 33, p. 9-42, mar. 1973.

LOPES, C.L. **Métodos de análise de açúcar**. 2 ed. Rio de Janeiro: Ministério da Indústria e do Comércio – Instituto do Açúcar e do Alcool – Departamento de Assistência à Produção, 39 p., 1985.

MACHADO, R.M.D.; TOLEDO, M.C.F.; VICENTE, E. Sulfites em alimentos, **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 9, n. 4, p. 265-275, Oct./Dec. 2006.

MACHADO, R.M.D.; TOLEDO, M.C.F.; ALMEIDA, C.A.S.; VICENTE, E. Analytical determination of sulphites in fruit juices available on the Brazilian market. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 11, n. 3, p. 226-233, July/Sept. 2008

MADHO, S.; DAVIS, S.B. Review of proven technologies available for the reduction of raw sugar colour, **Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association**, Durban, v. 81, p. 165-183, 2001.

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.

MAMBRIM FILHO, O. **Estudos cinéticos das reações de compostos modelos de lignina com peróxido de hidrogênio**. 1999. 141 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

MANE, J.D.; PACHPUTE, S.P.; 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.; 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.; PHADNIS, S.P.; JAMBHALE, D.B.; YEWALE, A.V. Mill scale evaluation of hydrogen peroxide as a processing aid: quality improvement in plantation white sugar. **International Sugar Journal**, London, v. 102, n. 1222, p. 530-533. 2000

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

MARTINEZ-CALATAYUD, J. **flow injection analysis of pharmaceuticals:** automation in the laboratory. Bristol: Taylor & Francis, 1996. 394 p.

MATTOS, I.J.; 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.

MERSAD, A.; LEWANDOWSKI, R.; HEYD, B.; DECLOUX, M. Colorants in the sugar industry: laboratory preparation and spectrometric analysis. **International Sugar Journal**, London, v. 105, n. 1254, p. 269-281, 2003.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Cana-de-açúcar**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>>. Acesso em: 07 out. 2013.

NASCIMENTO, C.A.O.; GIUDICI, R.; GUARDANI, R. Neural network based approach for optimization of industrial chemical processes, **Computers and Chemical Engineering** , New York, v. 24, n. 10, p. 2303-2314, 2000.

NEVES, M.F.; CONEJERO, M.A. Sistema agroindustrial da cana: cenários e agenda estratégica. **Revista de Economia Aplicada**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 4, p. 587-604, out./dez. 2007.

NGUYEN, D.M.T.; DOHERT, W.O.S. Phenolics in sugar cane juice: potential degradation by hydrogen peroxide and Fenton's reagent. In: BRUCE, R. C. (Ed.). **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologists**. Mackay: Australian Society of Sugar Cane Technologists, 2011.

OKUNO, M.; TAMAKI, H. A novel technique for the decolorization of sugarcane juice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 1, p. 236-238, 2002.

OLIVEIRA, A.S.; RINALDI, D.A.; TAMANINI, C.; VOLL, C.E.; HAULY, M.C.O. Fatores que interferem na produção de dextrana por microrganismos contaminantes da cana-de-açúcar. Semina: Ciências Exatas e Tecnológica, Londrina, v.23, n.1, p. 99-104, dez. 2002.

PAINTER, T.J. Carbohydrate polymers in food preservation: an integrated view of the Maillard reaction with special reference to discoveries of preserved foods in Sphagnum-dominated peat bogs. **Carbohydrate Polymers**, Amsterdam, v. 36, p. 335-347, 1998.

PAPAZIAN, R. **Sulfites:** safe for most, dangerous for some. Disponível em : <www.fda.gov/FDAC/features/096_sulf.html>. Acesso em: 25 jun. 2013.

PARSONS, S.A.; WILLIAMS, M. **Advanced oxidation process for water and wastewater treatment**. London: IWA Publ., 2004. 356 p.

PATON, N.H. Sugar cane phenolics and and first expressed juice colour. **International Sugar Journal**, London, v. 94, n. 1123, p. 157-160, 1992.

PRATI, P.; MORETTI, R.H.; CARDELLO, H.M.A.B. Elaboração de bebida composta por mistura de garapa parcialmente clarificada-estabilizada e sucos de frutas ácidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 147-152, mar. 2005.

POPOLIM, W.D. **Análise de sulfitos em sucos de frutas e estimativa de seu consumo por escolares**. 2009. 155 p. Tese (Doutorado em Nutrição Humana Aplicada) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas; Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade; Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

PUKE, H.; LAKENBRINK, C. A treatise on ICUMSA solution colour – Part 2: Studies and conclusions. **ZuckerIndustrie**, Berlin, v. 138, n. 63, p. 153-158, Mar. 2013.

QIAN, C.; YAZHI, M. **Phosphoric acid-hydrogen peroxide clarification method for sugarcane mixed juice of sugar refineries**. 2010. Disponível em: <<http://patent.ipexl.com/C2N/200910114660.html>>. Acesso em: 15 out. 2013

QUISUMBING, F.A.; THOMAS, A.W. Conditions affecting the quantitative determination of reducing sugars by fehling solution: elimination of certain errors involved current in methods. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 43, n. 7, p. 1503–1526, 1921.

RATHI, A.; RAJOR, H.J.K.; SHARMZA, R.K. Photodegradation of direct yellow-12 using UV/H₂O₂/Fe²⁺. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 102, p. 231-241, Sept. 2003.

REIN, P.W. **Cane sugar engineering**. Berlin: Bartens, 2007. 768 p.

_____. **White cane sugar production**. Disponível em: <<http://www.thermalenergysystems.com/bsst/papers/2008agm3.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2012.

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 Economia e Sociologia Rural**, Brasília, n. 45, 93– 118p., jan/mar. 2007.

SCHUMB, W.C.; SATTERFIELD, C.N.; WENTWORTH, R.L. **Hydrogen peroxide**, New York: Reinhold, 1955. 486 p.

SCORTECCI, K.C.; CRESTE, S.; CALSA JR., T.; XAVIER, M.A.; LANDELL, M.G.A.; FIGUEIRA, A.; BENEDITO, V.A. Challenges, opportunities and recents advances in sugarcane breeding. In. ABDURAKHMONOV, I.Y. (Ed.). **Plant breeding**. Croatia: INTECH, 2012. p. 267-296.

SECRETARIA DE AGRICULTURA, ABASTECIMENTO, AQUICULTURA E PESCA. **Cana-de-açúcar: caracterização**. Disponível em: <http://www.seag.es.gov.br/?page_id=742>. Acesso em: 18 jun. 2012.

SHORE, M.; BROUGHTON, N.W.; DUTTON, J.V.; SISSONS, A. Factors affecting white sugar colour. **Sugar Technology Reviews**, Amsterdam, n. 12, p. 1-99, 1984.

SIMIONI, K.R.; SILVA, L.F.L.F.; BARBOSA, V.; RÉ, F.E.; BERNARDINO, C.D.; LOPES, M.L.; AMORIM, H.V. Efeito da variedade e época de colheita no teor de fenóis totais em cana-de-açúcar. **STAB. Açúcar, Álcool & Subprodutos**, Piracicaba, v. 24, n. 3, p. 36-39, jan./fev. 2006.

SINGH, K.; MOHAN, S.; SINGH, V.K.; BHAROSE, R.; SINGH, P. Recent developments in white sugar solution colorimetry. **ZuckerIndustrie**, Berlin, v. 138, n. 63, p. 159-163. Mar. 2013.

SMITH, P.; PATON, N.H. Sugarcane flavonoids. **Sugar Technology Reviews**, Amsterdam, v. 12, p. 117-142, 1985.

STUPIELLO, J.P. Conversando com a cana. **STAB. Açúcar, Álcool & Subprodutos**, Piracicaba, v. 20, n. 5, p. 38, 2002

TEIXEIRA, C.P.B.T.; JARDIM, W.F. **Processos oxidativos avançados**: conceitos teóricos. Campinas: UNICAMP, 2004. 1v. (Caderno Temático, 3).

TELLES-FILHO, P.A. **Informações técnicas**: asma brônquica. Disponível em: <http://www.asmabronquica.com.br>. Acesso em: 03 jul. 2012.

TFOUNI, S.A.V.; VITORINO, S.H.P.; TOLEDO, M.C.F. Efeito do processamento na contaminação de cana-de-açúcar e derivados por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 76-82, 2007.

THOMPSON, R. **Industrial inorganic chemicals**: productions and uses. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1995. 408 p.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR. Disponível em: <http://www.unica.com.br/dadosCotacao/estatistica>. Acesso em: 25 jun. 2013.

UNIÃO DOS PRODUTORES DE BIOENERGIA. Disponível em: <http://www.udop.com.br/index.php?item=acucar>. Acesso em: 25 jun. 2013.

VILA, F.C. **Identificação dos flavonóides com atividade antioxidante da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.)**. 2006. 68 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

APÊNDICE

Cromatogramas dos ensaios de otimização do uso de peróxido de hidrogênio para redução de cor do caldo de cana-de-açúcar

Sacarose

Figura 1 - Espectro da amostra do caldo utilizado antes de ser tratado

Figura 2 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 1

Figura 3. Espectro da amostra do caldo do ensaio 2

Figura 4. Espectro da amostra do caldo do ensaio 3

Figura 5 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 4

Figura 6 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 5

Figura 7 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 6

Figura 8 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 7

Figura 9 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 8

Figura 10 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 9

Figura 11 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 10

Figura 12 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 11

Figura 13 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 12

Figura 14 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 13

Figura - Espectro da amostra do caldo do ensaio 14

Figura 16 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 15

Figura 17 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 16

Figura 18 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 17

Figura 19 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 18

Figura 20 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 19

Figura 21 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 20

Figura 22 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 21

Figura 23 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 22

Figura 24 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 23

Figura 25 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 24

Figura 26 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 25

Figura 27 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 26

Figura 28 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 27

Glicose e Frutose

Figura 1 - Espectro da amostra do caldo utilizado antes de ser tratado

Figura 2 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 1

Figura 3 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 2

Figura 4 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 3

Figura 5 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 4

Figura 6 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 5

Figura 7 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 6

Figura 8 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 7 diluída 50 x

Figura 9 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 8

Figura 10 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 9

Figura 11 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 10

Figura 12 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 11

Figura 13 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 12

Figura 14 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 13

Figura 15 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 14

Figura 16 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 15 diluída 50 x

Figura 17 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 16

Figura 18 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 17 diluída 100 x

Figura 19 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 18

Figura 20 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 19

Figura 21 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 20

Figura 22 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 21

Figura 23 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 22

Figura 24 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 23

Figura 25 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 24

Figura 26 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 25

Figura 27 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 26

Figura 28 - Espectro da amostra do caldo do ensaio 27