

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel**  
**Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos**



**Tese**

**Prospecção química em produtos da cana-de-açúcar da Região Sul do Brasil**

**Maicon Renato Ferreira Sampaio**  
**Químico licenciado**  
**Mestre em Química Tecnológica e Ambiental**

Pelotas, abril de 2021.

**Maicon Renato Ferreira Sampaio**

**Prospecção química em produtos da cana-de-açúcar da Região Sul do Brasil**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi  
Coorientadora: Prof. Dra. Deborah Murowaniecki Otero

Pelotas, abril de 2021.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

S192p Sampaio, Maicon Renato Ferreira

Prospecção química em produtos da cana-de-açúcar da Região Sul do Brasil / Maicon Renato Ferreira Sampaio ; Rui Carlos Zambiasi, orientador ; Deborah Murowaniecki Otero, coorientadora. — Pelotas, 2021.

125 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Avaliação físico-química. 2. Minerais. 3. Compostos bioativos. 4. Atividade antioxidante. 5. Açúcar processado. I. Zambiasi, Rui Carlos, orient. II. Otero, Deborah Murowaniecki, coorient. III. Título.

CDD : 664

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

**Maicon Renato Ferreira Sampaio**

**Prospecção química em produtos da cana-de-açúcar da Região Sul do Brasil**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Data da Defesa: 07/04/2021

Banca examinadora:

**Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi** - Presidente/ Orientador – CCQFA/UFPeI

**Prof. Dra. Andressa Carolina Jacques** – Unipampa, Campus Bagé

**Prof. Dra. Deborah Murowaniecki Otero** – UFBA

**Prof. Dra. Márcia Arocha Gularte** – CCQFA/UFPeI

**Prof. Dra. Mariana Antunes Vieira** – CCQFA/UFPeI

**Dra. Meibel Teixeira Lisboa (suplente)** – CCQFA/UFPeI

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida e proteção.

Agradeço à minha mãe Teresinha e minha avó Diná pelo amor, carinho e por toda a força durante toda minha vida! Muito obrigado! Sem vocês com certeza não teria chego até aqui.

Ao meu amigo Leandro muito obrigado pelo incentivo e amizade, agradeço também aos amigos Gislaine e Marco Antônio.

À minha amiga e colega desde o ensino fundamental Dra. Meibel Teixeira Lisboa, muito obrigado por me ajudar, por toda a dedicação e apoio em todos os momentos do desenvolvimento deste trabalho!

Ao meu orientador Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi pela orientação, pelos ensinamentos os quais foram fundamentais para a realização do trabalho, por toda dedicação e atenção. Meu agradecimento!

A minha coorientadora Deborah Murowaniecki Otero, obrigado por me ajudar sempre nos artigos e as contribuições na qualificação e tese. Muito obrigado!

A todos os meus colegas de trabalho e em especial à Cris, José e Vânia que me apoiaram e me ajudaram em todos os momentos.

Agradeço em especial à Profa. Dra. Mariana Antunes Vieira e ao Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho, pelo incentivo, apoio e oportunidade de participar do grupo de pesquisa LabMequi (Laboratório de Metrologia Química). Agradeço também à professora Mariana pelas contribuições no exame de qualificação e na tese. Muito obrigado!

Aos colegas do LabMequi, com os quais convivi e estavam sempre dispostos a ajudar, em especial à Meibel, Mariana Machado, Janaína, Emanuele, Charlie, Ana Renata, Caroline, Sandy, Daísa.

À minha coorientada Mariana Caminha Machado, muito obrigado por participar do trabalho e pela ajuda em diversos momentos.

Às colegas do Laboratório de Cromatografia: Aléxia, Bruna, Fernanda, Lisiane, Lorena, em especial à Tailise pela ajuda na estatística e à Raquel em algumas análises.

Agradeço a Profa. Dra. Márcia Arocha Gularte pelas contribuições no exame de qualificação e na tese e pelo auxílio em algumas análises e agradeço também a

sua equipe do Laboratório de Análise Sensorial.

Agradeço à Prof. Dra. Andressa Carolina Jacques, por aceitar participar das bancas e pelas contribuições no exame de qualificação e na tese.

Aos professores e colegas com os quais convivi nas disciplinas do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), em especial aos coordenadores Elessandra e Maurício por toda a atenção nas minhas dúvidas, e agradeço também a atenção do pessoal da secretaria em especial à Josiele e Laura.

Agradeço à Universidade Federal de Pelotas (UFPel), instituição da qual eu faço parte como Técnico de Laboratório há dez anos, pela possibilidade de realização deste trabalho e pelo ensino público e de qualidade.

À CAPES e ao CNPQ pelo suporte financeiro.

E por fim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização desse trabalho.

Muito obrigado!

## Resumo

SAMPAIO, Maicon Renato Ferreira. **Prospecção química em produtos da cana-de-açúcar da Região Sul do Brasil**. 2021. 125f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

Este trabalho foi sub dividido em três capítulos. No primeiro capítulo objetivou-se realizar uma avaliação de parâmetros físico-químicos em produtos da cana-de-açúcar (diferentes tipos de açúcares, rapadura e melado) da Região Sul do Brasil. Nestas amostras foram avaliados parâmetros como o pH, a cor, sólidos solúveis, o conteúdo de umidade, de cinzas, de açúcares totais, de açúcares redutores e dos açúcares majoritários presentes nas amostras. De acordo com os resultados foi observado variação nos parâmetros físico-químicos segundo o tipo e do grau de processamento das amostras. O segundo capítulo foi baseado na proposta de método alternativo para a determinação multielementar (Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Na) em produtos da cana-de-açúcar, onde foi empregado como preparo de amostra a decomposição ácida com sistema de refluxo, seguido da determinação pela técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES). Para isto foi realizado um estudo completo de otimização de variáveis envolvendo a massa de amostra, o tempo, a temperatura de decomposição e a adição de peróxido de hidrogênio. Em todas as etapas de otimização, foram avaliadas a acidez remanescente e a porcentagem de sólidos totais dissolvidos; e ao final da etapa foi avaliado o conteúdo de carbono residual. Os limites de detecção do método variaram de 0,02 a 0,26 mg kg<sup>-1</sup> para os analitos investigados. A exatidão do método foi avaliada pela técnica de adição de analito, obtendo-se recuperações na faixa de 80 a 119%, sendo consideradas satisfatórias. As concentrações dos analitos nas diferentes amostras variaram conforme o tipo e o grau de processamento das amostras. No terceiro capítulo foi avaliado o conteúdo de compostos bioativos (compostos fenólicos, flavonoides e carotenoides) e a atividade antioxidante por sequestro de radicais utilizando DPPH e ABTS nestes produtos. Foram encontrados conteúdos de compostos fenólicos na faixa de 3,01 a 279,56 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>, de flavonoides na ordem de 0,63 a 28,33 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>, e de

carotenoides na faixa 0,18 a 4,37  $\mu\text{g g}^{-1}$  expresso em  $\beta$ -caroteno. As atividades antioxidantes por DPPH e ABTS foram obtidas com variações entre 9,99 a 275,33 e 14,03 a 1263,46, respectivamente, ambas expressas em  $\mu\text{M trolox g}^{-1}$ . Foram observados maiores conteúdos em compostos bioativos e propriedades antioxidantes nas amostras de açúcar mascavo, rapadura e melado; confirmando assim, a perda de compostos bioativos e das propriedades antioxidantes nos açúcares mais purificados (açúcares refinado e cristal). Com base nos resultados do presente trabalho, pôde-se inferir que a substituição dos açúcares refinados por açúcares não refinados pode ser uma alternativa na dieta com efeitos benéficos para a saúde devido a presença de um maior conteúdo de minerais e de compostos bioativos além da maior atividade antioxidante.

**Palavras chave:** avaliação físico-química, minerais, compostos bioativos, atividade antioxidante, açúcar processado.

## Abstract

SAMPAIO, Maicon Renato Ferreira. **Chemical prospecting of sugarcane products from Southern Brazil**. 2021. 125f. Thesis (Doctorate) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

This work was sub divided into three chapters. In the first chapter, aimed to evaluate the physico chemical parameters in products from sugarcane (different types of sugars, brown sugar candy and molasses) from Southern of Brazil. In these samples, parameters such as pH, color, soluble solids and the content of moisture, ash, total and reducing sugars, and the majority sugars present in the samples were evaluated. According to the results it was observed variations in the physico chemical parameters according to the type and degree of sample processing. The second chapter refers to the proposal of an alternative method for multielemental determination (Ba, Ca, Cu, Fe K, Mg, Mn and Na) in sugar cane products, where acid decomposition with reflux system was used as sample preparation, and it was followed by the determination by the technique of Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry (MIP OES). For this, a complete study of optimization of variables involving the sample mass, time, decomposition temperature and the addition of hydrogen peroxide was carried out. In all stages of optimization, the remaining acidity and the percentage of total dissolved solids were evaluated, and at final step it was evaluated the residual carbon content. The detection limits of the method varied from 0.02 to 0.26 mg kg<sup>-1</sup> for the investigated analytes. The accuracy of the method was evaluated using the analyte addition technique, obtaining recoveries in the range of 80 to 119%, being considered satisfactory. The concentrations of the analytes in the different samples varied according to the type and degree of processing of the samples. In the third chapter, the bioactive compounds (phenolic compounds, flavonoids and carotenoids) and antioxidant activities by radical scavenging using DPPH and ABTS in these products were evaluated. The phenolic compounds varied in the range of 3.01 to 279.56 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>, flavonoids from 0.63 to 28.33 mg EQ 100 g<sup>-1</sup>, and carotenoids from 0.18 to 4.37 µg g<sup>-1</sup> expressed in β-carotene. The antioxidant activities by DPPH and ABTS

varied between 9.99 to 275.33 and 14.03 to 1263.46, respectively, both expressed in  $\mu\text{M trolox g}^{-1}$ . Higher contents of bioactive compounds and antioxidant properties were observed in the samples of brown sugar, brown sugar candy and molasses, confirming the loss of bioactive compounds and antioxidant properties in the most purified sugars (refined and crystal sugars). Based on the results of the present study, it can be inferred that the substitution of refined sugars with unrefined sugars can be an alternative in the diet with beneficial effects on health due to the presence of a higher content of essential minerals and bioactive compounds in addition to the greater antioxidant activity.

**Keywords:** Physico chemical evaluation, minerals, bioactive compounds, antioxidant activity, processed sugar.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Etapas do beneficiamento da cana-de-açúcar em pequenas indústrias. ...	33
<b>Figura 2.</b> Etapas do processamento industrial dos açúcares cristal, refinado e demerara. ....	34
<b>Figura 3.</b> Esquema representativo dos sistemas de refluxo proposto por Ferreira e colaboradores (A) e por Oreste e colaboradores (B). ....	40
<b>Figura 4.</b> Diagrama esquemático do espectrômetro de emissão óptica induzido por micro-ondas. ....	41
<b>Figura 5.</b> Estrutura química genérica dos flavonoides. ....	50
<b>Figura 6.</b> Reação de captura do DPPH. ....	52
<b>Figura 7.</b> Estabilização do radical ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio. ....	53
<b>Figura 8.</b> Amostras de produtos da cana-de-açúcar avaliados. ....	55
<b>Figura 9.</b> Sistema de nebulização convencional do espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas. ....	70
<b>Figura 10.</b> Otimização da variação da massa de açúcar mascavo para o sistema de decomposição com refluxo em condições fixas (5 mL de HNO <sub>3</sub> , 150 °C, 2 horas de decomposição, volume final de 50 mL). ....	76
<b>Figura 11.</b> Otimização da variação do tempo de decomposição do açúcar mascavo: (a) 150 °C, 1000 mg de amostra, 5 mL de HNO <sub>3</sub> , volume final de 50 mL. (b) 180 °C, 1000 mg de amostra, 5 mL de HNO <sub>3</sub> , volume final de 50 mL. ....	78
<b>Figura 12.</b> Otimização da variação do tempo de decomposição do açúcar mascavo para o sistema de refluxo (150 °C, 1000 mg de amostra, 5 mL de HNO <sub>3</sub> 15 micropérolas, 1 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> por mais 1 h, volume final de 50 mL) ....	79
<b>Figura 13.</b> Etapas da decomposição, apresentando ao final, soluções com aspecto límpido. ....	80
<b>Figura 14.</b> Esquema do procedimento de preparo otimizado para as amostras de produtos da cana-de-açúcar. ....	81
<b>Figura 15.</b> Comparação visual de cor nas amostras e da reação de Folin na determinação do CTCF. ....	96
<b>Figura 16.</b> Avaliação visual da cor durante o procedimento de deteminação do conteúdo de flavonoides nas amostras. ....	99

**Figura 17.** Gráficos representativos do conteúdo dos compostos bioativos e da atividade antioxidante de amostras de açúcar e produtos da cana-de-açúcar..... 101

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Moagem de cana-de-açúcar, produção de açúcar e etanol no Brasil - safra 2019/2020 .....	24
<b>Tabela 2.</b> Composição química da cana-de-açúcar e do caldo da cana.....	26
<b>Tabela 3.</b> Tabela de composição nutricional do açúcar refinado e açúcar mascavo (porção de 100 gramas) .....	29
<b>Tabela 4.</b> Macro e microminerais presentes nos alimentos .....	36
<b>Tabela 5.</b> Elementos essenciais, não essenciais e potencialmente tóxicos determinados em açúcares e correlatos .....	38
<b>Tabela 6.</b> Parâmetros de qualidade do açúcar destinado à alimentação.....	45
<b>Tabela 7.</b> Resultados dos parâmetros físico-químicos dos produtos da cana-de-açúcar .....	60
<b>Tabela 8.</b> Dados de parâmetros físico-químicos dos açúcares mascavos oriundos de SP e RS.....	64
<b>Tabela 9.</b> Conteúdo de mono e dissacarídeos nos produtos da cana-de-açúcar (n=3).....	66
<b>Tabela 10.</b> Condições gerais de funcionamento do MIP OES para as determinações de minerais em amostras de produtos da cana-de-açúcar .....	71
<b>Tabela 11.</b> Condições operacionais para determinação dos minerais por MIP OES em amostras de produtos da cana-de-açúcar .....	71
<b>Tabela 12.</b> Parâmetros de mérito para a determinação multielementar em amostras de produtos da cana-de-açúcar, utilizando MIP OES.....	83
<b>Tabela 13.</b> Concentrações de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Na em açúcar mascavo por MIP OES, após adições de diferentes concentrações (n=3).....	84
<b>Tabela 14.</b> Concentrações de minerais nas amostras de açúcar por MIP OES. Valores em mg kg <sup>-1</sup> (n=3) .....	87
<b>Tabela 15.</b> Concentrações de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Na em amostras de rapadura e melado determinados por MIP OES. Valores em mg kg <sup>-1</sup> (n=3).....	88
<b>Tabela 16.</b> Concentrações de minerais nas amostras de açúcar mascavo por MIP OES (n=3).....	89
<b>Tabela 17.</b> Conteúdo total dos principais compostos bioativos nos produtos da cana-	

de-açúcar (n=3).....	96
<b>Tabela 18.</b> Atividade antioxidante nos produtos da cana-de-açúcar (n=3).....	100

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ABTS</b>	Ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico
<b>AES</b>	Espectrometria de Emissão Atômica, do inglês <i>Atomic Emission Spectrometry</i>
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>CNNPA</b>	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
<b>CONAB</b>	Companhia Nacional de Abastecimento
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
<b>F AAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama, do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
<b>GF AAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite, do inglês <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
<b>HPLC</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
<b>IAL</b>	Instituto Adolfo Lutz
<b>ICP OES</b>	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
<b>ICP-MS</b>	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
<b>ICUMSA</b>	Comissão Internacional para Métodos Uniformes de Análise de Açúcar, do inglês <i>International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis</i> .
<b>IDR</b>	Ingestão Diária Recomendada
<b>LD</b>	Limite de Detecção, do inglês <i>Limit of Detection</i>
<b>LQ</b>	Limite de Quantificação, do inglês <i>Limit of Quantification</i>
<b>MAPA</b>	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
<b>MIP OES</b>	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas, do inglês <i>Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
<b>RSD</b>	Desvio Padrão Relativo, do inglês <i>Relative Standard Deviation</i>
<b>TACO</b>	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

## Sumário

1	INTRODUÇÃO GERAL .....	19
1.1	Justificativa .....	21
1.2	Objetivo.....	22
1.3	Objetivos específicos .....	22
1.4	Hipóteses .....	23
2	REVISÃO DA LITERATURA .....	23
2.1	Cana-de-açúcar .....	23
2.2	Composição química da cana-de-açúcar.....	25
2.3	Produtos derivados da cana-de-açúcar .....	27
2.3.1	Melado ou mel de engenho.....	27
2.3.2	Rapadura .....	27
2.3.3	Açúcar mascavo .....	28
2.3.4	Açúcar refinado.....	30
2.3.5	Açúcar cristal .....	31
2.3.6	Açúcar demerara .....	31
2.3.7	Outros tipos de açúcares .....	31
2.3.8	Fluxogramas de produção de derivados artesanais e de açúcares industriais .....	32
2.4	Minerais em alimentos .....	34
2.4.1.	Preparo de amostras para determinação de minerais.....	37
2.4.2	Decomposição ácida com sistema de refluxo com dedo frio.....	39
2.4.3	Determinação multielementar – Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) .....	40
2.5	Parâmetros físico-químicos em produtos da cana-de-açúcar .....	42
2.5.1	pH .....	42
2.5.2	Cinzas.....	42
2.5.3	Umidade.....	43
2.5.4	Coloração.....	44
2.5.5	Açúcares totais, redutores e sólidos solúveis totais (° Brix) .....	45
2.5.6	Determinação dos mono e dissacarídeos presentes nos açúcares .....	47
2.6	Compostos bioativos em produtos da cana-de-açúcar .....	48
2.6.1	Compostos fenólicos.....	48
2.6.2	Flavonoides.....	49
2.6.3	Carotenoides.....	50
2.6.4	Métodos espectrofotométricos de determinação de compostos bioativos e atividade antioxidante (DPPH e ABTS) .....	51
3	CAPÍTULO 1 ATRIBUTOS FÍSICO-QUÍMICOS EM PRODUTOS DA CANA-	

DE-AÇÚCAR DA REGIÃO SUL DO BRASIL .....	54
3.1 Introdução .....	54
3.2 Materiais e métodos.....	54
3.2.1 Amostras.....	54
3.2.2 Instrumentação .....	55
3.2.3 Parâmetros físico-químicos.....	56
3.2.3.1 pH.....	56
3.2.3.2 Teor de umidade.....	56
3.2.3.3 Teor de cinzas .....	57
3.2.3.4 Cor.....	57
3.2.3.5 Teor de Sólidos solúveis totais, açúcares totais e redutores .....	58
3.2.3.6 Determinação de mono e dissacarídeos .....	58
3.2.3.7 Análise estatística.....	59
3.3 Resultados e discussões .....	59
3.3.1 Parâmetros físico-químicos de diferentes produtos da cana .....	59
3.3.2 Parâmetros físico-químicos de diferentes tipos de açúcar mascavo .....	63
3.3.3 Composição em mono e dissacarídeos das amostras de açúcares, rapadura e melado .....	65
3.4 Conclusões .....	66
4 CAPÍTULO 2 DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR EM PRODUTOS DA CANA-DE-AÇÚCAR POR MIP OES APÓS DECOMPOSIÇÃO ÁCIDA COM SISTEMA DE REFLUXO.....	67
4.1 Introdução .....	67
4.2 Materiais e métodos.....	69
4.2.1 Reagentes e amostras.....	69
4.2.2 Instrumentação .....	69
4.2.3 Otimização do método de preparo de amostra .....	72
4.2.4 Parâmetros de mérito .....	73
4.3 Resultados e discussões .....	76
4.3.1 Otimização do preparo de amostra .....	76
4.3.1.1 Efeito da massa de amostra .....	76
4.3.1.2 Efeito do tempo e temperatura de decomposição .....	77
4.3.1.3 Efeito da adição de peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	79
4.3.2 Procedimento de preparo de amostra otimizado .....	80
4.3.3 Conteúdo residual de carbono (CRC).....	81
4.3.4 Parâmetros de mérito .....	82
4.3.5 Análise elementar das amostras de cana-de-açúcar.....	85
4.4 Conclusões .....	90

5	CAPÍTULO 3 COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM PRODUTOS DA CANA-DE-AÇÚCAR DA REGIÃO SUL DO BRASIL.....	91
5.1	Introdução.....	91
5.2	Materiais e métodos.....	92
5.2.1	Reagentes e amostras.....	92
5.2.2	Instrumentação.....	93
5.2.3	Determinação dos compostos bioativos.....	93
5.2.3.1	Conteúdo total de compostos fenólicos (CTCF).....	93
5.2.3.2	Conteúdo total de flavonoides (CTF).....	93
5.2.3.3	Conteúdo total de carotenoides (CTC).....	94
5.2.4	Atividade antioxidante <i>in vitro</i> .....	94
5.2.4.1	DPPH.....	94
5.2.4.2	ABTS.....	95
5.2.5	Análise estatística.....	95
5.3	Resultados e discussões.....	95
5.3.1	Conteúdo total de compostos fenólicos (CTCF).....	95
5.3.2	Conteúdo total de flavonoides (CTF).....	97
5.3.3	Conteúdo total de carotenoides (CTC).....	99
5.3.4	Atividade antioxidante <i>in vitro</i> (DPPH e ABTS).....	99
5.4	Conclusões.....	103
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	104
7	APÊNDICE.....	106
8	REFERÊNCIAS.....	111

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é uma das mais importantes no país, sendo que o Brasil é destaque como maior produtor mundial de cana-de-açúcar e também do açúcar processado. Além de matéria-prima para a produção de açúcar e álcool, produção de derivados artesanais, os resíduos da cana, como o bagaço, são utilizados para geração de energia, na fabricação de ração animal e de fertilizantes para as lavouras (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011; EMBRAPA, 2009).

Além disto, esta cultura é importante para os pequenos produtores como fonte de renda na produção de derivados artesanais, como a aguardente (popular “cachaça”), rapadura, melado, açúcar mascavo e o caldo da cana. O caldo é a matéria-prima para produção de açúcar, a qual é obtida pela moagem da cana. Neste processo são conservados muitos dos nutrientes presentes no colmo da planta, como os açúcares, principalmente a sacarose e em menor proporção glicose e frutose; minerais como ferro, cálcio, potássio, sódio, fósforo, magnésio; além de vitaminas C e do complexo B, de proteínas, de lipídios (ceras e graxas) e de compostos com ação antioxidante, como os polifenóis (FAVA, 2004; JAFFÉ, 2015). A partir do caldo, em pequenos engenhos ou agroindústrias, são produzidos o melado ou mel de engenho, a rapadura e o açúcar mascavo. Estes produtos não passam pelo branqueamento como o açúcar refinado, o qual, através deste processo, perde praticamente todos os nutrientes como os minerais, vitaminas e proteínas, além dos antioxidantes naturais, sendo classificado pelos nutricionistas como um alimento que provém apenas “calorias vazias”, pois contém basicamente sacarose. E, além disto, o açúcar refinado pode conter resíduos de enxofre, devido ao mesmo ser muito usado no processo de branqueamento, no qual é realizado uma sulfitação (ARAÚJO, 2007; JAFFÉ, 2015).

Sendo assim, o consumo de produtos da cana-de-açúcar que não passam por processos químicos de refino pode ser nutricionalmente benéfico. Alguns autores vêm estudando a composição dos produtos não refinados da cana, com objetivo de elucidar as propriedades funcionais e nutritivas que estes alimentos podem proporcionar na dieta, além de calorias. O alimento ou ingrediente com alegação de propriedades funcionais ou de saúde pode, além

de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica. As propriedades que promovam a saúde estão relacionadas às substâncias que podem estar naturalmente presentes ou adicionadas ao alimento (ANVISA, 1999; MORAES & COLLA, 2006).

Na literatura, autores relatam a presença de compostos fenólicos tais como flavonas (apigenina, luteolina e tricina), flavonas glicosiladas e derivados do ácido cinâmico (ácidos clorogênico, cumárico, ferúlico e cafeico) em produtos da cana-de-açúcar, bem como compostos originados da reação de Maillard, os quais são importantes no sabor, cor e aroma dos produtos da cana-de-açúcar (ALMEIDA, 2006; COLOMBO, et al., 2005; 2008, SEGUÍ et al., 2015). A cana-de-açúcar é uma matriz complexa e com grande quantidade de carboidratos e compostos derivados, e por isso alguns compostos bioativos estão na forma glicosilada, ou seja, complexados aos açúcares, o que dificulta a sua identificação e quantificação. Além disto, os produtos da cana-de-açúcar contém compostos de alto peso molecular oriundos da reação de Maillard, a qual ocorre durante o processamento da cana, os quais também conferem efeito na atividade antioxidante dos açúcares e derivados não refinados (rapadura e melado) (ALMEIDA, 2006, SEGUÍ et al, 2015).

Os minerais são nutrientes essenciais para a manutenção da saúde, no entanto não podem ser sintetizados pelo organismo e precisam ser obtidos através da dieta (LOHMANN, 2008). Para a determinação de minerais nos produtos da cana-de-açúcar há a necessidade de preparo adequado da amostra para a decomposição da matéria orgânica e liberação dos analitos em uma forma apropriada para a análise. Uma proposição que é feita no presente trabalho consiste na decomposição ácida em sistema de refluxo e posterior determinação por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) .

Desta forma, pretende-se com este trabalho, realizar uma avaliação físico-química, incluindo parâmetros preconizados para açúcares e produtos correlatos, desenvolver um método para determinação multielementar, avaliar o conteúdo total das principais classes de compostos bioativos e da atividade antioxidante em produtos da cana-de-açúcar (diferentes tipos de açúcares,

rapadura e melado) da Região Sul do Brasil.

## 1.1 Justificativa

Na literatura são reportados poucos trabalhos que avaliam o conteúdo de minerais ou de compostos bioativos, bem como da atividade antioxidante, em produtos da cana-de-açúcar brasileira. Além disto, conforme pesquisas prévias, não foram encontrados trabalhos que determinem compostos bioativos e minerais em produtos da cana-de-açúcar da região Sul do Brasil, sendo encontrados na literatura trabalhos em cana-de-açúcar oriundas de São Paulo, estado maior produtor.

Acrescenta-se ao fato de que até o momento em que o trabalho foi realizado não foi encontrado na literatura o uso da decomposição ácida com sistema de refluxo com dedo frio e nem a determinação de minerais por MIP OES em açúcares e produtos correlatos. O sistema de refluxo tem se destacado no preparo de amostras, já que possibilita o aumento da temperatura durante o processo de decomposição sem que haja perda de analitos ou ácidos por volatilização. Além disto, a utilização de uma unidade de refrigeração mantém o controle da temperatura da água durante o processo de decomposição e o sistema de refluxo apresenta um alívio de pressão permitindo o uso de maiores massas de amostra.

A técnica de MIP OES permite a determinação multielementar e tem se tornado uma boa alternativa frente a outras técnicas devido ao baixo custo de operação, já que o plasma é mantido através do nitrogênio retirado do ar e há pouca variação do limite de detecção entre essas técnicas (Ex: ICP OES e MIP OES). Para a formação do plasma, um fluxo momentâneo de gás argônio é liberado e é gerado um campo magnético para excitação do gás. Após a formação do plasma, o gás argônio é substituído pelo gás nitrogênio, sendo mantido por todo tempo de funcionamento, apresentando menor custo com gases, uma das principais vantagens dessa técnica. A ignição não é feita com nitrogênio, devido à necessidade de uma maior fonte de energia, uma vez que esse gás precisa ser dissociado para posterior ionização. Além disso, comparado com a temperatura do gás argônio, o plasma de nitrogênio atinge uma menor temperatura, 5000 °C, fazendo com que a técnica tenha menor

sensibilidade para alguns elementos.

Espera-se que este trabalho contribua com a pesquisa sobre compostos bioativos e perfil de minerais em produtos oriundos de diferentes graus de processamento da cana-de-açúcar, ressaltando a importância do consumo de alimentos menos processados.

## **1.2 Objetivo**

O objetivo geral foi realizar uma prospecção química e o desenvolvimento de método para determinação multielementar, em produtos da cana-de-açúcar da Região Sul do Brasil.

## **1.3 Objetivos específicos**

- Realizar determinações físico-químicas de diferentes produtos da cana-de-açúcar, incluindo a determinação de açúcares totais e redutores, dos açúcares majoritários por cromatografia líquida de alta performance, de sólidos solúveis totais (° Brix), do teor de umidade e de cinzas, da cor (ICUMSA e parâmetros L, a e b) e a determinação do pH.
- Desenvolver um método de preparo de amostra para posterior determinação multielementar em diferentes produtos da cana-de-açúcar.
- Otimizar os parâmetros, incluindo a massa de amostra, o tempo e temperatura de decomposição, e a adição de peróxido de hidrogênio, durante o desenvolvimento do preparo de amostra em função da acidez residual e do teor de sólidos dissolvidos.
- Quantificar o conteúdo de carbono residual nas amostras, após a proposição do método.
- Estudar os parâmetros de mérito para a determinação multielementar em produtos da cana-de-açúcar.
- Avaliar o conteúdo das principais classes de compostos bioativos, incluindo os compostos fenólicos, flavonoides e carotenoides, em diferentes produtos da cana-de-açúcar.
- Determinar a atividade antioxidante nos diferentes produtos da cana-de-açúcar, por dois métodos (DPPH e ABTS).

## 1.4 Hipóteses

Os produtos da cana-de-açúcar que não passam por processos de clarificação e branqueamento conservam o conteúdo de minerais e de compostos bioativos, além de sua atividade antioxidante, sendo alternativas nutritivas e com potencial funcional à saúde, diferentemente dos alimentos processados da cana como os açúcares brancos (cristal e refinado), no qual os nutrientes e compostos com ação antioxidante são perdidos.

Os métodos propostos para as determinações contribuem para o desenvolvimento de metodologias analíticas para a determinação de minerais em produtos da cana-de-açúcar.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Cana-de-açúcar

Botanicamente a cana-de-açúcar é uma angiosperma da família das gramíneas perenes, sendo considerada uma monocotiledônea do gênero *Saccharum*. Dentre as espécies conhecidas, a *Saccharum officinarum* L é a mais cultivada em regiões tropicais e subtropicais, além de ser a mais explorada economicamente em função de seu porte elevado, colmos grossos, altos teores de sacarose e baixo teor de fibras (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011; EMBRAPA, 2009).

A cana-de-açúcar é uma das plantas mais antigas cultivadas pela humanidade. Com diversos centros de origem, a região do sudeste da Ásia apresenta-se como a mais provável para o surgimento da espécie *Saccharum officinarum* L. A partir de sua difusão e adaptação no globo terrestre, atualmente tem sua produção concentrada nas regiões tropicais e subtropicais, com destaque para países como Brasil, Índia, China e Tailândia. No Brasil, fatores edafo-climáticos influenciaram para que a cultura se concentrasse principalmente no Estado de São Paulo, no sul de Goiás, no Triângulo Mineiro, no Mato Grosso do Sul e na região norte do Paraná (Tabela 1) (EMBRAPA, 2009; EMBRAPA, 2016).

**Tabela 1.** Moagem de cana-de-açúcar, produção de açúcar e etanol no Brasil - safra 2019/2020

<b>Principais Estados</b>	<b>Cana-de-açúcar (mil toneladas)</b>	<b>Açúcar (mil toneladas)</b>	<b>Etanol Anidro (mil m³)</b>	<b>Etanol Hidratado (mil m³)</b>	<b>Etanol Total (mil m³)</b>
SP	343.750	18.515	5.708	10.836	16.545
GO	75.268	1.782	1.044	4.488	5.533
MG	68.195	3.178	1.074	2.493	3.567
MS	47.515	731	704	2.628	3.332
PR	34.214	2.009	580	1.079	1.659
RS	31	0	0	2	2
SC	0	0	0	0	0
<b>Regiões/ Brasil</b>					
Centro-Sul	590.361	26.761	9.946	23.313	33.258
Norte-Nordeste	52.316	2.844	939	1.398	2.337

Fonte: UNICA, 2020.

As regiões destacadas com maior produtividade apresentam em geral características climáticas de inverno seco, clima necessário para a maturação e consequente acúmulo de sacarose; e de primavera e verão com temperaturas e precipitação elevadas, que promovem o crescimento vegetativo, condições ótimas para seu cultivo sob o ponto de vista agroindustrial. A Cana-de-açúcar uma planta de metabolismo fotossintético C4, é considerada altamente eficiente na conversão de energia radiante em energia química, com taxas fotossintéticas calculadas em até 100 mg de dióxido de carbono fixado por dm<sup>2</sup> de área foliar por hora. (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011; EMBRAPA, 2009; EMBRAPA, 2016; SOARES, 2018).

A Região Centro-Sul é a maior produtora do país. Na Região Sul, mais especificamente no estado do Paraná, quinto maior produtor nacional, segundo dados da CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento) a perspectiva é que a safra 2020/2021 deve apresentar um maior direcionamento da cana-de-açúcar colhida para geração de açúcar. Nesse cenário, a estimativa nesta região é de obtenção de mais de 2,6 milhões de toneladas de açúcar e 1,3 bilhão de litros de etanol (CONAB, 2020).

No Rio Grande do Sul o cultivo da cana-de-açúcar foi introduzido em 1725, nos municípios de Torres, Osório e Santo Antônio da Patrulha, sendo que, na atualidade, as regiões das Missões, Médio Alto Uruguai e Central

ostentam metade da produção sul-rio-grandense. A relação com a produção nacional é pouco significativa; assim, a importância da produção estadual concentra-se na agricultura familiar, em função das atividades em pequenas e médias propriedades, direcionadas ao processamento artesanal de subprodutos como melado, rapadura, açúcar mascavo e cachaça (ALBA & FLORES, 2013). Segundo dados do CONAB, no Rio Grande do Sul, para a safra 2020/2021, a perspectiva de produção é na ordem de 29,7 mil toneladas de cana-de-açúcar, que deve ser direcionado majoritariamente para a fabricação de etanol. Assim, a estimativa de produção do biocombustível é de mais de 1,6 milhão de litros (CONAB, 2020).

As principais limitações para o plantio de cana no estado do Rio Grande do Sul são as estiagens constantes e temperaturas muito baixas no inverno, onde ocorre a formação de geada. A cana é plantada de outubro a dezembro para colheita anual, e de janeiro a março para colheita de ano e meio. O primeiro plantio é a melhor época em virtude do inverno rigoroso, onde de outubro a abril ocorre o crescimento vegetativo e a partir de maio inicia a maturação, com a colheita ocorrendo após o mês de junho. As temperaturas baixas e os dias curtos de inverno promovem a maturação, determinando um acúmulo de sacarose até o ponto de colheita. As temperaturas próximas de 17 °C são benéficas para maturação, no entanto, temperaturas de 2,5 °C ou inferiores podem interromper este processo (ALBA & FLORES, 2013).

Importante destacar que na Região Sul a produção de açúcares brancos limita-se ao estado do Paraná. A grande produtividade brasileira da cana-de-açúcar está ligada à importância desta cultura com relação a sua múltipla utilização. É matéria-prima na produção de açúcar e etanol, além de que seus coprodutos e resíduos como o bagaço, que é rico em fibras, podendo ser utilizado para a geração de energia, fabricação de ração animal e como fertilizante para lavouras. Além disto, da cana-de-açúcar obtém-se o caldo de cana, açúcar mascavo, rapadura, melado e aguardente (SAMPAIO, 2011).

## **2.2 Composição química da cana-de-açúcar**

Na Tabela 2 estão contidos dados da composição química da cana-de-açúcar, os quais podem ser variáveis, em função das condições climáticas, das

propriedades físico-químicas e microbiológicas do solo, do tipo de cultivo, da variedade, do estágio de maturação, dentre outros.

**Tabela 2.** Composição química da cana-de-açúcar e do caldo da cana

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

FONTE: Adaptado de CHEN & CHOU, 1993.

Em média, a cana-de-açúcar apresenta 74,5% de água, 25,0% de matéria orgânica e 0,5% em matéria mineral. Basicamente, em termos quantitativos, a cana é dividida em fibras e caldo. As fibras são constituídas principalmente de celulose, hemicelulose, lignina e pentosanas. O teor de fibras depende da variedade, da idade e de outros fatores, estando na faixa de 10 a 16% (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011; CHEN & CHOU, 1993).

O caldo consiste em uma solução impura e diluída de sacarose, sendo constituído em média de 80% de água e 20% de sólidos solúveis. Os sólidos solúveis são agrupados em açúcares e não açúcares (orgânicos e inorgânicos). Os açúcares são principalmente constituídos pela sacarose, glicose e frutose. Os não açúcares orgânicos são constituídos de substâncias nitrogenadas (proteínas, aminoácidos, etc), gorduras, ceras, ácidos orgânicos, pigmentos (clorofila, sacaretina) e compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides). Os não açúcares inorgânicos são representados pelas cinzas, e têm como componentes principais o potássio, fósforo, cálcio, sódio, magnésio, ferro, cloro e enxofre (CHEN & CHOU, 1993; PRATI & CAMARGO, 2008).

A partir da cana-de-açúcar são produzidos vários tipos de produtos,

como os açúcares cristal, refinado e demerara; e de modo mais artesanal, a rapadura, o melado e o açúcar mascavo.

## **2.3 Produtos derivados da cana-de-açúcar**

### **2.3.1 Melado ou mel de engenho**

Segundo a Resolução nº 271 da ANVISA de 2005, melado é o produto obtido pela concentração do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) ou a partir da rapadura derretida (ANVISA, 2005a). Esta definição o diferencia do melaço, que é um coproduto resultante da produção industrial do açúcar. Para a produção do melado, o caldo de cana inicialmente com 16° Brix é concentrado até 55-65° Brix, resultando em um xarope. O ponto do melado é atingido com um teor de sólidos entre 65-72° Brix e temperatura entre 103 e 105 °C. Na indústria, o caldo é separado de impurezas que floculam pelo efeito do calor. Além disto, para evitar que o melado cristalize na forma de açúcar, se utiliza o ácido cítrico (grau alimentar), na proporção de 75 g de ácido para 100 L de caldo. A adição de ácido cítrico promove a inversão da sacarose durante a fase de concentração do caldo. A inversão consiste na hidrólise da sacarose, que resulta em glicose e frutose. A taxa de inversão é influenciada pela temperatura da massa, pela sua acidez e pela concentração de sacarose. O melado produzido desta forma tem um teor de açúcares redutores de 20% e pH de 4,0 (SILVA et al., 2003). Em algumas regiões do Brasil, o melado é considerado ainda um produto antianêmico, uma vez que é boa fonte de minerais como Fe, Ca, P e K, além de ser muito energético (NOGUEIRA et al., 2009). O uso do melado na alimentação humana é diversificado e varia entre as regiões. Este produto é consumido puro e em misturas com outros alimentos, tais como queijos, farinha, biscoitos, bolo, inhame e mandioca. Além disso, o melado é utilizado também como ingrediente na indústria de confeitaria, bebidas, balas e até mesmo como substituto do xarope no acondicionamento de alguns tipos de frutas em conserva (CARVALHO, 2007).

### **2.3.2 Rapadura**

A rapadura é definida como o produto sólido obtido pela concentração a quente do caldo de cana (*Saccharum officinarum* L.), podendo ser adicionado de outro(s) ingrediente(s) desde que não descaracterize(m) o produto (ANVISA, 2005a). Na rapadura, o caldo é concentrado até atingir o “ponto de rapadura”, temperatura em torno de 110 °C e concentração entre 82 e 85° Brix (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011). A rapadura é designada simplesmente "rapadura", quando adicionada de outras substâncias alimentares, tem sua designação acrescida do nome das mesmas. Ex: "rapadura com coco", ou "rapadura com amendoim" (CNNPA, 1978).

Em alguns estados do Nordeste a rapadura é muito consumida, além de ser um dos itens da merenda escolar, por ser um alimento energético, mas também rico em minerais e vitaminas. Segundo CARVALHO (2007) o mercado de produtos como o mel de engenho e a rapadura diminuiu com o surgimento das tecnologias de produção do açúcar refinado, todavia, com o aumento da demanda por produtos naturais esse mercado tende a crescer novamente.

### **2.3.3 Açúcar mascavo**

O açúcar mascavo é o açúcar bruto do caldo de cana. É composto majoritariamente pela sacarose, mas contém ainda a glicose, frutose e demais componentes do caldo. O produto é obtido na temperatura de 120 a 125 °C, atingindo a concentração de 90° a 95° Brix. De forma geral quando a cana atinge um teor de sacarose em torno de 16%, que é atingido quando o seu teor de sólidos solúveis for superior a 18° Brix, ela estará pronta para produzir açúcar mascavo (VERRUMA-BERNARDI et al., 2007). O açúcar mascavo mantém algumas vitaminas e minerais conforme Tabela 3 (SBD, 2021).

**Tabela 3.** Tabela de composição nutricional do açúcar refinado e açúcar mascavo (porção de 100 gramas)

<b>Composição</b>	<b>Açúcar refinado</b>	<b>Açúcar mascavo</b>
Calorias (kcal)	387	369
Carboidratos (g)	99,5	94,5
Lipídios (g)	Traços	0,1
Proteínas (g)	0,3	0,8
Umidade (g)	0,1	3,3
Cinzas (g)	Traços	1,4
Vitaminas complexo B (riboflavina) (mg)	-	0,03
Vitamina C (mg)	-	Traços
Cálcio (mg)	4	127
Cobre (mg)	Traços	0,17
Ferro (mg)	0,1	8,3
Fósforo (mg)	Traços	38
Magnésio (mg)	1	80
Manganês (mg)	-	2,03
Potássio (mg)	6	522
Sódio (mg)	12	25

Fonte: (TACO, 2011).

Comparativamente, o açúcar mascavo difere do açúcar branco refinado principalmente pela sua coloração escura (do dourado ao marrom-escuro) em função da variedade e da estação do ano em que a cana é colhida, pelo maior conteúdo de umidade e pelo menor percentual de sacarose (MENDONÇA et al., 2000; SILVA et al., 2003). Além disso, o açúcar mascavo apresenta menor carga energética específica e sua composição não compromete a absorção de nutrientes pelo organismo; seu uso moderado diminui sensivelmente as cáries dentárias e os danos à calcificação infantil, ajudando no bom desempenho do sistema digestivo e das funções hepática e renal, o que pode estar relacionado à presença de nutrientes minerais e de compostos fenólicos (JAFFÉ, 2015; MENDONÇA et al., 2000). O consumo de açúcar mascavo tem crescido devido

à valorização de produtos naturais na alimentação humana como parte de uma dieta saudável (JERONIMO et al., 2016).

O açúcar mascavo é comercializado como um produto convencional, em geral, o único produto utilizado na sua fabricação nos pequenos engenhos é o leite de cal (suspensão de hidróxido de cálcio em água), que é utilizado para a correção do pH do caldo quando necessário, para favorecer a cristalização do açúcar; e pode ser comercializado como açúcar mascavo orgânico com selos que garantam sua conformidade. Como todo produto orgânico, a cana orgânica deve ser cultivada sem o uso de adubos químicos ou agrotóxicos, que provém de um sistema de cultivo baseado no respeito ao meio ambiente e preservação dos recursos naturais, como na preservação da mata natural e ciliar, assim são usados adubos naturais, e no processo industrial se deve evitar o uso de determinados materiais químicos, além do seu acondicionamento em sacos de materiais específicos (LUCHINI, 2014).

#### **2.3.4 Açúcar refinado**

O açúcar de mesa, também conhecido como refinado ou branco, é o produto extraído da cana-de-açúcar e concentrado até 99,9% de sacarose (SEGUÍ et al., 2015). Devido a sua alta pureza, o valor nutricional do açúcar branco é muito baixo e fornece um maior número de calorias vazias (LEE et al., 2018). Além disto, o consumo de açúcar refinado tem sido relacionado a problemas de saúde como obesidade, cáries dentárias, doenças cardiovasculares, diabetes, dentre outros (MOYNIHAN & KELLY, 2014). Mesmo assim, o açúcar refinado continua sendo muito utilizado, não somente pelas características de sabor e doçura, mas também pela contribuição na preservação dos alimentos (LEE et al., 2018).

O açúcar refinado passa por um processo de branqueamento, onde o caldo é submetido ao processo de sulfitação, o qual promove a redução da cor do caldo através do contato com o anidrido sulfuroso. O açúcar refinado pode ser obtido por um processo de refino do açúcar cristal dissolvido, através de cristalização controlada. Este processo resulta em dois tipos de açúcar: refinado granulado e refinado amorfo (CRUZ & SARTI, 2011). O açúcar refinado granulado tem granulometria homogênea e coloração clara, e é

indicado para processos que necessitam alta pureza e para produtos que exijam transparência quando processados. Devido a sua composição, sua pureza é alta, e, portanto, ele não interfere no sabor final dos produtos. Em geral, tem prazo de validade de dois anos quando armazenado de maneira adequada. O açúcar refinado amorfo possui granulometria muito fina e irregular, com coloração clara, alta higroscopicidade, sendo ideal para processos que exijam rápida dissolução. Este açúcar se homogeneiza com facilidade com outros produtos, sendo o tipo de açúcar mais consumido no Brasil (CRUZ & SARTI, 2011).

### **2.3.5 Açúcar cristal**

O açúcar cristal é formado por cristais grandes e transparentes, mais difíceis de serem dissolvidos em água. Passa por um leve processo de refino, onde na etapa de clarificação do caldo são usados produtos químicos como cal e enxofre, e posteriormente passa pela centrifugação, que consiste na remoção da camada de mel (melaço), o que o diferencia do açúcar demerara. No açúcar cristal, segundo alguns autores, mais de 90% das vitaminas e minerais são perdidos. É mais apropriado para o uso culinário (MACHADO 2012; PORTAL DRAUZIO VARELLA, s.d).

### **2.3.6 Açúcar demerara**

O açúcar demerara passa por uma clarificação leve, que inclui limpeza da cana, e adição de cal para que as impurezas do caldo sejam precipitadas e posteriormente separadas. Possui valor nutricional alto, similar ao do açúcar mascavo, e apresenta cristais de melaço. O açúcar demerara não passa pela etapa de centrifugação ou turbinagem, diferentemente dos açúcares refinado e cristal. No entanto, pode deixar gosto residual no alimento, além de ser difícil de dissolver (MACHADO, 2012).

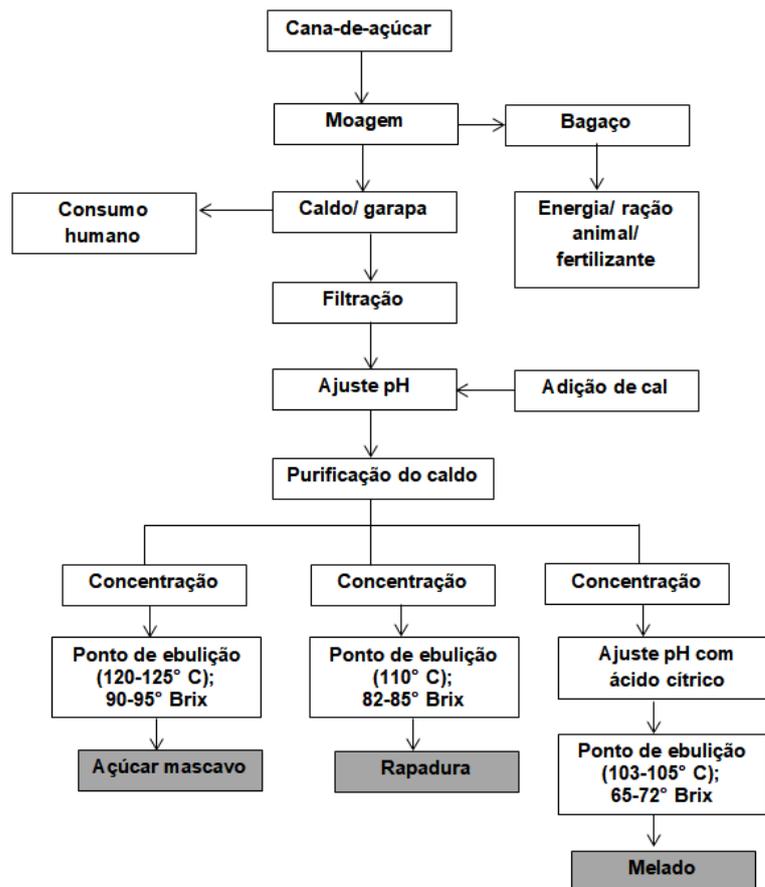
### **2.3.7 Outros tipos de açúcares**

Além dos açúcares mencionados, há uma grande variedade de açúcares

disponíveis no comércio, tais como açúcar de confeitiro (mistura do açúcar refinado e amido de milho), açúcar light, frutose, xilitol, etc. O açúcar light, por exemplo, é constituído pela mistura de açúcar refinado e edulcorantes, e por isto apresenta proporcionalmente menor conteúdo calórico e maior poder adoçante do que o açúcar refinado (MACHADO, 2012, PORTAL DRAUZIO VARELLA, s.d).

### **2.3.8 Fluxogramas de produção de derivados artesanais e de açúcares industriais**

Ao chegar no engenho, a cana-de-açúcar pode ser descarregada manual ou mecanicamente na moenda. Após a moagem, o bagaço (porção fibrosa da cana) pode ser queimado nas caldeiras para a produção de vapor, ou nas fornalhas dos tachos de concentração do caldo. As sobras do processo podem ser destinadas à alimentação bovina, ou para a compostagem juntamente com as cinzas, o que serve para a adubação orgânica da cana, a qual é destinada à obtenção de produtos orgânicos. A quantidade de caldo extraída é em torno de 500 kg / tonelada de cana, sendo que nas unidades mais modernas com moendas mais eficientes se obtém até 650 kg / tonelada de cana. O caldo segue para as etapas de purificação, incluindo a filtração, para a remoção de bagacilhos (restos de material fibroso e terra); e ajuste de pH com leite de cal, para evitar a inversão da sacarose e permitir a cristalização, no caso do açúcar mascavo, e evitar a “mela” no caso da rapadura (SILVA et al., 2003). Posteriormente, o xarope é concentrado e a diferença entre estes produtos está na temperatura utilizada no processamento e no teor de sólidos solúveis finais (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011). A partir de 1 tonelada de cana, a produção estimada de melado é de 126 a 203 kg, de rapadura de 97 a 155 kg, e de açúcar mascavo de 91 a 138 kg (SILVA et al., 2003). No fluxograma da Figura 1 é apresentado as etapas do processamento dos produtos brutos da cana (melado, rapadura e açúcar mascavo).

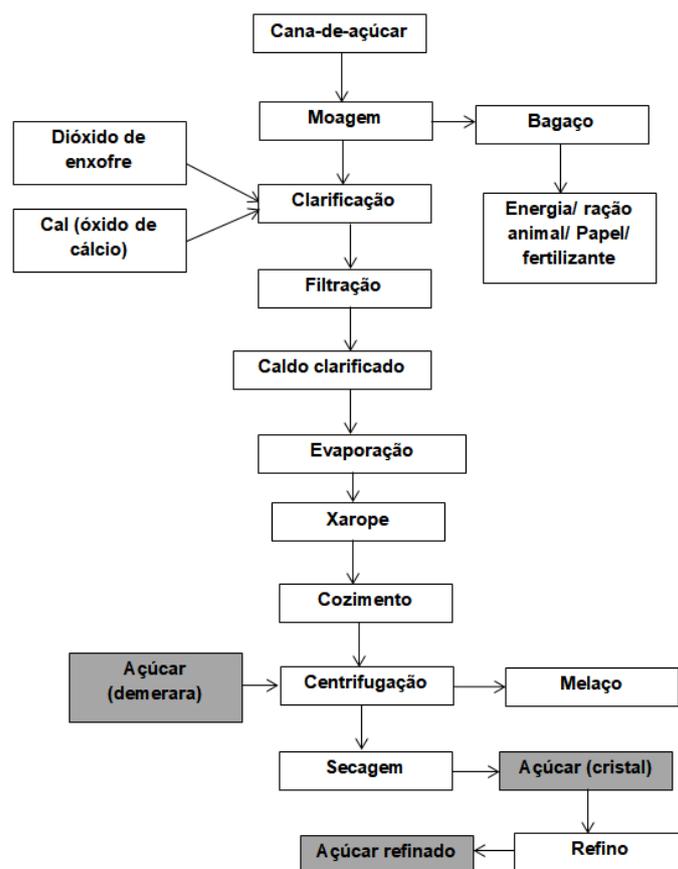


**Figura 1.** Etapas do beneficiamento da cana-de-açúcar em pequenas indústrias.

Fonte: Adaptado de CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al. (2011).

O processamento industrial do açúcar é composto das etapas de extração e peneiramento do caldo, para ocorrer a separação do bagacilho (fibras residuais); clarificação do caldo, para a remoção da maioria das substâncias que proporcionam cor ao caldo; evaporação da água do caldo transformando-o em xarope, ou cozimento à vácuo, para provocar a formação dos cristais de açúcar com mel; cristalização, que consiste no crescimento dos cristais à baixa temperatura; turbinação ou centrifugação, para separar os cristais do mel; secagem do açúcar, para retirar o excesso de umidade, e embalagem (ARAÚJO, 2007). A maioria das usinas que produzem açúcar refinado utilizam a sulfitação como método principal na clarificação do caldo, onde o dióxido de enxofre é produzido da queima do enxofre (ARAÚJO, 2007).

O fluxograma da Figura 2 representa de forma resumida as etapas da produção de açúcares industriais como cristal, refinado e demerara.



**Figura 2.** Etapas do processamento industrial dos açúcares cristal, refinado e demerara.

Fonte: Adaptado de CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al. (2011).

## 2.4 Minerais em alimentos

Os minerais são elementos inorgânicos (geralmente um metal), combinados com algum outro grupo, como óxido, carbonato, sulfato, etc. Porém, no organismo os minerais não estão combinados desta forma, mas de um modo mais complexo, ou seja, quelados, o que significa que são combinados com outros constituintes orgânicos, como as enzimas, os hormônios, as proteínas e, principalmente, com os aminoácidos (LOHMANN, 2008). Os alimentos são as principais fontes de minerais para o organismo, tanto os de origem vegetal como animal (LOHMANN, 2008).

Os açúcares em geral, juntamente com sal, óleos e gorduras, são classificados pelo Guia Alimentar da população brasileira do Ministério da Saúde na segunda categoria de alimentos, a qual corresponde a produtos

extraídos de alimentos *in natura* ou diretamente da natureza, e usados para temperar e cozinhar alimentos e criar preparações culinárias (BRASIL, 2014).

No âmbito da análise de alimentos, os minerais costumam ser denominados de cinzas, as quais compõem o conjunto das análises de composição proximal dos alimentos. As cinzas correspondem a uma estimativa do conteúdo total de minerais nos alimentos, e podem ser determinadas pela combustão da matéria orgânica (incineração) (MILLER, 2010). Pode-se dizer que o termo minerais engloba todos os elementos presentes nos alimentos que não sejam carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, os quais formam a quase totalidade das moléculas orgânicas (SILVA, 2017). Os minerais encontram-se em baixas concentrações nos alimentos e desempenham funções essenciais ao organismo. Em relação à dieta humana, os minerais são classificados em macro e microminerais. Os macrominerais são essenciais em quantidades diárias superiores a 50 mg, e incluem Ca, Cl, K, Mg, Na, P e S. Dentre os microminerais, necessários em quantidades diárias inferiores a 50 mg são inclusos (Cr, Cu, Fe, F, I, Mn, Mo, Se, Zn). Há ainda elementos não essenciais e não tóxicos (Al, Ba, B, Sn), e os elementos não essenciais e tóxicos (Hg, Pb, As, Cd e Sb) (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2003).

Na Tabela 4 estão relacionados os macro e microminerais, suas funções no organismo humano e os valores de ingestão diária recomendada (IDR).

**Tabela 4.** Macro e microminerais presentes nos alimentos

Classe	Mineral	Principais funções	IDR	
MACROMINERAIS	Cálcio (Ca)	Mineral mais abundantemente no corpo humano, importante na mineralização de ossos e dentes, o nível adequado de cálcio previne a osteoporose, importante na coagulação do sangue, em enviar e receber sinais nervosos, contração e relaxamento de músculos, liberação hormônios e outros produtos químicos.	1000 mg	
	Enxofre (S)	Estabilizar algumas estruturas proteicas, manter o cabelo, a pele e as unhas saudáveis, componente e ativador de enzimas antioxidantes.	Não estabelecido	
	Magnésio (Mg)	Cofator de enzimas.	260 mg	
	Fósforo (P)	Mineralização de ossos e dentes, síntese dos ácidos nucleicos (DNA e RNA), composição dos fosfolípídeos que transportam lipídeos pelo sangue e nutrientes para células.	700 mg	
	Cloro (Cl)	Equilibra os fluidos no organismo, componente do suco gástrico, essencial à digestão, ativa a amilase salivar.	Não estabelecido	
	Potássio (K)	Necessário para o corpo funcionar normalmente (é um eletrólito), construir proteínas, quebrar e usar carboidratos, construir músculos, manter o crescimento normal do corpo, controlar a atividade elétrica do coração, controlar o equilíbrio ácido-base	1,9 a 5,9 g	
	Sódio (Na)	Equilibra os líquidos corporais, juntamente com o potássio e cloreto, manutenção do equilíbrio ácido básico, excitabilidade de músculos e controla a pressão osmótica.	2400 mg	
	Cobre (Cu)	Formação do sangue e dos ossos, liberação de energia dos alimentos, produção de melanina e faz parte da enzima antioxidante superóxido dismutase.	900 µg	
	MICROMINERAIS	Cromo (Cr)	Atua no metabolismo da glicose e das gorduras	35 µg
		Ferro (Fe)	Formação da hemoglobina, oxidação celular e reações enzimáticas.	14 mg
Flúor (F)		Resistência dos dentes.	4 mg	
Iodo (I)		Necessário para a produção do hormônio tireóide.	130 µg	
Manganês (Mn)		Participa do sistema hormonal e muscular.	2,3 mg	
Molibdênio (Mo)		Participa de varias enzimas, metabolismo do DNA e de mecanismos de excreção de ácido úrico.	45 µg	
Selênio (Se)		Importante no sistema antioxidante pode ajudar a prevenir o câncer.	34 µg	
Zinco (Zn)	Cofator enzimático, regulador da expressão gênica.	7 mg		

Referências: (LOHMANN, 2008; Institute of Medicine, 2001; ANVISA, 2005b, SILVA, 2017, ZAMBIAZI, 2010).

### **2.4.1. Preparo de amostras para determinação de minerais**

Uma das etapas mais importantes dentro de uma sequência analítica é o preparo de amostra, sendo esta uma das etapas mais críticas, uma vez que, requer maior atenção e tempo, e é onde estão inseridos os maiores custos e erros analíticos. A determinação de elementos em amostras de natureza orgânica constitui um grande problema analítico, pois, normalmente, é necessária a transformação dos analitos presentes na matriz orgânica em uma forma inorgânica simples. O preparo de amostras sólidas, na maioria das vezes, requer métodos de decomposição/dissolução e/ou extração dos analitos antes da determinação de suas concentrações (KRUG, 2008).

A decomposição da amostra pode ser realizada por via seca (carbonização em bico de Bunsen), seguida de calcinação em mufla com temperatura variando de 400-550 °C (dependendo do elemento); ou por via úmida, utilizando-se ácidos minerais oxidantes como ácido nítrico, sulfúrico, perclórico, dentre outros (IAL, 2008).

Em matrizes em que há grande quantidade de matéria orgânica, a decomposição preferencialmente é realizada por via úmida com aquecimento e na presença de um ácido mineral oxidante concentrado, ou com a mistura de ácidos oxidantes, ou ainda com a mistura de um ácido oxidante e com um oxidante auxiliar, como peróxido de hidrogênio. Pode-se também utilizar para a decomposição de amostras um sistema de micro-ondas fechado (KORN et al., 2008; KRUG, 2008).

A principal vantagem dos métodos por via seca, em relação à úmida, é a possibilidade de decompor uma maior quantidade de amostra. Geralmente o processo de abertura da amostra é realizado em uma chapa de aquecimento ou em um bloco digestor. Suas principais desvantagens devem-se ao fato de que o aquecimento excessivo pode levar à perda do analito por volatilização e/ou tornar certos compostos metálicos insolúveis. A decomposição pela via úmida não apresenta estes inconvenientes, porém há limitação com relação à quantidade de amostra a ser empregada, por utilizar grandes quantidades de agentes oxidantes, além disto acarreta maiores custos, alto risco de contaminação da amostra pelos reagentes e exige maiores cuidados por parte do analista. Quanto à utilização da energia de micro-ondas para o preparo da

amostra, sua principal vantagem deve-se ao fato de ser um método rápido, porém, permite somente o tratamento de pequenas quantidades de amostra sendo, por esse motivo, mais utilizado na determinação de contaminantes inorgânicos em alimentos por técnicas mais sensíveis, como espectrometria de absorção atômica com forno de grafite ou espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio indutivamente acoplado a espectrômetro de massa (ICP-MS) (IAL, 2008).

Os açúcares em geral e produtos correlatos da cana consistem-se em matrizes complexas, em que há grande quantidade de matéria orgânica. Logo, há a necessidade de se empregar um preparo de amostra adequado, que decomponha toda a matéria orgânica e que libere os minerais em forma adequada para determinação. Na literatura, alguns estudos foram relatados para determinação de elementos essenciais, não essenciais e potencialmente tóxicos em açúcares e correlatos, os quais são resumidos na Tabela 5.

**Tabela 5.** Elementos essenciais, não essenciais e potencialmente tóxicos determinados em açúcares e correlatos

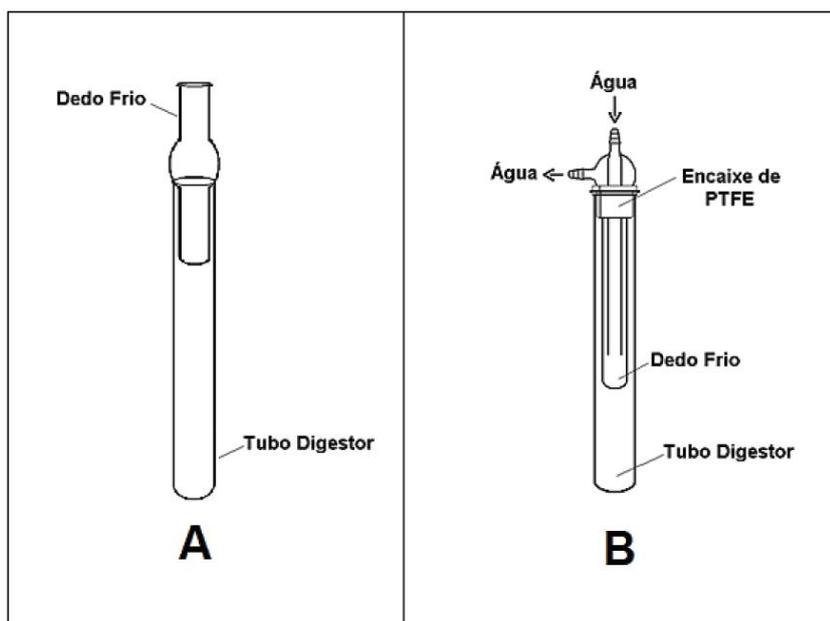
Literatura	Preparo de amostra
<b>Nogueira e colaboradores (2009):</b> Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn em melados e caldos de cana;	1,0 g de melado e 10 mL de caldo de cana e uma mistura de HNO <sub>3</sub> e HClO <sub>4</sub> (15:1) em sistema aberto;
<b>Lee e colaboradores (2018):</b> Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na e Zn diferentes açúcares comerciais da Coréia do Sul;	3,0 g de amostra : decomposição por via seca e o resíduo das cinzas foi dissolvido em HCl 1:1 seguido de mais etapas;
<b>Luchini e colaboradores (2017):</b> Cd, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn em açúcares mascavos orgânicos e convencionais	Decomposição por via úmida em sistema fechado: 1,0 g de amostra e 2 mL de água ultrapura e 2mL de HNO <sub>3</sub> e aquecimento a 120 °C por 2 h.
<b>Silva (2017):</b> Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, S, Si e Zn em açúcares brasileiros (refinado, cristal, mascavo e demerara)	Decomposição ácida assistida por radiação micro-ondas (0,5 g de amostra e 6,0 mL de HNO <sub>3</sub> 2,0 mol L <sup>-1</sup> e 2,0 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 30% <i>m/m</i> );
<b>Wilwerth e colaboradores (2009):</b> Al, Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb, S, Sr, V e Zn em amostras de açúcar mascavo.	(0,5 g de amostra e 15 mL de HNO <sub>3</sub> submetidos ao calor seco até que toda a matéria orgânica fosse consumida).

#### **2.4.2 Decomposição ácida com sistema de refluxo com dedo frio**

O uso de sistemas de refluxo com dedo frio na preparação das amostras vem se apresentando como uma alternativa promissora aos métodos convencionais de decomposição ácida (PINHEIRO et al., 2014). O primeiro design do dedo frio foi relatado por Ferreira e colaboradores (2013).

O dedo frio consiste em um tubo de vidro acoplado aos tubos comerciais de decomposição durante o procedimento de mineralização ácida com aquecimento. Nesse tubo, coloca-se água ou a água é continuamente circulada com o objetivo de promover o resfriamento da parte superior do tubo digestor, ocasionando desta forma o refluxo da solução (FERREIRA et al., 2013). A condensação dos ácidos para dentro do tubo de decomposição evita a necessidade de reposição destes reagentes durante o processo de mineralização das amostras, o que normalmente se faz necessário quando sistemas de decomposição abertos são utilizados. Conseqüentemente, menos reagentes são consumidos e o risco de contaminação pode ser consideravelmente reduzido, o que justifica o uso destes sistemas de refluxo em procedimentos de preparação das amostras para determinação, inclusive, de elementos voláteis (FERREIRA et al., 2013; PINHEIRO et al., 2014; SOUZA et al., 2019). O sistema de refluxo pelo dedo frio fornece uma maior superfície para a condensação e permite a formação de um filme da solução absorvente para melhor retenção de espécies voláteis. Dessa forma, ocorre a redução de perdas de analito por volatilização e evita-se a reposição de ácidos, aumentando a eficiência de decomposição (ORESTE et al., 2013; PINTO et al., 2019).

ORESTE e colaboradores (2013) adaptaram o sistema de refluxo desenvolvido por FERREIRA e colaboradores (2013), onde houve a inserção de um tubo de teflon com uma ranhura lateral para alívio da pressão, formando um sistema semifechado (ORESTE et al., 2013) (Figura 3). O sistema adaptado por ORESTE e colaboradores tem sido empregado na determinação de metais em diferentes matrizes de alimentos como arroz, leite em pó, frutas, cereais matinais, dentre outros (PINHEIRO et al., 2014; ORESTE et al., 2016; PEREIRA et al., 2018; SOUZA et al., 2019).



**Figura 3.** Esquema representativo dos sistemas de refluxo proposto por Ferreira e colaboradores (A) e por Oreste e colaboradores (B).

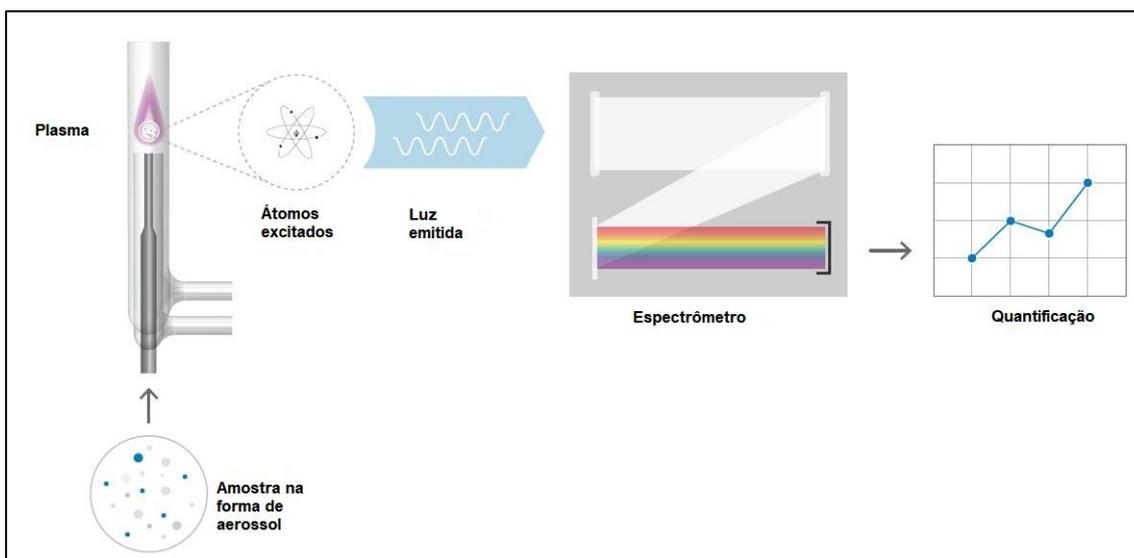
Fonte: SOUZA (2019).

### 2.4.3 Determinação multielementar – Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES)

A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) é uma técnica espectrométrica utilizada para a determinação multielementar, a qual utiliza o plasma como fonte de energia, sustentado por um campo magnético de micro-ondas e gás (Figura 4). A ionização dos átomos do gás ocorre com a energia fornecida por micro-ondas produzidas por um magnetron que opera a 2,45 GHz de potência e gás nitrogênio para sustentar o plasma (OZBEK & AKMAN, 2016).

A MIP OES baseia-se em um plasma de nitrogênio gerado por uma energia de micro-ondas magneticamente acoplada, onde a ignição do plasma utiliza um pequeno fluxo momentâneo de argônio auxiliar, e assim que entra em operação, o plasma alterna automaticamente para o nitrogênio e inicia a operação de rotina. O nitrogênio é captado do próprio ar atmosférico, sendo assim não é necessário o reabastecimento de gás como na espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (AGILENT, 2012).

Nesta técnica, a introdução contínua da amostra líquida juntamente com um sistema de nebulização forma um spray, que é transportado pelo nitrogênio para a tocha de plasma. No plasma, devido às altas temperaturas geradas, os analitos são atomizados e ionizados, criando os espectros de emissão atômica de linhas características. Os espectros são dispersos por uma grade de difração e o detector sensível à luz é responsável por medir as intensidades das linhas. As informações são processadas pelo sistema de computador através de processamento eletrônico de sinais elétricos por um fenômeno conhecido como efeito fotoelétrico (SKOOG, 2007; Laboratório de Técnicas Instrumentales 2016 apud RIOS et al., 2017).



**Figura 4.** Diagrama esquemático do espectrômetro de emissão óptica induzido por micro-ondas.

Fonte: Adaptado de AGILENT TECHNOLOGIES (2016).

A utilização do nitrogênio como fonte de energia para manter um plasma estável é uma das principais vantagens da técnica de MIP OES, devido aos custos de operação relativamente baixos comparados a outras técnicas, como da Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e da Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Além disto, a técnica de MIP OES não utiliza gases inflamáveis e tóxicos. O nitrogênio pode ser obtido através de um gerador de nitrogênio a partir do ar atmosférico comprimido por um compressor que produz nitrogênio com pureza superior a 99,5% (OZBEK & AKMAN, 2016; AMAIS et al., 2013;

DONATI et al., 2013; AGILENT TECHNOLOGIES, 2014).

A técnica de MIP OES tem sido utilizada para determinação de diversos elementos em diferentes matrizes, como de amostras geológicas (NIEDZIELSKI et al., 2015), bebidas (OZBEK & AKMAN, 2015), sementes (HEREDIA et al., 2016), combustíveis (AMAIIS et al., 2013), e em alimentos como pães, queijos, arroz, frango e pescado (OZBEK & AKMAN, 2016; OZBEK, et al., 2016a; OZBEK, et al., 2019; PINTO et al., 2019; RIOS et al., 2017).

## **2.5 Parâmetros físico-químicos em produtos da cana-de-açúcar**

### **2.5.1 pH**

O pH (potencial hidrogeniônico) corresponde a medida do teor de íons hidrogênios efetivamente dissociados em uma solução. Esta determinação é muito importante para caracterizar a acidez natural, a atividade enzimática, a estabilidade de componentes, verificação de estado de maturação de frutos e o estado de conservação do alimento (ZAMBIAZI, 2010). Em se tratando de açúcares em geral, o pH mais próximo da neutralidade é desejável, e isto reflete a adição de cal (óxido de cálcio) utilizada na etapa de clarificação do caldo da cana-de-açúcar. O caldo em geral é mais ácido, e o pH mais neutro evita a inversão da sacarose, pois em meio ácido, ocorre a reação de inversão da sacarose, resultando em maior quantidade de açúcares redutores, o que é desejável para a fabricação do melado, mas não muito desejável para produtos em que deve ocorrer a cristalização (BETTANI et al., 2014).

Para minimizar as perdas de sacarose por inversão ácida, bem como por degradação alcalina, as condições de trabalho durante o processamento do caldo de cana-de-açúcar são monitoradas, de maneira que o pH permaneça o maior tempo possível próximo da neutralidade (pH 7,0), dando origem assim a um produto final com pH também próximo a neutralidade (BETTANI et al., 2014).

### **2.5.2 Cinzas**

O teor de cinzas em alimentos refere-se ao resíduo inorgânico ou mineral fixo presente na amostra (Na, K, Mg, Ca, Fe, P, Cu, Cl, Al, Zn, Mn e outros compostos minerais) remanescentes da queima da matéria orgânica em mufla a temperaturas entre 500 a 600 °C (ZAMBIAZI, 2010).

Os constituintes inorgânicos da cana-de-açúcar ocorrem na forma de íons, sais e fazendo parte de complexos moleculares orgânicos ou como compostos insolúveis. Os principais cátions presentes são o K, elemento que aparece em maior quantidade (60% das cinzas presentes no caldo), Ca, Fe, Al, Na, Mg, Mn, Cu, Zn e B. Entre os ânions presentes na cana destacam-se os fosfatos, cloretos, sulfatos, nitratos, silicatos e oxalatos (CHEN & CHOU, 1993).

Para obter açúcares com uma melhor qualidade, é necessário que a variedade de cana utilizada forneça um caldo com baixo teor de cinzas, pois altos teores de cinzas estão associados à altos teores de potássio, o qual confere um sabor desagradável ao açúcar, além de dificultar a cristalização (BETTANI et al., 2014).

### **2.5.3 Umidade**

A água é um dos principais componentes dos alimentos, a qual se encontra presente sob diferentes graus de ligações com os componentes alimentares. A água total a ser removida do alimento pode estar livre nos tecidos, retida fisicamente por determinados componentes (carboidratos e proteínas) e ligada em diferentes graus de interações com os componentes alimentares (ZAMBIAZI, 2010).

O alto teor de umidade em alguns alimentos está relacionado com maiores riscos para a saúde do consumidor, por criar ambiente propício para a proliferação de microrganismos (INMETRO, s.d.). Os açúcares de alta polaridade (alta pureza), dada a sua baixíssima atividade de água, são classificados como produtos estáveis microbiologicamente. No entanto, nos açúcares de baixa polarização (baixa pureza), como os demerara e principalmente os mascavos, a alta umidade aliada à alta concentração de nutrientes tornam o produto mais susceptível à contaminação microbiana (BETTANI et al., 2014).

#### 2.5.4 Coloração

A cor é um parâmetro importante que é percebido no primeiro contato do consumidor com o produto, e além disso, a cor pode fornecer informações sobre o processamento do produto. De acordo com LOPES & BORGES (2004), durante a fabricação do açúcar mascavo formam-se muitos componentes coloridos, como as melanoidinas, que conferem uma cor amarelada ao produto. Em açúcares industriais, se a temperatura de cozimento for muito alta ou o tempo de cozimento muito longo, podem ser formados compostos denominados caramelos, os quais conferem uma cor mais escura. Os caramelos escurecem o açúcar (açúcar preto), porém também lhe conferem um sabor especial de açúcar queimado, que pode agradar alguns consumidores.

A cor dos açúcares e derivados, em geral depende da quantidade de compostos responsáveis pela coloração escura que são produzidos durante a extração e o aquecimento do caldo de cana, que podem ser derivados de: i) oxidação de compostos fenólicos; ii) caramelização de sacarose, glicose e frutose; iii) reação de Maillard; e iv) decomposição alcalina de sacarose (CHEN, 1991 apud GUERRA & MUJICA, 2010).

Na indústria de Alimentos, a colorimetria é uma das técnicas empregadas para medição de cor, medindo os três componentes primários da luz (vermelho, verde e azul), fornecendo a quantidade de cada um desses componentes presentes na luz refletida (matérias sólidas) ou transmitida (matérias transparentes). Para açúcares produzidos em escala industrial, no Brasil foi definido o Regulamento Técnico do açúcar, onde a cor é determinada conforme o método da ICUMSA (Comissão Internacional para Métodos Uniformes de Análise de Açúcar, do inglês *International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis*), onde a cor de uma solução de açúcar em concentrações e pH definidos, cuja absorvância é medida em 420 nm, expressa em unidades ICUMSA (UI) (MAPA, 2018). O método ICUMSA verifica se a coloração do produto está de acordo com a classificação utilizada pelo fabricante no rótulo do produto. Quanto mais baixo esse índice, mais claro, ou mais branco é o açúcar; e a medida que esse índice aumenta, o açúcar vai adquirindo uma coloração mais escura, conforme a Tabela 6, o açúcar mais claro é o açúcar refinado granulado com 60 UI máx. e o açúcar demerara, o

mais escuro com 5000 UI máx. (BETTANI et al. 2014). Por este regulamento, os açúcares do grupo I (que são destinados à alimentação humana), são classificados em branco e bruto segundo parâmetros de qualidade específicos (Tabela 6). Os açúcares classificados como brancos são o cristal, refinado amorfo ou simplesmente refinado, refinado granulado e o açúcar de confeito. Os açúcares classificados como brutos incluem o demerara; os tipos para exportação: o VHP (açúcar de alta polarização, do inglês *Very High Polarization*), que inclui o açúcar bruto cuja polarização é maior que 99,0 °Z (noventa e nove graus Zucker); e o VVHP (do inglês *Very Very High Polarization*), que inclui o açúcar bruto cuja polarização é maior que 99,49 °Z (MAPA, 2018). Por este regulamento não são incluídos os produtos artesanais da cana-de-açúcar (açúcar mascavo, rapadura e melado).

**Tabela 6.** Parâmetros de qualidade do açúcar destinado à alimentação.

Classes	Tipos	Parâmetros			
		Polarização (°Z mín.)	Umidade (% máx.)	Cor ICUMSA (UI máx.)	Cinzas condutimétricas (% máx.)
	Cristal	99,5	0,10	400	0,10
	Refinado amorfo ou refinado	99,00	0,30	100	0,20
Branco	Refinado granulado	99,80	0,05	60	0,04
	Confeito	99,00	0,30	150	0,20
	Demerara	96,00	1,20	5.000	0,50
Bruto	VHP*	99,00	0,25	2.500	0,25
	VVHP**	99,49	0,15	1.000	0,15

Fonte: Anexo I do Regulamento Técnico do açúcar- MAPA, 2018.

### 2.5.5 Açúcares totais, redutores e sólidos solúveis totais (° Brix)

Os açúcares totais correspondem à somatória dos açúcares redutores e não redutores. Os monossacarídeos glicose e frutose são açúcares redutores por possuírem grupo carbonílico e cetônicos livres, capazes de se oxidarem na presença de agentes oxidantes em soluções alcalinas (LOPES & BORGES, 2004). Os açúcares redutores (AR) podem ser originários da própria cana, que

quando não madura, possui teores superiores a 1%, ou também podem ser originários da inversão da sacarose durante o processo de fabricação. Como consequência do processamento de caldos em altas temperaturas, altos valores de AR podem ser evitados utilizando-se a cana madura, fresca e principalmente pela aplicação da cal, promovendo a neutralização do caldo. O alto teor de AR é um problema na fabricação de açúcares, pois dificulta a obtenção do ponto final de cozimento para cristalização da sacarose, resultando em um produto com aparência úmida e com tendência para melar ou empedrar, ou ainda pode causar a perda deste ponto, levando o produtor a grandes prejuízos (GENEROSO et al., 2009).

Os açúcares não redutores (ANR) são os dissacarídeos e os oligossacarídeos que não possuem aldeídos ou cetonas livres em soluções aquosas. Ocorrem quando a ligação glicosídica envolver o grupo hemiacetal dos dois açúcares, o açúcar é considerado não redutor, o que ocorre por exemplo com a sacarose. O oligossacarídeo mais comum é sem dúvida a sacarose (presente na cana de açúcar, beterraba e todos vegetais em que ocorre a fotossíntese), tanto pela frequência em que é encontrada nos alimentos quanto pela sua importância na alimentação humana. A sacarose (formada por uma unidade de glicose e outra de frutose) pode ser facilmente hidrolisável em meio ácido ou pela presença de enzimas, o que é comumente conhecido como inversão da sacarose, produzindo o açúcar invertido (ZAMBIAZI, 2010).

Os açúcares redutores reagem com os íons cúpricos da solução de Fehling, reduzindo-se a íons cuprosos, sob a ação do calor em meio alcalino. Ao reagir com os íons cúpricos, os açúcares sofrem oxidação, enquanto que o cobre é reduzido, formando-se um precipitado vermelho de óxido cuproso. Os açúcares não redutores devem sofrer uma prévia hidrólise com ácido clorídrico dissociando o dissacarídeo em seus monossacarídeos (MAPA, s. d.).

A medida de graus brix consiste na determinação de todos os sólidos solúveis presentes na amostra, baseado na medida do índice de refração da amostra, e é uma indicação aproximada do total de açúcares de uma amostra (ZAMBIAZI, 2010).

### 2.5.6 Determinação dos mono e dissacarídeos presentes nos açúcares

Os monossacarídeos e os dissacarídeos são determinados em amostras de açúcares, rapadura e melado, geralmente, por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de índice de refração (HPLC-RID) (ASIKIN et al., 2014; COLLINS, 2017).

A Cromatografia líquida de alta eficiência é seletiva em relação aos diferentes monossacarídeos (glicose e frutose) e dissacarídeos (sacarose), que são quantificados simultaneamente em uma única análise cromatográfica. As colunas utilizadas para a separação de carboidratos possuem a fase estacionária de poliaminas com grupos polares, os quais, interagem através de ligações de hidrogênio com os grupos hidroxilas dos carboidratos, sendo a ordem de eluição: frutose, glicose e por último a sacarose. O tipo de detector utilizado, detector de índice de refração (RID), mede a diferença entre o índice de refração dos diferentes compostos (açúcares) presentes na solução e que são eluídos da coluna cromatográfica. Portanto, a variação do índice de refração indica a passagem de analito pelo detector. Essa diferença em relação ao valor de índice de refração da fase móvel é detectada. Para isso, o IR do componente analisado deve ser diferente do IR da fase móvel, a qual deve ser isocrática durante a análise. A temperatura precisa ser controlada, pois o IR também varia com a temperatura (ARGENTON, 2010).

ASIKIN et al. (2014), ao avaliarem a composição de glicose, frutose e sacarose em açúcares mascavos, utilizaram como fase estacionária colunas Shodex SUGAR KS-801 e KS-802 (300 x 8.0 mm de diâmetro interno e 6 µm de tamanho de partícula). A fase móvel foi em modo isocrático: água destilada em fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup> e temperatura constante do forno de 60 °C e HPLC-IR.

LEE et al. (2018), ao avaliarem a composição de carboidratos em açúcares comerciais da Coréia do Sul, utilizaram como fase estacionária coluna Sugar-Pak I (300 x 6.5mm x 10 µm), onde a coluna foi mantida em temperatura de 90 °C, e a fase móvel 0.01M de Ca-EDTA (50 mg/L em água destilada) em fluxo de 0,5 mL min<sup>-1</sup> e HPLC-IR.

## **2.6 Compostos bioativos em produtos da cana-de-açúcar**

Os compostos bioativos estão presentes naturalmente em pequenas quantidades nos alimentos e, quando ingeridos em quantidades significativas, exercem efeitos benéficos à saúde humana. Por existirem na natureza em grande número, com ampla variação em estrutura química, são divididos em diversas classes, sendo os compostos fenólicos (polifenóis), carotenoides e glicosinolatos os três principais grandes grupos (CARNAUBA, 2019).

### **2.6.1 Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução. Além disso, se formam em condições de estresse das plantas como infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros, atuando na defesa da planta (NACZK & SHAHIDI, 2004).

Mais de 8000 compostos fenólicos, também denominados polifenóis, já foram identificados em várias espécies de plantas. Todos os polifenóis presentes nas plantas têm uma origem comum, isto é, todos derivam da fenilalanina, ou do seu precursor, o ácido chiquímico. Os polifenóis ocorrem principalmente na sua forma conjugada, com um ou mais açúcares ligados a grupos hidroxilas (MANACH et al., 2004; FRASER & CHAPPLE, 2011).

As principais classes de polifenóis são os ácidos fenólicos, os flavonoides, os estilbenos e as ligninas. Além destes, podem também estar presentes nas plantas polifenóis de estrutura mais complexa, onde se incluem os taninos hidrolisáveis e condensáveis (MANACH et al., 2004).

Os compostos fenólicos na cana-de-açúcar são de interesse para os tecnologistas de açúcar, pois também são responsáveis pela cor nos produtos da cana; portanto, na produção de açúcar refinado os compostos fenólicos precisam ser removidos totalmente, sendo este um critério de qualidade. Uma grande variedade de pigmentos vegetais e corantes naturais foram identificados nas folhas e no suco da cana-de-açúcar (PATON & DUONG, 1992; JAFFÉ, 2015). A própria planta de cana fornece pigmentos vegetais majoritariamente de baixo peso molecular (flavonóides, clorofilas, carotenos,

xantofilas e compostos fenólicos), os quais contribuem com aproximadamente 30% da cor do açúcar bruto. Os demais compostos incluem os corantes de alto peso molecular, onde muitos consistem em produtos de transformações químicas durante o processamento de açúcar (JAFFÉ, 2015).

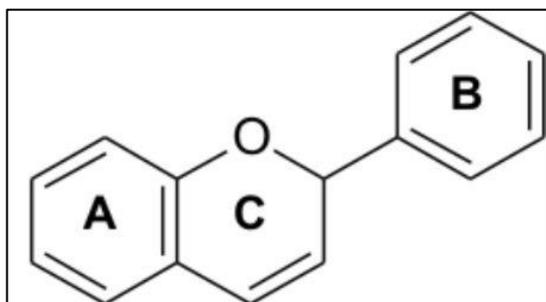
A atividade antioxidante dos produtos da cana vem sendo correlacionada com o conteúdo de compostos fenólicos medido pelo teste de Folin-Ciocalteu (DUARTE-ALMEIDA et al., 2011; LEE et al., 2018). O escurecimento enzimático, devido à ação da polifenol oxidase, ação de glicosidases e por reações de Maillard, também desempenham importante papel na geração de cor nos produtos da cana. O escurecimento não enzimático via reação de Maillard, o qual envolve o complexo formado entre os aminoácidos e açúcares redutores, podem ocorrer durante a industrialização e durante a estocagem do açúcar e tem efeitos críticos nas propriedades do alimento incluindo valor nutricional, cor, textura e componentes de sabor (ASIKIN et al., 2014; JAFFÉ, 2015).

Polifenóis são espécies altamente instáveis que passam por inúmeras reações no processamento e armazenamento de alimentos, principalmente devido a oxidação enzimática. A presença destes compostos em açúcares, melado e rapaduras, provavelmente se deve à inativação de enzimas pelo tratamento térmico utilizado na fabricação destes produtos. O conteúdo de compostos fenólicos em açúcares é bem variável, pois depende de vários fatores, como das condições agrônômicas e de processamento. No trabalho de LEE e colaboradores (2018), o conteúdo de compostos fenólicos foi de 0,39 - 321,24 µg de equivalentes de ácido gálico/ mg de açúcar, em diferentes açúcares comercializados na Coreia do Sul.

### **2.6.2 Flavonoides**

Os flavonoides são compostos largamente distribuídos no reino vegetal, sendo encontrados em em frutas, folhas, sementes e em outras partes da planta, na forma de glicosídios (ligados a carboidratos ou proteínas) ou de agliconas. São compostos de baixo peso molecular consistindo em 15 átomos de carbono, organizados na configuração C6–C3–C6 (ANGELO & JORGE, 2007). A estrutura química dos flavonoides consiste em dois anéis aromáticos,

denominados anel A e B, que unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico, denominado anel C (Figura 5).



**Figura 5.** Estrutura química genérica dos flavonoides.

Fonte: ANGELO & JORGE (2007).

Os flavonoides constituem o maior grupo de compostos fenólicos presentes em plantas, e são classificados de acordo com as substituições na estrutura do anel carbônico, dando origem a sete classes principais: flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis, flavanas, isoflavonas e antocianidinas (MARTINS et al., 2011).

No caldo de cana e nos seus produtos, os principais flavonoides encontrados foram a apigenina, tricina, luteolina e flavonas principalmente C-glicosiladas (COLOMBO et al., 2008; DUARTE-ALMEIDA, 2007).

No trabalho de LEE e colaboradores (2018), o conteúdo de flavonoides encontrado foi de 4,11-72,69 µg de equivalentes de quercetina/ mg de açúcar, em diferentes açúcares comercializados na Coréia do Sul.

### 2.6.3 Carotenoides

Os carotenoides pertencem a uma classe de pigmentos naturais e lipossolúveis, responsáveis por colorações que variam entre amarelo, laranja e vermelho, em diversas frutas e vegetais. Os carotenoides são conhecidos por serem precursores de vitamina A (retinol), sendo que essa atividade pró-vitamina A ocorre naturalmente no fígado dos humanos, e apresentam importante papel como agentes antioxidantes (MALDONADO-ROBLEDO et al., 2003; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). A vitamina A é essencial para a

diferenciação celular, visão, desenvolvimento ósseo, reprodução e integração do sistema imunológico (LAYRISSE, 2000). Os carotenoides são classificados em dois grupos. Os que são compostos apenas de carbono e hidrogênio são denominados carotenos ou carotenoides hidrocarbonos; neste grupo encontram-se o  $\beta$ -caroteno e o licopeno (RODRIGUEZ-AMAYA; 1999). O outro grupo de carotenoides é o das xantofilas, que são derivados oxigenados dos carotenos que contém pelo menos uma função hidróxi, ceto, epóxi, metóxi ou ácido carboxílico. Neste grupo estão inclusos a luteína, zeaxantina e astaxantina (RODRIGUEZ-AMAYA; 1999).

O conteúdo de carotenoides na cana e nos seus produtos pode ser variável, uma vez que a temperatura, bem como outros fatores como luz e oxigênio, podem ocasionar transformações e/ou degradações destes compostos.

#### **2.6.4 Métodos espectrofotométricos de determinação de compostos bioativos e atividade antioxidante (DPPH e ABTS)**

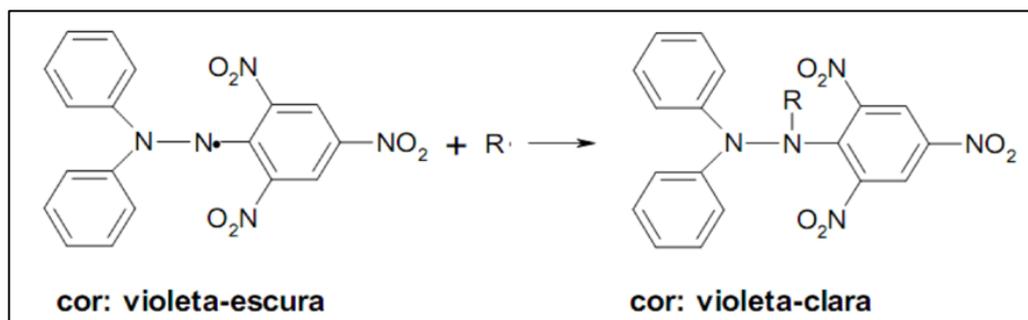
É bem conhecido que o processo oxidativo é iniciado pelo ataque aos radicais livres, bem como que a eliminação desses radicais é um importante mecanismo para evitar a oxidação. Portanto, normalmente usa-se o artifício de analisar a capacidade ou atividade que diferentes compostos possuem para inibir a oxidação, através da eliminação dos radicais presentes. Os radicais mais usados com essa finalidade são o DPPH e o ABTS (BUENO-COSTA., 2016; CANADANOVIC-BRUNET et al., 2014).

A espectrofotometria é uma das técnicas analíticas mais simples para quantificar o teor de polifenóis. O método de Folin-Ciocalteu (F-C) é reconhecido pela sua simplicidade, rapidez e baixo custo, e é comumente empregado para a determinação do teor de polifenóis nos frutos (ANGELO & JORGE, 2007; KHODDAMI et al., 2013). O método baseia-se na oxidação dos polifenóis e na consequente redução do reagente F-C (mistura de fosfomolibdato e fosfotungstato), resultando a formação de um complexo de cor azul, que é proporcional à concentração de polifenóis presentes na amostra. A reação entre os polifenóis e o reagente F-C ocorre em um pH alcalino. Nestas condições, ocorre a desprotonação dos grupos hidroxila da molécula dos

polifenóis e a consequente liberação de elétrons que, por sua vez, levam à redução do reagente F-C. A cor azul formada tem um máximo de absorção a 760 nm (SINGLETON et al., 1999). A grande desvantagem deste método é o elevado número de interferentes (o ácido ascórbico é um dos principais). Algumas modificações têm sido propostas para aumentar a seletividade do método, contudo, o método original continua a ser o mais utilizado nos trabalhos publicados nesta área (ANGELO & JORGE, 2007; PINTO, 2016).

Vários métodos espectrofotométricos foram também desenvolvidos para a determinação de algumas classes e grupos específicos de polifenóis. Para a determinação dos flavonoides, é utilizado um método baseado na formação do complexo alumínio-flavonoides. Neste método, uma solução de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ) é adicionada à amostra, dando-se a formação de um complexo com um máximo de absorbância entre 405 a 430 nm (PINTO, 2016).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*. A técnica da captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), inicialmente descrita por Brand-Williams em 1995, é baseada na reação química apresentada na Figura 6, que avalia essa captura do radical livre DPPH por antioxidantes, produzindo um decréscimo na absorbância a 517 nm e mudança da coloração violeta-escura do reagente DPPH (SANTOS et al., 2011).

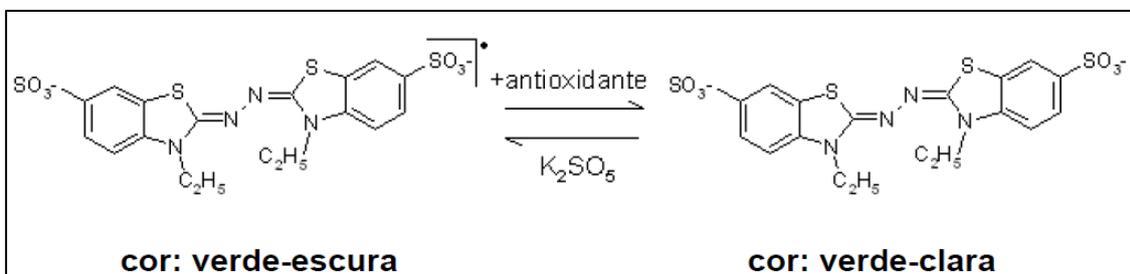


**Figura 6.** Reação de captura do DPPH.

Fonte: SANTOS et al. (2011).

Outro método muito utilizado para avaliar a atividade antioxidante é através da captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) ( $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ), que pode ser gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática. Com essa metodologia, pode-se medir a atividade

de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (BUENO-COSTA, 2016). A Figura 7 ilustra a reação que apresenta a estabilização do radical  $ABTS^{\bullet+}$  de coloração verde-escura, o qual reage com os componentes da amostra ocasionando uma descoloração da cor inicial (RUFINO et al., 2007).



**Figura 7.** Estabilização do radical ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.

Fonte: RUFINO et al. (2007).

### **3 CAPÍTULO 1 ATRIBUTOS FÍSICO-QUÍMICOS EM PRODUTOS DA CANA-DE-AÇÚCAR DA REGIÃO SUL DO BRASIL**

#### **3.1 Introdução**

O açúcar, sem outra designação específica, é a sacarose obtida da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) ou da beterraba (*Beta vulgaris*). De acordo com a tecnologia empregada, o açúcar é obtido em diferentes tipos e graus de pureza (IAL, 2008).

Segundo o Instituto Adolfo Lutz, as determinações físico-químicas mais usuais para açúcares e produtos correlatos compreendem o teor de sacarose, umidade, cor por ICUMSA, cinzas e, eventualmente, minerais e metais pesados e dióxido de enxofre. Também é incluso a determinação de glicídios redutores e não redutores.

No Brasil, o Regulamento Técnico do açúcar do MAPA apresenta valores de referência para os parâmetros dos açúcares produzidos em nível industrial, destinados à alimentação humana, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade (MAPA, 2018). No entanto, neste documento não são inclusos os produtos artesanais como melado, rapadura e o açúcar mascavo. Valores de referência para alguns parâmetros físico-químicos para os produtos artesanais e açúcares comerciais são apresentados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), como cinzas, umidade e nutrientes, os quais constituem médias das principais marcas comercializadas no país (TACO, 2011).

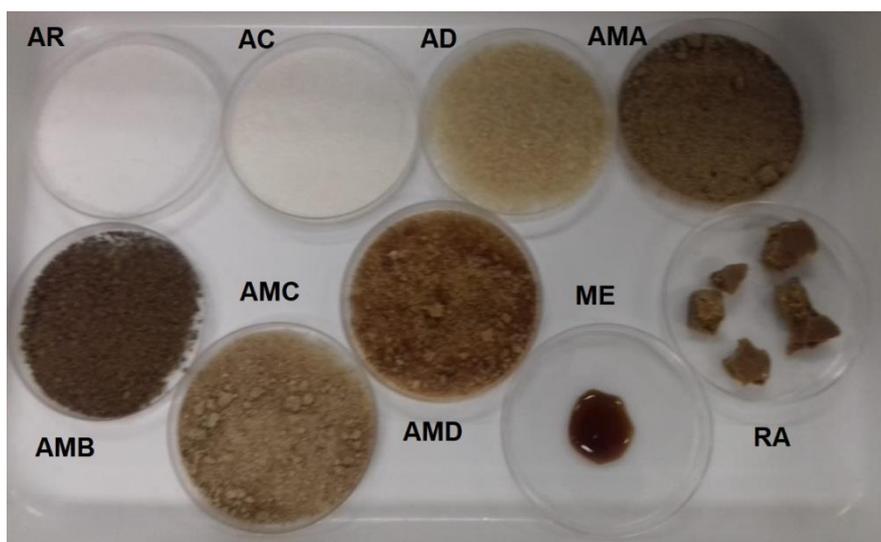
O objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros físico-químicos: pH, umidade, cinzas, cor (parâmetros L, a e b) e ICUMSA, sólidos solúveis totais, açúcares totais e redutores, e os mono e dissacarídeos (glicose, frutose e sacarose), em produtos da cana-de-açúcar provenientes da região Sul do Brasil (Paraná e Rio Grande do Sul).

#### **3.2 Materiais e métodos**

##### **3.2.1 Amostras**

As amostras utilizadas neste trabalho foram adquiridas em um estabelecimento comercial situado na cidade de Pelotas/RS. Estas amostras, em pacotes de 1 kg cada, são oriundas de Paraná e do Rio Grande do Sul, e para fins de comparação foi utilizada uma amostra de São Paulo. As amostras foram designadas pelas seguintes siglas: açúcar refinado (AR), açúcar cristal (AC) e açúcar demerara (AD), todas de mesma marca e oriundas do Paraná; melado (ME), rapadura (RA) e açúcar mascavo (AMA) todas de mesma marca e oriundas do Rio Grande do Sul; e outras três marcas de açúcar mascavo oriundas de São Paulo (AMB), e do Rio Grande do Sul (AMC e AMD), apresentadas na Figura 8. Dentre os produtos, apenas os açúcares AMB e AMC são orgânicos e todos os demais são produtos convencionais.

Todas as amostras foram armazenadas em local seco e ventilado, com desumidificador de ar, em temperatura ambiente e em frascos de polipropileno (PP) previamente limpos e descontaminados, até o momento das análises.



**Figura 8.** Amostras de produtos da cana-de-açúcar avaliados.

AR = açúcar refinado; AC = açúcar cristal; AD: açúcar demerara; AMA, AMB, AMC e AMD: açúcares mascavos marcas A, B, C e D; RA: rapadura e ME: melado.

Fonte: o autor

### 3.2.2 Instrumentação

Para a determinação de umidade foi utilizada uma estufa de esterilização e secagem, a 105 °C, (Odontobrás, Brasil, modelo EL 1.2), e um

dessecador de sílica-gel. Para todos os procedimentos de pesagem foi utilizada uma balança analítica com precisão de 0,1 mg e tara máxima de 210 g (Ohaus Adventurer, Modelo AR 2140, Pine Brook, NJ, E.U.A).

O teor de cinzas presente nas amostras foi avaliado utilizando forno tipo mufla da marca Marconi, modelo MA 385/3. O pH das soluções aquosas dos produtos 10% (m/v) foi avaliado em medidor de pH MS Tecnopon, previamente calibrado com as soluções tampões 4 e 7. Para as determinações da cor foi utilizado colorímetro digital CR-300 marca MINOLTA e espectrofotômetro (mono feixe) para trabalhos na faixa visível (325-1000 nm) marca Biospectro SP-22. Para a determinação dos compostos que compõem os açúcares das amostras foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) Shimadzu, equipado com uma bomba quaternária, desgaseificador, injetor automático, coluna Luna NH<sub>2</sub> modelo 100A - 250 mm x 4 mm x 5 µm - Phenomenex – USA, forno de coluna e detector de índice de refração (RID-Shimadzu).

### **3.2.3 Parâmetros físico-químicos**

Os parâmetros físico-químicos avaliados, em triplicata, para as amostras de açúcares, rapadura e melado são descritos na sequência.

#### **3.2.3.1 pH**

O pH foi avaliado pelo método potenciométrico. Para as medidas de pH foram preparadas soluções 10% m/v de cada amostra em água deionizada e posteriormente realizada a leitura em pHmetro devidamente calibrado (IAL, 2008; GUERRA & MUJICA, 2010).

#### **3.2.3.2 Teor de umidade**

A umidade foi avaliada pelo método de secagem à pressão atmosférica, onde as amostras foram diretamente secas em estufa a uma temperatura de 105 °C. O método serve, não somente para remover a água, mas também outros resíduos que possam ser volatilizados nessa condição (IAL, 2008). Além

disso, este parâmetro também é importante para avaliar a quantidade de amostra que será pesada nos procedimentos, que somente será levado em consideração os resultados de umidade acima de 10%, tomando como base a massa seca.

Para isso, 10 g de cada amostra foram pesadas, em triplicata, em béqueres de vidro previamente secos e pesados, e aquecidos a 105 °C durante 2 horas e, posteriormente, retiradas da estufa e colocadas em dessecador, até atingir a temperatura ambiente. Pesou-se novamente e repetiu-se o procedimento de secagem até que não houvesse mais variação na massa das amostras, com peso constante, conforme recomenda o método do IAL (2008). Os resultados foram expressos em %, calculados pela Eq. 1.

### **3.2.3.3 Teor de cinzas**

Após a análise da umidade, foi realizada a determinação de cinzas, onde 5 g de cada amostra foram pesados em cadinhos de porcelana, seguido da carbonização em bico de Bunsen para evitar a projeção da amostra no interior do forno. Após esfriar em dessecador até temperatura ambiente, as amostras foram pesadas. As operações de aquecimento (por cerca de 1 hora) e resfriamento, até peso constante. Os resultados foram expressos em %, calculados pela Eq. 1.

O teor de umidade e de cinzas foi calculado através da Equação 1, conforme descrito por Adolfo Lutz (IAL, 2008).

$$\text{Umidade ou cinzas (\%)} = (100 \times N) / P \quad \text{Equação 1}$$

Onde: N é o número de gramas de umidade ou cinzas (perda de massa em g) e P é a massa da amostra (em gramas).

### **3.2.3.4 Cor**

A cor das amostras foi avaliada através de dois métodos, sendo primeiramente pela leitura em um colorímetro (GUERRA & MUJICA, 2010). Os parâmetros obtidos usando colorímetro padrão CIELAB foram: luminosidade (L)

e as coordenadas cromáticas  $a^*$  e  $b^*$ , sendo:

$L = 0$  (escuro) e  $100$  (claro);

$a^* = +a$  (indica vermelho)  $-a$  (indica verde);

$b^* = +b$  (indica amarelo)  $-b$  (indica azul).

Posteriormente a cor foi avaliada também conforme o método ICUMSA (Comissão Internacional para Métodos Uniformes para Análise de Açúcar), onde a cor de uma solução de açúcar é determinada em concentrações e pH definidos, cuja absorvância é medida a 420 nm, e expressa em unidades ICUMSA (UI).

Neste método 1 g de amostra foi dissolvido em 100 mL de água deionizada e o pH foi ajustado a 7,0 com solução de NaOH 0,1 M. A mistura foi filtrada em papel filtro Advantec número 2 e a absorvância medida a 420 nm em espectrofotômetro (ASIKIN et al., 2014).

A cor das amostras foi calculada usando a Equação 2:

Unidade de cor ICUMSA ou UI = (absorvância x 1000) / (b x C) **Equação 2**

Onde b é o comprimento do caminho da célula usado (cm) e C é a concentração da solução de açúcar (g/mL).

### **3.2.3.5 Teor de Sólidos solúveis totais, açúcares totais e redutores**

A medida dos sólidos solúveis totais foi realizada através de refratômetro de bancada (modelo Palette Atago), as soluções foram preparadas na concentração 1:10 a 20° C e os resultados expressos em ° Brix.

O conteúdo de açúcares redutores e totais foram avaliados pelo Método Lane-Eynon, através da titulação das amostras na presença de soluções de Fehling A e B (ZAMBIAZI, 2010), sendo os resultados expressos em %.

### **3.2.3.6 Determinação de mono e dissacarídeos**

A determinação da composição de açúcares (sacarose, glicose e frutose) foi avaliada através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), acoplada ao detector de índice de refração (RID). Para o preparo das amostras

utilizou-se a metodologia descrita por (ASIKIN et al., 2014), com pequenas modificações. Para isto foi utilizado 0,3 g de amostra dissolvidas em 20 mL de água deionizada, após a solução foi centrifugada a 5000 rpm por 5 minutos. Posteriormente as amostras e os padrões dos respectivos açúcares foram injetados no sistema de HPLC-Shimadzu, e separados utilizando como fase móvel acetonitrila / água (70:30) a um fluxo de 0,8 mL.min<sup>-1</sup>, com tempo de análise de 20 minutos.

Foram preparadas curvas padrões para cada tipo de componente que compõe os açúcares, tendo o conteúdo expresso em g 100 g<sup>-1</sup>.

### **3.2.3.7 Análise estatística**

Os resultados das determinações físico-químicas foram expressas pela média ± desvio padrão (n=3), e os resultados foram avaliados por meio de análise estatística descritiva dos dados utilizando a análise de variância (ANOVA), teste de Tukey (p < 0,05) e teste- t (P<0,05) para duas variáveis.

## **3.3 Resultados e discussões**

### **3.3.1 Parâmetros físico-químicos de diferentes produtos da cana**

O conteúdo de umidade dos açúcares teve variação de 0,06 a 1,94%, tendo a amostra de açúcar mascavo (AMA) a maior umidade. Em geral os açúcares processados industriais (AR, AC e AD) são produtos relativamente estáveis em função da baixa umidade. No Regulamento técnico do açúcar do MAPA são apresentados valores referência de umidade (MAPA, 2018), os quais podem variar de 0,05 (açúcar refinado granulado) a 1,20% (açúcar demerara). Na Tabela 7 estão os dados dos parâmetros físico-químicos avaliados para os diferentes tipos de produtos da cana-de-açúcar.

**Tabela 7.** Resultados dos parâmetros físico-químicos dos produtos da cana-de-açúcar

<b>Parâmetros</b>	<b>Amostras</b>					
	<b>AR</b>	<b>AC</b>	<b>AD</b>	<b>AMA</b>	<b>RA</b>	<b>ME</b>
Umidade (%)	0,27 <sup>d</sup> ± 0,02	0,06 <sup>d</sup> ± 0,01	0,10 <sup>d</sup> ± 0,01	1,94 <sup>c</sup> ± 0,03	10,4 <sup>b</sup> ± 0,13	27,73 <sup>a</sup> ± 1,27
Cinzas (%)	0,006 <sup>e</sup> ± 0,01	0,014 <sup>e</sup> ± 0,01	0,06 <sup>d</sup> ± 0,01	0,46 <sup>b</sup> ± 0,01	0,35 <sup>c</sup> ± 0,02	0,55 <sup>a</sup> ± 0,01
pH	6,02 <sup>c</sup> ± 0,05	6,67 <sup>b</sup> ± 0,01	6,79 <sup>a</sup> ± 0,01	6,81 <sup>a</sup> ± 0,01	4,90 <sup>e</sup> ± 0,01	5,32 <sup>d</sup> ± 0,01
Cor						
L	97,87 <sup>a</sup> ± 0,7;	90,71 <sup>b</sup> ± 0,2;	66,73 <sup>c</sup> ± 0,9;	62,00 <sup>d</sup> ± 0,4;	42,65 <sup>e</sup> ± 0,2;	39,00 <sup>f</sup> ± 0,3;
a	0,22 <sup>e</sup> ± 0,02;	0,09 <sup>e</sup> ± 0,01;	2,07 <sup>d</sup> ± 0,1;	4,80 <sup>c</sup> ± 0,2;	6,60 <sup>b</sup> ± 0,1;	7,53 <sup>a</sup> ± 0,2;
b	1,66 <sup>e</sup> ± 0,2	3,97 <sup>d</sup> ± 0,1	18,63 <sup>b</sup> ± 0,3	19,8 <sup>a</sup> ± 0,2	13,38 <sup>c</sup> ± 0,1	3,83 <sup>d</sup> ± 0,1
Cor (ICUMSA UI)	199 <sup>e</sup> ± 1,58	474 <sup>e</sup> ± 19,53	3123 <sup>d</sup> ± 383	21342 <sup>b</sup> ± 1281	13959 <sup>c</sup> ± 1494	24482 <sup>a</sup> ± 291
SST (° Brix)*	91 <sup>b</sup> ± 0,21	92 <sup>a</sup> ± 0,42	91 <sup>b</sup> ± 0,07	91 <sup>b</sup> ± 0,14	85 <sup>c</sup> ± 0,21	72 <sup>d</sup> ± 0,07
Açúcares totais*	79,70 <sup>b</sup> ± 1,35	78,40 <sup>b</sup> ± 0,90	84,20 <sup>a</sup> ± 1,22	71,00 <sup>c</sup> ± 1,49	65,14 <sup>d</sup> ± 0,26	50,51 <sup>e</sup> ± 0,58
Açúcares Redutores*	-	-	-	1,65 <sup>c</sup> ± 0,02	11,97 <sup>b</sup> ± 1,37	25,61 <sup>a</sup> ± 2,12

(Média ± Desvio padrão%); n=3; SST (sólidos solúveis totais) expressos em ° Brix; umidade, cinzas e açúcares expressos em %; cor (ICUMSA) expressos em unidades ICUMSA (UI). AR = açúcar refinado; AC = açúcar cristal; AD: açúcar demerara; AMA: açúcar mascavo marca A; RA: rapadura e ME: melado. As médias foram comparadas por ANOVA, usando o teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente.

As amostras de rapadura (RA) e de melado (ME) apresentaram teores de umidade acima de 10%, e estes valores foram levados em consideração na massa a ser pesada nos experimentos para considerar em base seca. A umidade das amostras de melados e rapaduras produzidas no Brasil é em média de 22,1 e 7,1%, respectivamente (TACO, 2011). Em trabalho de LOPES e colaboradores (2019), a umidade de méis de engenho comercializados na Paraíba variaram de 22,41 a 24,48%; no presente estudo o valor de umidade do melado foi de 27,73%, e para a rapadura o valor foi de 10,4% (Tabela 7). GUERRA & MUJICA (2010), ao analisarem rapaduras (termo “panelas” na Venezuela) artesanais e produzidas em laboratório, encontraram teores de umidade entre 1,66 e 4,36 g 100 g<sup>-1</sup>, valores superiores a 1,1% da TACO.

O açúcar mascavo apresentou umidade inferior (1,94%) ao apresentado pela TACO, cuja média é de 3,3%. GENEROSO e colaboradores (2009), ao analisarem 31 marcas de açúcares mascavo brasileiros, encontraram teores de umidade que variaram entre 2,13 a 6,02%. VERRUMA e colaboradores (2007), analisando 9 marcas comerciais de açúcar mascavo, obtiveram teores de umidade entre 1,35 a 4,44%.

A umidade das amostras normalmente está diretamente relacionado ao teor de água livre, altos teores de umidade em açúcares podem causar problemas como empedramento, dissolução de cristais (o açúcar apresentar-se melado), inversão da sacarose (desdobramento em glicose e fructose) e crescimento de microrganismos, implicando assim em baixo período de validade do produto.

As cinzas indicam o teor de minerais fixos, sendo que os maiores teores de cinzas corresponderam aos produtos menos processados, na ordem crescente: rapadura, açúcar mascavo e melado. De acordo com LOPES & BORGES (2004), para uma melhor qualidade do açúcar é importante que a variedade de cana utilizada forneça um caldo com baixo teor de cinzas; os mesmos autores propoem que este valor não exceda 2,2%. Em trabalho de GENEROSO e colaboradores (2009), os açúcares mascavos apresentaram teor de cinzas entre 1,15 a 3,45%. No presente estudo o teor de cinzas foi inferior a 0,46% para os açúcares, sendo o valor médio da TACO de 1,4%. A TACO apresenta como referência 1,1 e 1,3% de cinzas para rapadura e

melado, respectivamente. No presente estudo estes valores não excederam a referência (0,35 e 0,55%, respectivamente para rapadura e melado). Em trabalho de GUERRA & MUJICA (2010), na análise de rapaduras, este parâmetro físico-químico ficou na faixa de 1,15 a 2,63 g 100 g<sup>-1</sup>.

Os valores de pH mais próximos da neutralidade são devido ao emprego de produtos químicos, como a cal que é empregada na clarificação do caldo (JAFFÉ, 2015). Nos açúcares analisados neste estudo, o pH variou entre 6,02 a 6,81. Em meio ácido, a sacarose passa pela reação de inversão, resultando em aumento do conteúdo de açúcares redutores: glicose e frutose. A inversão ocorre em condições ácidas, no pH menor que 7,0 (CHEN & CHOU, 1993). Para minimizar as perdas de sacarose, por inversão ácida, bem como por degradação alcalina, as condições de trabalho durante o processamento do caldo de cana-de-açúcar são monitoradas, de maneira que o pH permaneça o maior tempo possível próximo da neutralidade (pH 7,0) (ANDRADE, 1998).

A cor dos açúcares, rapadura e melado, em geral, depende da quantidade de compostos responsáveis pela formação de pigmentos de coloração escura, como as melanoidinas que são produzidos durante a extração e o aquecimento do caldo de cana durante o processamento (GENEROSO et al., 2009). Os pigmentos presentes nos açúcares são produzidos pela oxidação de compostos fenólicos, caramelização de açúcares redutores e não redutores, pela reação de Maillard e pela decomposição alcalina da sacarose (FOGLIANO et al., 2009).

Ao avaliar os parâmetros de cor, observou-se que o parâmetro L apresentou valores mais próximos de 100 na escala (claro), para os açúcares refinado e cristal; e valores menores foram obtidos para os produtos mais escuros como da rapadura e melado. A coordenada cromática “a” na faixa de 0,09 a 7,53, respectivamente para o açúcar cristal e melado; e a coordenada “b” na faixa de 1,66 para o açúcar refinado e 1,98 para Açúcar mascavo A.

A mesma tendência da cor observada para o parâmetro L nos produtos foi observada para a avaliação da cor em unidades ICUMSA.

ASIKIN et al. (2014) ao avaliarem a cor do açúcar mascavo armazenado durante 12 meses, observaram que a cor no armazenamento inicial (mês 0) era 18119 UI, e este parâmetro aumentou significativamente a uma taxa média de 12,5% para cada estágio de armazenamento para 28875 UI na amostra

armazenada de 12 meses ( $p < 0,01$ ). Os autores comentam que a cor marrom neste açúcar pode ser o resultado da não remoção de mel durante sua produção, em que os pigmentos fenólicos e flavonóides podem ser retidos no açúcar mascavo. Além disso, a reação de escurecimento não enzimático (reação de Maillard) também pode ocorrer durante ou após o processo de esmagamento do colmo da cana (ASIKIN et al., 2014; SEGUÍ et al., 2015).

Observou-se nos produtos analisados no presente estudo que a coloração está de acordo com o grau de purificação dos açúcares, sendo os açúcares brancos (refinado e cristal, com UI 199 e 474, respectivamente), seguido do açúcar demerara (UI 3123). Estes valores são próximos aos definidos no Regulamento Técnico do Açúcar, sendo 100 UI Máx. para os açúcares refinado amorfo, 400 UI Máx. para o cristal e até 5000 UI para o demerara. As pequenas diferenças podem ser em função do tempo de armazenamento das amostras no laboratório e também durante a produção até a comercialização.

Nas amostras avaliadas, o teor de sólidos solúveis totais variou de 72-92° Brix, açúcares totais de 50,51% para o melado a 84,20 para o açúcar demerara e açúcares redutores de 1,65 a 25,61%. No processamento dos açúcares, a medida dos açúcares redutores é importante, pois quanto maior a porcentagem de açúcares redutores maior é a tendência do açúcar em melar, empedrar e não cristalizar.

### **3.3.2 Parâmetros físico-químicos de diferentes tipos de açúcar mascavo**

Na Tabela 8 estão os dados de parâmetros físico-químicos para as diferentes marcas de açúcar mascavo, oriundas do estado de São Paulo (AMB) e do Rio Grande do Sul (AMA, AMC e AMD).

**Tabela 8.** Dados de parâmetros físico-químicos dos açúcares mascavos oriundos de SP e RS.

<b>Amostras de mascavo</b>	<b>AMA</b>	<b>AMB</b>	<b>AMC</b>	<b>AMD</b>
Tipo/origem	Convencional/ RS	Orgânico/ SP	Orgânico/ RS	Convencional/ RS
Umidade (%)	1,94 <sup>b</sup> ± 0,03	2,96 <sup>a</sup> ± 0,03	1,70 <sup>c</sup> ± 0,01	1,53 <sup>d</sup> ± 0,03
Cinzas (%)	0,46 <sup>b</sup> ± 0,01	0,99 <sup>a</sup> ± 0,08	0,28 <sup>c</sup> ± 0,03	0,08 <sup>d</sup> ± 0,01
pH	6,81 <sup>a</sup> ± 0,01	5,57 <sup>c</sup> ± 0,03	5,97 <sup>b</sup> ± 0,01	4,87 <sup>d</sup> ± 0,06
Cor (UI)	21342 <sup>b</sup> ± 1281	67217 <sup>a</sup> ± 478	17513 <sup>c</sup> ± 186	22429 <sup>b</sup> ± 173
Cor (L)	62,00 <sup>a</sup> ± 0,4;	49,49 <sup>c</sup> ± 0,4;	63,89 <sup>a</sup> ± 0,9;	53,94 <sup>b</sup> ± 1,1;
a	4,80 <sup>c</sup> ± 0,2;	7,70 <sup>b</sup> ± 0,07;	4,51 <sup>c</sup> ± 0,11;	9,44 <sup>a</sup> ± 0,1;
b	19,8 <sup>a</sup> ± 0,2	17,09 <sup>b</sup> ± 0,4	17,51 <sup>b</sup> ± 0,04	19,83 <sup>a</sup> ± 1,1

(Média ± Desvio padrão); n=3.

AMA, AMB, AMC e AMD: açúcares mascavos marcas A, B, C e D.

As médias foram comparadas por ANOVA, usando o teste de Tukey ao nível de significância de 5 %. Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente.

O teor de umidade das amostras de açúcares variou de 1,53% para a amostra convencional do Rio Grande do Sul (AMD) a 2,96% para amostra de açúcar mascavo orgânica oriunda de São Paulo (AMB) que apresentou o maior teor de umidade. A mesma tendência foi observada para o conteúdo de cinzas, onde a amostra oriunda do RS (AMD) apresentou 0,08% e o maior teor de cinzas para a amostra oriunda de São Paulo (AMB), indicando um maior teor de minerais fixos.

O valor do pH das amostras de açúcares apresentou variação significativa, ficando na faixa de 4,97-6,81. A cor das amostras seguiu a seguinte ordem crescente de intensidade: AMC<AMA<AMD<AMB, tendo a amostra AMB de cor mais intensa. A mesma sequência foi observada para o parâmetro L, confirmando o açúcar mascavo oriundo de SP (AMB), como a amostra de coloração mais escura e o açúcar mascavo orgânico oriundo do RS (AMC) como o mais claro. A coordenada cromática “a” na faixa de 4,51 a 9,44, respectivamente para AMC e AMD; e a coordenada “b” na faixa de 17,09 para AMB e 19,83 para AMD.

### **3.3.3 Composição em mono e dissacarídeos das amostras de açúcares, rapadura e melado**

Ao avaliar a concentração dos mono e dissacarídeos nas amostras, foi observado uma quantidade de 0,14-20,14% de frutose, 1,16-29,84% de glicose e de 29,47-98,85% de sacarose (Tabela 9), sendo que as amostras de açúcares refinado (AR), cristal (AC) e demerara (AD) apresentaram os maiores teores de sacarose (92,87; 98,85 e 94,50 g 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente). Em geral os teores de sacarose nas amostras foram próximos ou superiores a 90 g 100 g<sup>-1</sup>, enquanto que os açúcares mascavos apresentaram os menores valores. Os teores de sacarose não redutor no melado (ME) e na rapadura (RA) foram de 29,47 e 54,03 g 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente. O teor de açúcares redutores (glicose e frutose) foi baixo nos açúcares refinado (AR), cristal (AC) e demerara (AD), e proporcionalmente superiores no açúcar mascavo AMB, melado (ME) e rapadura (RA). Estes resultados são concordantes com os dados apresentados por Lee et al. (2018) ao avaliar açúcares comerciais refinados e não refinados na Coréia do Sul, os quais observaram que os produtos não refinados continham conteúdos significativamente superiores de açúcares redutores (3,30 g glicose 100 g<sup>-1</sup> e 2,56 g frutose 100 g<sup>-1</sup>) e conteúdo inferior de sacarose (88,46 g 100 g<sup>-1</sup>).

Na amostra de rapadura (RA) e de melado (ME) foi observado maiores concentrações de frutose e glicose (> 9,01 e > 18,12 g 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente). Salienta-se que para os açúcares em geral, a maior concentração de açúcares redutores causa higroscopicidade, o que afeta a textura e a estabilidade dos açúcares durante a estocagem (LEE et al., 2018).

**Tabela 9.** Conteúdo de mono e dissacarídeos nos produtos da cana-de-açúcar (n=3).

Amostras	Mono e dissacarídeos (g 100 g <sup>-1</sup> )		
	Frutose	Glicose	Sacarose
AR	0,28 <sup>gB</sup> ± 0,03	0,00 <sup>eB</sup> ± 0,00	92,87 <sup>bCA</sup> ± 0,43
AC	0,14 <sup>gB</sup> ± 0,01	0,00 <sup>eB</sup> ± 0,00	98,85 <sup>aA</sup> ± 0,84
AD	0,00 <sup>hB</sup> ± 0,00	0,08 <sup>eB</sup> ± 0,01	94,50 <sup>bA</sup> ± 0,89
AMA	1,86 <sup>fB</sup> ± 0,02	1,36 <sup>dC</sup> ± 0,1	89,44 <sup>dA</sup> ± 0,16
AMB	3,72 <sup>cB</sup> ± 0,02	1,92 <sup>cC</sup> ± 0,06	82,26 <sup>fA</sup> ± 1,49
AMC	2,26 <sup>eB</sup> ± 0,13	1,16 <sup>dC</sup> ± 0,12	90,64 <sup>cdA</sup> ± 0,52
AMD	2,70 <sup>dB</sup> ± 0,11	2,35 <sup>cB</sup> ± 0,17	86,65 <sup>eA</sup> ± 1,74
RA	9,01 <sup>bC</sup> ± 0,18	18,12 <sup>bB</sup> ± 0,54	54,03 <sup>gA</sup> ± 0,53
ME	20,14 <sup>aB</sup> ± 0,17	29,84 <sup>aA</sup> ± 0,23	29,47 <sup>hA</sup> ± 0,06

As médias foram comparadas por ANOVA, usando o teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e médias de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente.

AR = açúcar refinado; AC = açúcar cristal; AD: açúcar demerara; AMA, AMB, AMC e AMD: açúcares mascavos marcas A, B, C e D; RA: rapadura e ME: melado.

### 3.4 Conclusões

De acordo com os resultados obtidos observou-se variação nos parâmetros físico-químicos conforme a região de origem, tipo e em função do grau de processamento das amostras.

Em geral, as amostras de açúcares mascavo provenientes do Sul apresentaram menores valores de umidade e cinzas e cor mais clara que a amostra proveniente de São Paulo, em virtude de ser atualmente a região que reúne as condições mais adequadas ao desenvolvimento da cultura.

As amostras de rapadura, melado e açúcar mascavo (AMB) apresentaram maiores teores de açúcares redutores. A sacarose foi o açúcar majoritário em todas as amostras,. Em geral, os valores de cinzas e umidade foram concordantes com a TACO.

## 4 CAPÍTULO 2 - DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR EM PRODUTOS DA CANA-DE-AÇÚCAR POR MIP OES APÓS DECOMPOSIÇÃO ÁCIDA COM SISTEMA DE REFLUXO

### 4.1 Introdução

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L) é industrialmente utilizada para a produção de açúcar e álcool, sendo o Brasil o maior produtor mundial, com destaque para o estado de São Paulo (EMBRAPA, 2016; UNICA, 2020).

Comercialmente são disponíveis diversos tipos de açúcares, como o mascavo, demerara, cristal, refinado, dentre outros. Na Região Sul do Brasil, destaca-se o estado do Paraná como quinto maior produtor nacional de cana-de-açúcar e de açúcar, e no estado do Rio Grande do Sul, muitas cidades tem na produção de derivados artesanais como melado, rapadura e açúcar mascavo, os quais são de grande importância econômica e social (EMBRAPA, 2016; UNICA, 2020).

Os minerais essenciais presentes nos diferentes produtos da cana-de-açúcar podem ser oriundos da matéria prima ou incorporados durante o processo industrial, como por exemplo, o cálcio, que é um macronutriente secundário para a planta; no entanto, também está presente nos produtos químicos utilizados na clarificação do caldo. Atualmente diversos trabalhos vêm sendo realizados objetivando a determinação de minerais essenciais e não essenciais nos diferentes produtos da cana-de-açúcar. Estes elementos incluem macrominerais como Ca, K, Mg e P; microminerais como Cu, Fe, Mn, Zn; e não essenciais ou potencialmente tóxicos como Al, Cd, Pb, dentre outros (JAFFÉ, 2015; LUCCHINI, 2014).

Devido à complexidade dos produtos oriundos da cana-de-açúcar, a mineralização das amostras com ácidos inorgânicos fortes e sob aquecimento tem sido demonstrada como uma boa alternativa no preparo de amostras para a análise de minerais. Este procedimento propicia a eliminação da matéria orgânica, possibilitando o uso de soluções padrão aquosas para a calibração, já que as propriedades físicas e químicas da amostra tratada são similares aos dos padrões aquosos utilizados para a calibração (KRUG, 2008).

O processo de decomposição pode ocorrer em sistema aberto com chapa de aquecimento ou em bloco digestor; no entanto, a decomposição por

via úmida em altas temperaturas usando sistemas abertos pode ocasionar perdas de analitos mais voláteis e pela evaporação do solvente. Uma alternativa é o uso do sistema de refluxo com dedo frio para a decomposição completa das amostras em um sistema aberto com aquecimento convencional (FERREIRA et al., 2013; ORESTE et al., 2013).

O método adaptado por ORESTE e colaboradores (2013) o qual utiliza a técnica do dedo frio, tem sido aplicado em amostras de difícil decomposição, como amostras biológicas, carvão e cinzas, goma xantana e erva-mate (*Ilex paraguariensis*) (ORESTE et al., 2013; OLIZ et al., 2016; SOUZA et al., 2015; PEREIRA et al., 2016), demonstrando ampla versatilidade e resultados satisfatórios para a determinação de elementos voláteis e metálicos.

Após a mineralização das amostras, diversas técnicas analíticas podem ser utilizadas na determinação da concentração dos elementos, como a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS) ou a Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS) (OZBEK & AKMAN 2016).

A Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES) é uma técnica com capacidade para determinação multielementar, e tem como vantagens em relação aos espectrômetros de absorção atômica por não usar gases tóxicos e inflamáveis; e por possibilitar a determinação dos elementos refrativos ou formadores de carbonetos, devido a temperatura do plasma ser mais alta que a da chama (OZBEK & AKMAN 2015).

O plasma de nitrogênio é considerado menor se comparado ao plasma induzido de argônio; esse plasma de menor energia reflete em limitações ao teor de acidez (máximo de 5% (v/v)) e de sólidos dissolvidos (3% (m/v)) remanescentes da decomposição das amostras (LEÃO et al., 2018).

Sendo assim, a etapa de preparo das amostras é fundamental para a eficiência das determinações, principalmente para diminuir interferências no equipamento, como depósitos na tocha do plasma, os quais são sais dissolvidos que podem danificá-la. Os cuidados nas etapas de preparo de amostra reduzem a necessidade de diluições posteriores da amostra, o que aumenta os limites de detecção (OZBEK & AKMAN 2016; OZBEK et al., 2016b).

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi desenvolver uma metodologia que utiliza decomposição ácida com sistema de refluxo utilizando dedo frio, e posterior determinação de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Na por MIP OES em produtos da cana-de-açúcar.

## **4.2 Materiais e métodos**

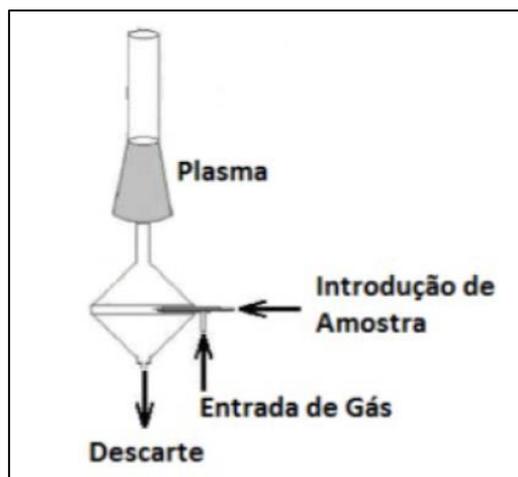
### **4.2.1 Reagentes e amostras**

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e as soluções usadas foram preparadas com água deionizada, obtida a partir de um sistema de destilação de vidro modelo MA078/5 (Marconi, SP, Brasil) e, posteriormente, eluída em um desionizador modelo CS1800 Evolution (Permuton, PR, Brasil). Foi utilizado HNO<sub>3</sub> 65% (v/v) (Vetec), bidestilado em destilador de quartzo MA-075 (Marconi, Piracicaba, Brasil), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35% (m/v) (Dinâmica) e pérolas de vidro (Synth) para minimizar possíveis turbulências no sistema. D-glicose anidra (Dextrose) (Synth, SP, Brasil) foi utilizada para a determinação do Conteúdo Residual de Carbono (CRC). As soluções de calibração foram preparadas a partir de uma solução estoque multielementar para ICP (Sigma-Aldrich, Suíça) contendo 100 mg L<sup>-1</sup> de cada analito.

Todas as vidrarias e frascos volumétricos utilizados foram previamente descontaminados por imersão em uma solução de HNO<sub>3</sub> 10% (m/v) por 48 horas, sendo posteriormente lavados com água deionizada e secos a temperatura ambiente. As amostras foram descritas no Capítulo 1 item 3.2.1.

### **4.2.2 Instrumentação**

Para as determinações multielementares foi utilizado um espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas da Agilent Technologies, modelo MP-AES 4200 (Melbourne, Austrália), equipado com o sistema de nebulização convencional para introdução da amostra no plasma do tipo OneNeb inerte (Figura 9).



**Figura 9.** Sistema de nebulização convencional do espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas.

Fonte: Agilent Technologies, 2014

Os gases utilizados para a geração do plasma foram o nitrogênio obtido a partir do ar atmosférico comprimido, gerado a partir de um gerador de nitrogênio da Agilent 4107 (Melbourne, Austrália), operando numa vazão de gás de  $20 \text{ L min}^{-1}$  e vazão de gás para nebulização de  $1,5 \text{ L min}^{-1}$ . Para proteção pré-óptica foi utilizado um fluxo de ar comprimido de  $25 \text{ L min}^{-1}$ . Para a ignição do plasma foi utilizado ainda um pequeno fluxo de gás Argônio (Ar) com pureza de 99,996% (Linde, Barueri, SP). Os sinais de fundo foram corrigidos de forma automática por meio de subtração entre espectros do branco e das amostras. As condições operacionais utilizadas para a determinação dos analitos estão apresentadas nas Tabelas 10 e 11.

**Tabela 10.** Condições gerais de funcionamento do MIP OES para as determinações de minerais em amostras de produtos da cana-de-açúcar

Parâmetros do instrumento	Condições de operação
Frequência do Magnetron (MHz)	2450
Nebulizador	Inert OneNeb
Spray chamber	Cyclonic double-pass
Potência aplicada (kW)	1,0
Vazão de introdução da amostra (mL min <sup>-1</sup> )	2
Tempo de leitura (s)	3
Número de replicatas	3
Tempo de estabilização (s)	15
Correção de sinal de fundo	Automático

**Tabela 11.** Condições operacionais para determinação dos minerais por MIP OES em amostras de produtos da cana-de-açúcar

Analito	Comprimento de onda (nm)	Posição de visualização (mm)	Vazão do nebulizador (L min <sup>-1</sup> )
Ba	455,403	10	0,65
Ca	393,366	10	0,6
Cu	324,754	0	0,6
Fe	371,993	0	0,75
K	766,491	10	1,0
Mg	285,213	10	0,7
Mn	403,076	0	0,85
Na	588,995	0	1,0

Para a mineralização das amostras foi utilizado um bloco digestor convencional (Marconi, modelo MA 4025, Brasil), no qual os tubos de decomposição foram acoplados ao sistema de refluxo (dedo frio) com um encaixe de teflon dotado de uma ranhura lateral para alívio da pressão (ORESTES et al., 2013). O sistema também possui circulação interna de água com temperatura controlada de 15 °C através de um banho termostaticado, modelo Q-214M2 (Quimis, Diadema, SP, Brasil).

### 4.2.3 Otimização do método de preparo de amostra

O procedimento de decomposição ácida com sistema de refluxo foi realizado pela pesagem em triplicata, de aproximadamente 1000 mg de amostra diretamente nos tubos de decomposição, após foi adicionado 15 micropérolas de vidro e 5 mL de HNO<sub>3</sub> 65% (m/v), e posteriormente foram colocadas as rolhas de teflon e o dedo frio em cada tubo. O conjunto foi posicionado no bloco digestor e submetido ao aquecimento, com circulação contínua de água a aproximadamente 15 °C nas mangueiras acopladas ao dedo frio.

Depois de concluído o processo de decomposição e o respectivo resfriamento das amostras à temperatura ambiente, as soluções resultantes foram transferidas para frascos volumétricos e avolumadas a 50 mL com água deionizada. Para avaliar a eficiência do processo de decomposição foram feitos estudos do teor de sólidos totais dissolvidos e da acidez remanescente das soluções resultantes, ao longo das otimizações (IAL, 2008- adaptado).

Para a otimização do método foi utilizada uma amostra comercial de açúcar mascavo, por ser a matriz mais complexa dentre as avaliadas. Para o estudo de otimização considerou-se as seguintes variáveis: massa de amostra (200-1000 mg), tempo (1-5 h) e temperatura de decomposição (150–180 °C). Por fim, testou-se a adição de 1 mL de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 35% (v/v) a 150 °C por mais uma 1 hora, com o intuito de aumentar o poder de oxidação e clarificação da solução.

Para todos os procedimentos de otimização foram realizadas determinações da acidez remanescente e o teor de sólidos totais dissolvidos.

Para a determinação da acidez remanescente, uma alíquota de 500 µL do digerido foi diluída em 25 mL de água deionizada e titulada com NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> previamente padronizado com biftalato ácido de potássio. Como indicador, utilizou-se a fenolftaleína. A acidez foi calculada através da Equação 3, adaptada de (IAL, 2008).

$$\text{Acidez (\%)} = (V_{\text{NaOH}} \times C_{\text{NaOH}} \times \text{MM}_{\text{HNO}_3} \times 100) / V_{\text{pipetado}} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

- $V_{\text{NaOH}}$  é o volume de NaOH, em litros, gasto na titulação;
- $C_{\text{NaOH}}$  é a concentração real de NaOH, em mol L<sup>-1</sup>;
- $MM_{\text{HNO}_3}$  é a massa molar do HNO<sub>3</sub>, em gramas por mol;
- $V_{\text{pipetado}}$  é o volume, em litros, da alíquota da amostra utilizada para a titulação.

Para a determinação do teor de sólidos dissolvidos, uma alíquota de 5,0 mL do digerido foi transferida para um béquer vazio previamente pesado. O béquer foi colocado em uma chapa de aquecimento, no interior de uma capela, onde se deixou evaporar os ácidos até secura. Logo após, o resíduo contido no béquer foi seco em estufa a 180 °C por 1h, transferido para um dessecador e pesado subsequentemente ao resfriamento, repetindo-se o procedimento até obter peso constante.

A porcentagem de sólidos presentes na amostra foi calculada através da Equação 4, adaptada de Adolfo Lutz (IAL, 2008).

$$\text{Sólidos (\%)} = (P_{\text{seco}} / P_{\text{amostra}}) \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

- $P_{\text{seco}}$  é a massa, em gramas, da amostra seca;
  - $P_{\text{amostra}}$  é a massa, em gramas, da alíquota de 5,0 mL do digerido
- Foi ainda levado em consideração o volume total da amostra (50 mL).

Para a determinação do conteúdo residual de carbono, foi preparada uma solução a 5% de carbono pela dissolução da dextrose anidra em água deionizada. A curva de calibração foi construída em seis níveis de concentração (0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0% m/v) com acidez residual de 3,0% (v/v), subsequentemente as amostras decompostas foram analisadas na condição otimizada. O comprimento de onda do carbono usado nas medições foi 193,027 nm.

#### 4.2.4 Parâmetros de mérito

Após foi feito o estudo de validação do método, onde foram avaliados os

parâmetros de mérito: inclinação (sensibilidade), linearidade, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), sendo instrumentais e do método, precisão e exatidão. Todos os cálculos empregados estão de acordo com as orientações do guia de validação do INMETRO.

Curvas de calibração foram preparadas usando a solução em branco e as soluções padrões em 3,0% (v/v) HNO<sub>3</sub>. A faixa linear empregada foi 0,1 a 5,0 mg L<sup>-1</sup>. Os limites de detecção e quantificação foram avaliados considerando três e dez vezes o desvio e a média de dez replicatas da solução do branco, utilizando a curva de calibração (INMETRO, 2016).

A inclinação foi expressa pelo coeficiente angular da curva de calibração para cada elemento. A linearidade foi avaliada pelo coeficiente de correlação da curva de calibração (R<sup>2</sup>). Foram consideradas como satisfatórias as curvas com valores de R<sup>2</sup> maiores ou iguais a 0,99. Para a obtenção dos valores dos limites de detecção e quantificação do método, foram analisados os brancos analíticos de cada analito e os mesmos foram calculados de acordo com as definições:

O limite de detecção (LD) corresponde à quantidade mínima que é possível ser detectada de um analito, isto é, é a menor concentração do analito que pode ser detectada com segurança, diferenciando-se do branco analítico. Este parâmetro é calculado conforme a Equação 5.

$$LD = 3 SD / a \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

SD: desvio padrão das dez medidas do branco

a: coeficiente angular da curva de calibração

O Limite de Quantificação (LQ) é conhecido como a menor concentração de um analito que pode ser determinada com um erro menor que 5%. Este parâmetro é calculado de acordo com a Equação 6.

$$LQ = 10 SD / a \quad \text{Equação 6}$$

Onde:

SD: desvio padrão de dez medidas do branco;  
a: coeficiente angular da curva da curva de calibração.

A precisão de um método analítico é verificada através do valor do desvio padrão relativo (RSD) sendo obtida através da Equação 7:

$$\text{RSD (\%)} = (\text{SD}/\text{X}) \cdot 100 \quad \text{Equação 7}$$

Onde:

SD: estimativa de desvio padrão das medidas,  
X: concentração média das medidas.

A exatidão do método é definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. Para avaliar a exatidão do método, devido à falta de material de referência certificado de açúcar, foi utilizado o método de adição de padrão, onde a recuperação do analito pode ser estimada pela análise das amostras fortificadas com quantidades conhecidas do mesmo (*Spike*). As amostras foram fortificadas com o analito em três níveis de concentração: adição baixa, média e alta. As concentrações adicionadas foram baseadas nas concentrações dos analitos nas amostras e na faixa linear de trabalho das curvas analíticas, obtidas por MIP OES. Todas as medidas foram executadas em triplicata (INMETRO, 2016).

As recuperações foram avaliadas através da Equação 8:

$$\text{Recuperação (\%)} = \text{C1} - \text{C2} \times 100 / \text{C3} \quad \text{Equação 8}$$

Onde:

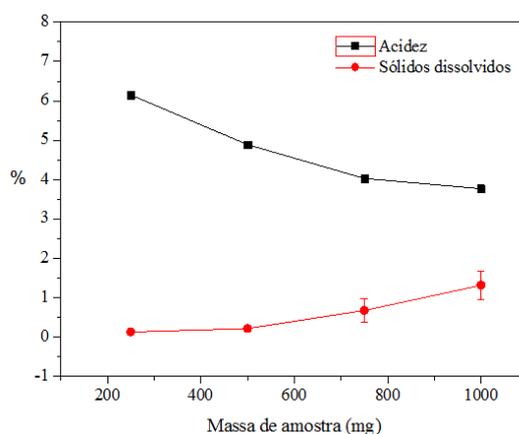
C1 = concentração do analito na amostra fortificada;  
C2 = concentração do analito na amostra não fortificada;  
C3 = concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

## 4.3 Resultados e discussões

### 4.3.1 Otimização do preparo de amostra

#### 4.3.1.1 Efeito da massa de amostra

O uso de maiores massas de amostras geralmente leva à necessidade de diluição da amostra antes das análises; no entanto, massas maiores de amostra também favorecem a obtenção de melhores limites de detecção para o método proposto. Para isso, foram testadas massas de amostra de açúcar mascavo na faixa de 200 a 1000 mg. Em todas as condições avaliadas houve uma completa solubilização da amostra (Figura 10).



**Figura 10.** Otimização da variação da massa de açúcar mascavo para o sistema de decomposição com refluxo em condições fixas (5 mL de  $\text{HNO}_3$ , 150 °C, 2 horas de decomposição, volume final de 50 mL).

De acordo com o gráfico, pode-se observar que à medida que a massa de amostra foi aumentando, o teor de sólidos dissolvidos também aumentou (0,13-1,32% m/v, com desvio padrão menor que 0,36%); no entanto, estes valores não ultrapassaram o limite de 3,0% (m/v) para sólidos dissolvidos e de 5,0% (v/v) para a acidez remanescente, parâmetros que são importantes para verificar se a decomposição da matriz orgânica foi eficiente (LEÃO et al., 2018).

Para a acidez, à medida que a massa de amostra aumentou, a acidez diminuiu (6,15 a 3,77% v/v, com desvio padrão menor que 0,1%), ou seja, mais ácido é requerido na decomposição da matéria orgânica da amostra. Por conta

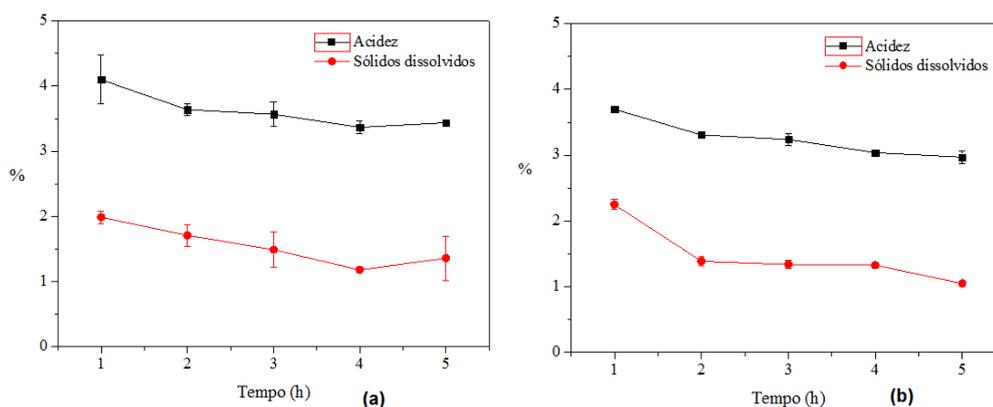
disso, foi adotado a massa de 1000 mg de amostra para os estudos seguintes.

Em trabalho de NOGUEIRA e colaboradores (2009) também foi adotada a massa de 1000 mg de melado para 15 mL de ácido nítrico e de 1 mL de ácido perclórico para decomposição ácida em chapa de aquecimento, sendo que as amostras foram diluídas para 50 mL com água deionizada. Neste mesmo trabalho, os teores de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn e foram determinados por espectroscopia de absorção atômica com chama; o P por espectrofotometria no ultravioleta-visível; e o Na e K por fotometria de chama (NOGUEIRA et al., 2009).

#### **4.3.1.2 Efeito do tempo e temperatura de decomposição**

Outros parâmetros importantes a serem avaliados no processo de decomposição das amostras são o tempo de decomposição e a temperatura do bloco digestor. Observou-se que nos diferentes tempos (1-5 h) a 150 °C, a acidez variou de 3,37% a 4,10% (v/v) com desvio padrão menor que 0,37%; e o teor de sólidos totais dissolvidos de 1,12 a 1,99% (m/v), com desvio padrão menor que 0,34% (Figuras 11a e 11b). Ao otimizar o tempo, foi observado que a acidez e o teor de sólidos dissolvidos tiveram variações mais acentuadas em até 4h de decomposição, e após esse tempo mantiveram-se praticamente constantes. Por conta disso, foi estabelecido para o tempo de decomposição de 4 horas.

O tempo de decomposição de 4 horas também foi relatado no trabalho de ORESTE e colaboradores (2016), para a determinação de metais em amostras de leite em pó, onde os autores otimizaram o tempo de decomposição em função do conteúdo de carbono residual. Estes autores observaram que no tempo de 4 horas ocorreu o menor percentual de carbono; e em menores tempos, como em 30, 60 e 90 minutos, um maior percentual de carbono residual foi encontrado. Segundo os autores, menores tempos podem não ser suficientes para total decomposição de amostras com alto teor de matéria orgânica.



**Figura 11.** Otimização da variação do tempo de decomposição do açúcar mascavo: (a) 150 °C, 1000 mg de amostra, 5 mL de HNO<sub>3</sub>, volume final de 50 mL. (b) 180 °C, 1000 mg de amostra, 5 mL de HNO<sub>3</sub>, volume final de 50 mL.

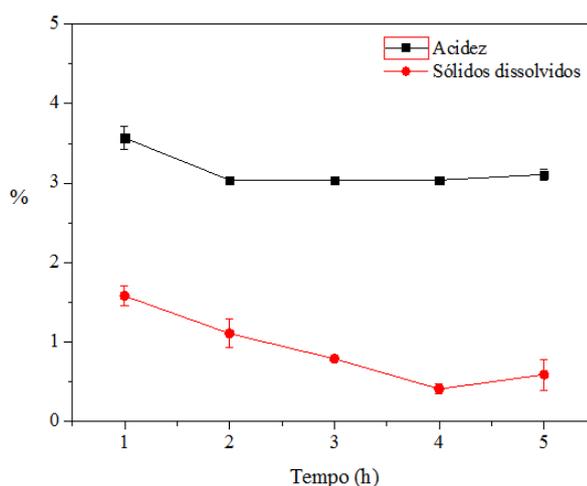
Ao testar a temperatura de 180 °C, os valores de acidez ficaram na faixa de 2,97-3,70% (com desvio padrão menor que 0,1%), e de sólidos dissolvidos de 1,05 a 2,25% (com desvio padrão menor que 0,1%) (Figura 11b). Assim, observou-se que o uso de temperaturas mais elevadas não representa uma diminuição dos parâmetros de sólidos dissolvidos e de acidez para as amostras de açúcar mascavo, permanecendo com valores próximos ao utilizar a temperatura de 150 °C. Sendo assim, foi adotada a temperatura mais baixa (150° C) para o estudo posterior com uso de peróxido de hidrogênio.

Temperaturas próximas a 150 °C foram usadas em outros trabalhos, como por exemplo: para o preparo de amostras de carvão mineral (145 °C), e na decomposição de amostras de cerveja (160 °C), ambos utilizando sistema de decomposição ácida com sistema de refluxo (OLIZ et al., 2016; LEÃO et al., 2018).

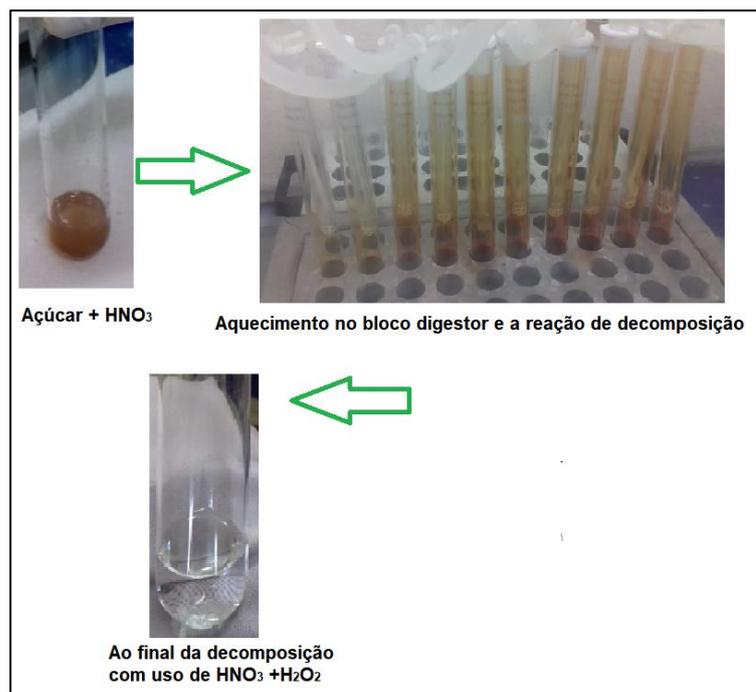
Na decomposição de materiais orgânicos por via úmida, com ácido mineral sob aquecimento, torna-se possível oxidar completamente a maioria das amostras, deixando os elementos a serem determinados em formas inorgânicas simples, próprias para a análise. Temperaturas superiores ao ponto de ebulição do azeótropo do ácido nítrico formado com a água (120 °C) são necessárias para possibilitar maior eficiência nas quebras das ligações carbono-carbono das moléculas orgânicas (KRUG, 2008).

#### 4.3.1.3 Efeito da adição de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

A utilização de pequenas quantidades de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, utilizado em combinação com ácidos minerais como o HNO<sub>3</sub>, é bastante comum como tratamento final para a remoção de produtos coloridos que permanecem em solução em procedimentos para a oxidação de materiais orgânicos. A utilização de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> apresenta a vantagem de ser um agente oxidante poderoso, onde a água é o único produto de decomposição, além de estar disponível com alto grau de pureza (KRUG, 2008). Desta forma, observou-se no presente estudo, que ao se utilizar 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> após a decomposição ácida, as soluções ficaram mais límpidas, o que foi comprovado por menores teores de sólidos dissolvidos (0,41-1,58% com desvio padrão menor que 0,19%) e de acidez (3,04-3,57% com desvio padrão menor que 0,14%) (Figura 12). A Figura 13 apresenta o aspecto visual da solução após decomposição.



**Figura 12.** Otimização da variação do tempo de decomposição do açúcar mascavo para o sistema de refluxo (150 °C, 1000 mg de amostra, 5 mL de HNO<sub>3</sub>, 15 micropérolas, 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por mais 1 h, volume final de 50 mL)



**Figura 13.** Etapas da decomposição, apresentando ao final, soluções com aspecto límpido.

Fonte: o autor.

Assim, foi possível usar apenas HNO<sub>3</sub> em associação com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sem a necessidade de usar outros reagentes oxidantes fortes e perigosos, como o ácido perclórico, que apresenta riscos de explosão. Portanto, o uso do sistema de refluxo permitiu o desenvolvimento de um método seguro e eficaz para a decomposição das amostras.

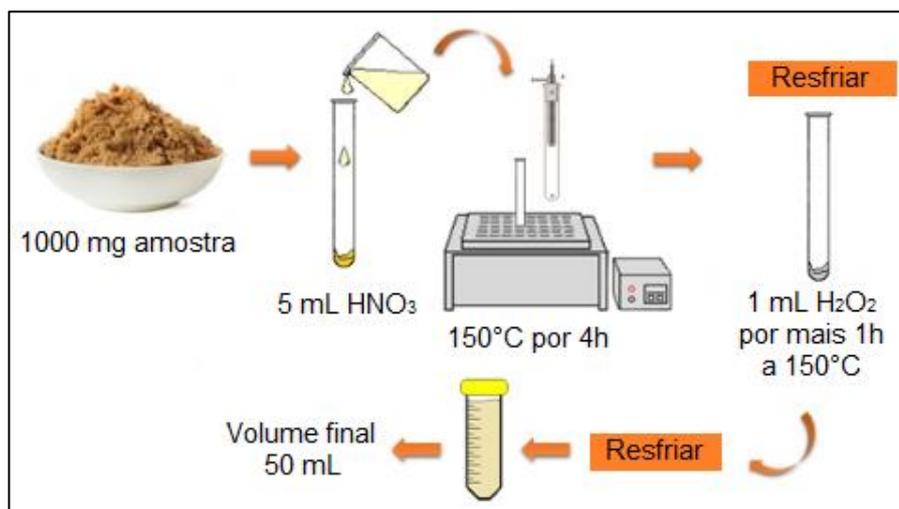
#### 4.3.2 Procedimento de preparo de amostra otimizado

Como pode ser observado, a completa otimização dos parâmetros para o desenvolvimento do método de preparo de amostras de açúcares permitiu o uso de 1000 mg de amostra de açúcar e 5 mL de HNO<sub>3</sub> e 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

A decomposição de amostras em bloco digestor com sistema de refluxo apresenta vantagens como da massa de amostra e do volume de ácido não serem parâmetros críticos para os experimentos e também pelo risco de explosões ser mínimo (FERREIRA et al., 2013). FERREIRA e colaboradores (2013) relatam que a principal desvantagem é que as soluções residuais dos processos de decomposição utilizando o sistema de refluxo geralmente apresentam alta concentração de ácido. Esse inconveniente, quando possível,

pode ser resolvido diluindo a solução final obtida do processo. Outra opção é preparar as soluções das curvas de calibração com a mesma concentração ácida das amostras digeridas, evitando assim o efeito da matriz. No presente estudo, as soluções resultantes da decomposição foram transferidas para frascos de polipropileno e o volume final foi avolumado a 50 mL com água deionizada, e o procedimento de preparação da amostra foi otimizado para que a acidez remanescente e os sólidos dissolvidos totais fossem em menores quantidades e adequados para a determinação pelo MIP OES, sem a necessidade de diluições sucessivas (Figura 14). Ao final, a acidez foi de 3,0% (v/v) e, assim, as curvas de calibração foram construídas em 3,0% (v/v) de HNO<sub>3</sub>, evitando assim o efeito da matriz.

Comparando com o sistema aberto, o sistema semifechado com refluxo é uma alternativa promissora, pois reduz a quantidade de reagentes e evita o risco de contaminação e perdas de volatilização e, comparando com o sistema fechado por micro-ondas, pode ser uma alternativa de menor custo.



**Figura 14.** Esquema do procedimento de preparo otimizado para as amostras de produtos da cana-de-açúcar.

Fonte: o autor.

#### 4.3.3 Conteúdo residual de carbono (CRC)

Embora o teor de sólidos dissolvidos totais seja importante e pode ser uma medida indireta do conteúdo residual de carbono (CRC), não tem a

especificidade de identificar espécies de carbono, o qual pode ser uma maior fonte de interferência nas determinações espectrométricas.

Para este propósito, o CRC foi avaliado em todas as amostras de produtos da cana-de-açúcar após o procedimento otimizado, onde o valor médio de CRC para as amostras decompostas foi de 0,22% (m/v). Por último, a eficiência de decomposição das amostras foi calculada, sendo superior a 90%. O HNO<sub>3</sub> não é um agente oxidante suficientemente forte para mineralizar completamente o material orgânico em sistemas abertos. Dependendo da natureza da amostra, de 2 a 50% do teor de carbono original permanece como material não decomposto (FLORES et al., 2008).

Então, no presente estudo, usando um sistema de decomposição com refluxo e semifechado, foi possível obter baixo conteúdo residual de carbono nas soluções das amostras decompostas, sendo inferior que os resultados de sólidos dissolvidos totais, os quais incluem em sua composição o conteúdo residual de carbono e a porção mineral, não sendo específico para o carbono.

#### **4.3.4 Parâmetros de mérito**

Os parâmetros de mérito obtidos para as determinações de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Na em produtos da cana-de-açúcar estão apresentados na Tabela 12. Valores adequados de coeficiente de correlação linear ao quadrado podem ser observados para todos os analitos ( $R^2 > 0,999$ ). As curvas de calibração são apresentadas no apêndice. Os limites de detecção do método variaram de 0,02 a 0,26 mg kg<sup>-1</sup> para todos os analitos e são adequados para a determinação de metais em amostras de açúcar.

**Tabela 12.** Parâmetros de mérito para a determinação multielementar em amostras de produtos da cana-de-açúcar, utilizando MIP OES

<b>Analito</b>	<b>Inclinação ( L mg<sup>-1</sup>)</b>	<b>LD (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>LQ (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>LD* (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>LQ* (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>Ba</b>	863590	0,0006	0,0020	0,03	0,10	0,9998
<b>Ca</b>	1104199	0,04	0,13	0,03	0,08	0,9996
<b>Cu</b>	270331	0,0008	0,003	0,04	0,14	0,9999
<b>Fe</b>	22593	0,002	0,005	0,08	0,27	0,9999
<b>K</b>	100229	0,004	0,012	0,18	0,60	0,9998
<b>Mg</b>	470918	0,0006	0,002	0,03	0,11	0,9997
<b>Mn</b>	88915	0,0004	0,001	0,02	0,07	0,9999
<b>Na</b>	941553	0,005	0,012	0,26	0,89	0,9998

a: Sensibilidade da curva de calibração; R<sup>2</sup>: Coeficiente de correlação linear ao quadrado; LD: Limite de detecção instrumental; LQ: Limite de quantificação instrumental; LD\* Limite de detecção do método e LQ\* Limite de quantificação do método.

Para avaliar a exatidão do método desenvolvido, foram empregados testes de adição e recuperação em três níveis de concentração para Ba, Cu, Fe, Mn e Na (0,5; 1,0 e 1,5 mg L<sup>-1</sup>); para Ca (2,0, 7,0 e 12 mg L<sup>-1</sup>), para Mg (4,5, 6,5 e 8,5 mg L<sup>-1</sup>) e para K (1,5, 3,75 e 7,5 mg L<sup>-1</sup>). O fator de diluição foi 5 para Ca e Mg e de 15 para K. As adições foram baseadas nas concentrações determinadas nas amostras e na faixa linear das curvas de calibração, e os três níveis de adição foram calculados considerando os valores de desvio padrão relativo de cada elemento multiplicado por dez, para garantir que algum ponto estivesse abaixo da incerteza do método. Os resultados obtidos estão na Tabela 13. As recuperações médias para todos os analitos variaram de 80 a 119%, com desvio padrão relativo menor que 9,2%, exceto para o elemento Na, na adição baixa (recuperação de 68%). Nas demais adições, médias e altas, foram obtidos valores de recuperação de 114 e 119 %, respectivamente, sendo considerados satisfatórios.

**Tabela 13.** Concentrações de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Na em açúcar mascavo por MIP OES, após adições de diferentes concentrações (n=3)

Adição (mg L <sup>-1</sup> )	Encontrado ( $\bar{x} \pm SD$ , mg L <sup>-1</sup> (RSD, %))	Recuperação (%)
<b>Ba</b>		
0,0	0,02 ± 0,01 (0,1)	-
0,5	0,46 ± 0,03 (6,7)	91
1,0	0,87 ± 0,02 (2,9)	87
1,5	1,27 ± 0,03 (2,7)	85
<b>Ca</b>		
0,0	8,77 ± 0,46 (5,2)	-
2,0	1,62 ± 0,13 (7,8)	81
7,0	6,20 ± 0,55 (8,9)	88
12,0	9,70 ± 0,79 (8,1)	80
<b>Cu</b>		
0,0	0,01 ± 0,00 (0,0)	-
0,5	0,52 ± 0,03 (5,9)	103
1,0	1,00 ± 0,04 (3,6)	100
1,5	1,48 ± 0,07 (4,5)	98
<b>Fe</b>		
0,0	1,03 ± 0,01 (0,6)	-
0,5	0,55 ± 0,04 (6,6)	109
1,0	1,00 ± 0,03 (3,5)	100
1,5	1,57 ± 0,12 (7,4)	105
<b>K</b>		
0,0	21,45 ± 0,08 (5,3)	-
1,5	1,75 ± 0,01 (0,1)	117
3,75	3,48 ± 0,02 (9,2)	93
7,5	8,05 ± 0,006 (2,6)	107
<b>Mg</b>		
0,0	6,80 ± 0,44 (6,5)	-
4,5	3,82 ± 0,15 (4,0)	85
6,5	5,70 ± 0,27 (4,9)	87
8,5	7,20 ± 0,17 (2,4)	84
<b>Mn</b>		
0,0	0,13 ± 0,00 (0,0)	-
0,5	0,52 ± 0,03 (5,9)	103
1,0	1,01 ± 0,02 (2,8)	101
1,5	1,52 ± 0,04 (3,1)	102
<b>Na</b>		
0,0	1,17 ± 0,01 (1,3)	-
0,5	0,34 ± 0,02 (5,1)	68
1,0	1,15 ± 0,02 (1,3)	114
1,5	1,79 ± 0,05 (2,8)	119

#### 4.3.5 Análise elementar das amostras de cana-de-açúcar

Nas Tabelas 14 e 15 estão os resultados de concentração obtidos para as concentrações de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Na nas amostras de açúcares (refinado, cristal, demerara e mascavo marca A) e nos demais produtos da cana-de-açúcar (melado e rapadura), respectivamente. Os valores de desvio padrão relativo (RSD) foram inferiores a 9%, indicando uma boa precisão do método.

As concentrações medidas de analitos, expressas em  $\text{mg kg}^{-1}$ , foram calculadas considerando o teor de umidade das amostras (Tabela 7). Os resultados apresentados nas Tabelas 14 e 15 foram submetidos ao teste de Tukey ao nível de confiança de 95%, comparando semelhança / diferença entre as amostras de açúcares. Ao analisar as amostras de açúcares mais semelhantes (refinado e cristal), observou-se que não há diferença significativa entre os resultados para os elementos investigados, exceto para o Na. Ao comparar os açúcares refinado e cristal com o demerara, foi observado diferença significativa para o conteúdo de alguns elementos (Fe, K e Mg)

Ao comparar o açúcar mascavo com os outros açúcares, foi observado uma diferença significativa entre as concentrações dos minerais, uma vez que o açúcar mascavo apresenta maior complexidade em relação aos demais açúcares. Ao analisar os produtos da cana-de-açúcar (melado e rapadura), foi aplicado o teste- t, por se tratar de duas amostras e observou-se diferença significativa para todos os elementos da Tabela 15 para o teste- t ( $P < 0,05$ ).

O conhecimento sobre a composição dos alimentos é essencial para o controle de qualidade, avaliação da ingestão de nutrientes essenciais e avaliação dos riscos de exposição resultantes da ingestão de metais (PINTO et al., 2019). De acordo com os resultados do presente estudo, a ordem (de macrominerais a micro) média dos elementos encontrados nas amostras de açúcares foi:  $\text{K} > \text{Ca} > \text{Mg} > \text{Na} > \text{Fe} > \text{Mn} > \text{Ba} > \text{Cu}$ . O mesmo comportamento foi obtido para o melado e rapadura, com valores de concentração variando na mesma ordem que nas amostras de açúcar.

De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 14 e 15, pode-se observar maior quantidade de Ca, Mg e K nos produtos de cana-de-açúcar menos processados, como no melado, na rapadura e no açúcar mascavo, em

comparação aos produtos mais processados (açúcar refinado, açúcar cristal e açúcar demerara).

Os valores de referência da TACO, para os açúcares refinado e mascavo, rapadura e melado, são apresentados juntamente com os resultados nas amostras comerciais analisadas da Região Sul do Brasil. Com isso, pode-se confirmar que os produtos mais processados perdem grande parte de seus minerais, apresentando apenas pequenas quantidades ou traços, sendo que alguns dos minerais ainda presentes nas amostras processadas, como o cálcio e o sódio, podem também serem oriundos do processamento industrial.

Cabe salientar que os valores da tabela TACO se referem às médias dos resultados analíticos de no mínimo três, e no máximo de cinco amostras das principais marcas comerciais dos produtos da cana-de-açúcar de diferentes regiões do Brasil (LUCHINI, 2014). Segundo JAFFÉ (2015) há uma ampla dispersão de dados sobre o conteúdo de minerais em açúcares mascavo, e esta dispersão deve-se às variedades de cana, tipo de solo, práticas de fertilização, condições de colheita e de processamento industrial, bem como os tipos de açúcares se orgânicos ou convencionais (LUCHINI, 2014; NOGUEIRA et al., 2009).

LEE e colaboradores (2018) ao determinarem minerais em açúcares comerciais refinados e não refinados da Coréia do Sul observaram que as amostras não refinadas apresentaram vários elementos essenciais como Ca, Fe, K e Mg, estando o K em quantidades superiores ( $82 - 3930,17 \text{ mg kg}^{-1}$ ). GUERRA & MUJICA (2010) também observaram que o K foi o mineral mais abundante em rapaduras artesanais e produzidas experimentalmente, além de conteúdos superiores de Ca, Fe P, Na e Zn nas rapaduras artesanais.

Diferentemente de outros trabalhos, nos quais são relatadas técnicas de determinação como a Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) e a Espectrometria de Absorção Atômica (LEE et al., 2018; GUERRA & MUJICA, 2010; LUCHINI, 2014), não há na literatura, ao nosso conhecimento, trabalhos que utilizem a técnica de MIP OES para determinação de metais em produtos da cana-de-açúcar. Os minerais contemplados na TACO (Ca, Fe, Mg, Mn, P, Na K, Cu, e Zn) foram determinados pela técnica de ICP-OES, com mineralização por via seca ou úmida, de acordo com a amostra (TACO, 2011).

**Tabela 14.** Concentrações de minerais nas amostras de açúcar por MIP OES. Valores em mg kg<sup>-1</sup> (n=3)

Elemento	AR	AC	AD	AMA	Referência TACO Refinado : Mascavo
<b>Ba</b>	<LD <sup>b</sup>	<LD <sup>b</sup>	<LD <sup>b</sup>	0,990 <sup>a</sup> ± 0,001 (0,1)	-
<b>Ca</b>	39,9 <sup>b</sup> ± 3,1 (7,7)	55,4 <sup>b</sup> ± 4,8 (8,6)	67,8 <sup>b</sup> ± 2,2 (3,2)	333,3 <sup>a</sup> ± 25,8 (7,7)	4 : 1270
<b>Cu</b>	<LD <sup>b</sup>	<LD <sup>b</sup>	<LD <sup>b</sup>	0,490 <sup>a</sup> ± 0,001 (0,2)	Traços : 1,7
<b>Fe</b>	1,490 <sup>c</sup> ± 0,002 (0,1)	0,990 <sup>c</sup> ± 0,001 (0,1)	2,990 <sup>b</sup> ± 0,005 (0,2)	47,9 <sup>a</sup> ± 0,5 (1,0)	0,1 : 83
<b>K</b>	42,1 <sup>c</sup> ± 0,8 (1,9)	57,7 <sup>c</sup> ± 0,3 (0,5)	182,55 <sup>b</sup> ± 0,68 (3,8)	678,7 <sup>a</sup> ± 14,9 (2,1)	6 : 5220
<b>Mg</b>	7,6 <sup>c</sup> ± 0,3 (3,9)	10,8 <sup>c</sup> ± 0,3 (2,7)	37,5 <sup>b</sup> ± 1,2 (3,2)	261,9 <sup>a</sup> ± 4,3 (1,6)	1 : 800
<b>Mn</b>	<LD <sup>b</sup>	<LD <sup>b</sup>	<LD <sup>b</sup>	6,490 <sup>a</sup> ± 0,005 (0,1)	Traços : 20,3
<b>Na</b>	29,1 <sup>a</sup> ± 0,8 (2,7)	7,5 <sup>b</sup> ± 0,5 (6,6)	6,5 <sup>b</sup> ± 0,5 (7,6)	7,15 <sup>b</sup> ± 0,58 (8,1)	12 : 250

Concentração média ± Desvio padrão (Desvio padrão relativo%); <LD : inferior ao Limite de detecção do método

- : não há referência na TACO. AR = açúcar refinado; AC = açúcar cristal; AD: açúcar demerara; AMA: açúcar mascavo marca A.

As médias foram comparadas por ANOVA, usando o teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente.

**Tabela 15.** Concentrações de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Na em amostras de rapadura e melado determinados por MIP OES. Valores em mg kg<sup>-1</sup> (n=3)

Elemento	ME	RA	Referência TACO Melado : Rapadura
<b>Ba</b>	0,76 <sup>A</sup> ± 0,03 (0,4)	0,460 <sup>B</sup> ± 0,004 (0,9)	-
<b>Ca</b>	358,0 <sup>A</sup> ± 13,7 (3,8)	201,6 <sup>B</sup> ± 7,0 (3,4)	1020 : 300
<b>Cu</b>	<LD <sup>B</sup>	0,460 <sup>A</sup> ± 0,004 (0,9)	8,4 : 1,7
<b>Fe</b>	69,1 <sup>A</sup> ± 0,9 (1,3)	38,7 <sup>B</sup> ± 1,3 (3,3)	54 : 44
<b>K</b>	1953 <sup>A</sup> ± 93 (4,8)	490 <sup>B</sup> ± 14 (2,9)	3950 : 4590
<b>Mg</b>	538 <sup>A</sup> ± 12 (2,2)	146,4 <sup>B</sup> ± 0,9 (0,6)	1150 : 470
<b>Mn</b>	17,00 <sup>A</sup> ± 0,06 (0,4)	5,54 <sup>B</sup> ± 0,05 (0,9)	26,2 : 16,6
<b>Na</b>	169,3 <sup>B</sup> ± 3,6 (2,1)	199,2 <sup>A</sup> ± 2,8 (1,4)	40 : 220

Concentração média ± Desvio padrão (Desvio padrão relativo%); <LQ : inferior ao Limite de detecção do método; ME= melado; RA= rapadura.

- : não há referência na TACO. As médias foram comparadas por ANOVA usando teste - t (p<0,05). Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem pelo teste -t.

Na Tabela 16 estão dados da concentração de minerais nas amostras de açúcar mascavo de diferentes marcas. De acordo com os dados foi observado que a amostra oriunda de SP (AMB) apresentou as maiores concentrações de minerais para todos os elementos avaliados, enquanto uma das marcas do RS (AMD) apresentou as menores concentrações para todos os elementos avaliados. Isso pode estar relacionado com os valores encontrados do teor de cinzas nas amostras, pois a amostra oriunda de SP (AMB) foi a que obteve o maior valor, e conseqüentemente teria o maior teor de minerais. A amostra AMD apresentou um menor teor de cinzas, e conseqüentemente o teor de minerais deveria ser o menor, o que foi confirmado no presente estudo. Os valores de referência da TACO para o açúcar mascavo, são apresentados juntamente com os resultados nas amostras comerciais analisadas.

**Tabela 16.** Concentrações de minerais nas amostras de açúcar mascavo por MIP OES (n=3)

Minerais (mg kg <sup>-1</sup> )	Amostras				Referência TACO* (mg kg <sup>-1</sup> )
	AMA	AMB	AMC	AMD	
Ba	0,990 <sup>b</sup> ± 0,001 (0,1)	2,0 <sup>a</sup> ± 0,0006 (1,43)	0,5 <sup>c</sup> ± 0,0007 (6,7)	<LD <sup>d</sup>	-
Ca	333,3 <sup>b</sup> ± 25,8 (7,7)	1711,9 <sup>a</sup> ± 0,101 (6,8)	320,7 <sup>b</sup> ± 0,0141 (3,4)	121,7 <sup>c</sup> ± 0,0566 (9,6)	1270
Cu	0,490 <sup>b</sup> ± 0,001 (0,2)	1,0 <sup>a</sup> ± 0,0006 (2,8)	0,5 <sup>b</sup> ± 0,0006 (5,6)	<LD <sup>c</sup>	1,7
Fe	47,9 <sup>b</sup> ± 0,5 (1,0)	65,9 <sup>a</sup> ± 0,0346 (2,5)	1,3 <sup>c</sup> ± 0,0231 (4,3)	0,8 <sup>c</sup> ± 0,0115 (3,8)	83
K	678,7 <sup>a</sup> ± 14,9 (2,1)	604,1 <sup>b</sup> ± 0,1473 (3,0)	298,4 <sup>c</sup> ± 0,0208 (2,2)	71,0 <sup>d</sup> ± 0,0513 (3,8)	5220
Mg	261,9 <sup>b</sup> ± 4,3 (1,6)	602,7 <sup>a</sup> ± 0,2381 (9,8)	293,4 <sup>b</sup> ± 0,0058 (1,9)	70,0 <sup>c</sup> ± 0,0306 (2,1)	800
Mn	6,490 <sup>b</sup> ± 0,005 (0,1)	6,9 <sup>a</sup> ± 0,0058 (4,0)	3,0 <sup>c</sup> ± 0,0006 (1,0)	1,0 <sup>d</sup> ± 0,0006 (2,8)	20,3
Na	7,15 <sup>c</sup> ± 0,58 (8,1)	28,7 <sup>ab</sup> ± 0,0625 (3,8)	18,9 <sup>b</sup> ± 0,1127 (7,8)	31,3 <sup>a</sup> ± 0,1266 (7,5)	250

Concentração média ± Desvio padrão (Desvio padrão relativo (%); <LQ: inferior ao Limite de detecção do método - : não há referência na TACO\*- Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. As médias foram comparadas por ANOVA, usando o teste de Tukey ao nível de significância de 5 %. Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente. AMA, AMB, AMC e AMD: açúcares mascavos marcas A, B, C e D.

Logo, observa-se que para todos os valores de referência, as diferentes marcas de açúcar mascavo apresentaram concentrações dos minerais inferiores às apresentadas pela tabela TACO, apenas AMB extrapolou o valor médio para o conteúdo de cálcio (Ca). Esta amostra provém da região Sudeste, mais precisamente de São Paulo. As condições climáticas e de solo desta região são favoráveis ao cultivo, sendo a maior produtora de cana do país.

#### **4.4 Conclusões**

O método de preparo de amostra para a determinação de minerais empregando a decomposição ácida com sistema de refluxo com dedo frio, demonstrou-se eficiente para as amostras de produtos da cana-de-açúcar, o que foi comprovado pelos baixos valores de acidez remanescente, sólidos totais dissolvidos e teor residual de carbono, bem como pelo aspecto visualmente límpido da solução final e muito adequada para a introdução de amostras no MIP OES por nebulização convencional.

Devido a falta de material de referência certificado semelhante as amostras analisadas, a exatidão do método foi avaliada pela técnica de adição de analito e apresentou boas recuperações, de 80 a 119%, exceto para o Na na adição baixa, comprovando a exatidão do método proposto. Além disto, o preparo de amostra por decomposição ácida em sistema de refluxo utilizado pode ser uma alternativa mais econômica e segura que o sistema aberto, uma vez que o sistema de refluxo com dedo frio não há necessidade de substituição de ácido, gerando menos resíduo e diminuindo potenciais fontes de contaminação, o que é mais provável de acontecer em sistemas abertos.

As concentrações dos minerais nas diferentes amostras variaram conforme o grau de processamento, sendo encontrados valores superiores para as amostras menos processadas, açúcar mascavo, mel e rapadura, respectivamente. Pelo conjunto dos resultados, a metodologia desenvolvida foi eficiente para a determinação de minerais em produtos com alto teor de açúcar (diferentes tipos de açúcar, melado e rapadura).

## 5 CAPÍTULO 3 COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM PRODUTOS DA CANA-DE-AÇÚCAR DA REGIÃO SUL DO BRASIL

### 5.1 Introdução

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L), também conhecida como cana nobre, é uma das culturas mais importantes industrialmente, devido ao seu alto conteúdo de sacarose e baixo teor de fibras, sendo a principal matéria-prima (70%) para produção do açúcar, sendo que os 30% restantes provém da beterraba sacarina (KONG et al., 2015).

Para a produção industrial do açúcar, a cor é um indicador que afeta a qualidade, e durante a remoção de pigmentos, vários compostos são perdidos parcial ou totalmente, conforme o tipo de açúcar produzido. Os pigmentos presentes no caldo de cana-de-açúcar são principalmente devido a presença de alguns compostos fenólicos e de minerais (EGGLESTON, 2018; JAFFÉ, 2015).

Autores vêm estudando a composição da cana-de-açúcar e de seus produtos não refinados, com o objetivo de elucidar as propriedades funcionais que estes alimentos podem proporcionar, além da conhecida função energética. As propriedades descritas na literatura incluem atividade antioxidante, antiproliferativa, citoprotetiva e anticariogênica (PATON & DUONG, 1992; TAKARA et al., 2002; DUARTE-ALMEIDA, et al., 2007; DUARTE-ALMEIDA, et al., 2011; COLOMBO et al., 2005, JAFFÉ, 2012., KONG et al., 2015.; WEERAWATANAKORN et al., 2016). Todas estas propriedades vêm sendo correlacionadas aos compostos fenólicos presentes na cana-de-açúcar e seus coprodutos (JAFFÉ, 2015).

Os compostos fenólicos presentes no caldo da cana-de-açúcar são originados do metabolismo secundário da planta, e o grupo que mais se destaca são os flavonoides, os quais ocorrem na forma livre (aglicona) como a apigenina, luteolina, naringenina e tricina, ou como flavonas carbonoglicosiladas à açúcares (glicosídeos), e em menor extensão como fenilpropanóides (ácidos fenólicos) (COLOMBO et al., 2005; DUARTE-ALMEIDA, et al., 2011; JAFFÉ, 2015; SINGH et al, 2015; TAKARA et al., 2002).

Os compostos fenólicos, juntamente com as vitaminas C e E, e os carotenoides, são os principais antioxidantes fornecidos pela alimentação, os quais a espécie humana não produz, e são muito importantes devido à atividade antioxidante de sequestro de radicais livres, tendo efeitos positivos na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer, doenças degenerativas, dentre outros males (KONG et al., 2015).

Autores também têm pesquisado a atividade antioxidante na cana-de-açúcar e nos seus produtos, sendo que já foram identificados compostos com atividade antioxidante superior ao alfa-tocoferol (TAKARA et al., 2002).

A presença de compostos bioativos, principalmente de compostos fenólicos, em produtos da cana-de-açúcar, tem apontado que os produtos da cana-de-açúcar menos refinados, além de serem alimentos energéticos e nutritivos, têm apresentado proporcionalmente maior conteúdo destes compostos, sendo justificativas para um maior consumo destes alimentos (JAFFÉ, 2015; LEE et al., 2018).

Muitos dos compostos que conferem o aroma e sabor dos açúcares e dos produtos da cana-de-açúcar, podem se originar através das reações de Maillard durante o processamento industrial ou artesanal da cana-de-açúcar (ASIKIN et al., 2014; JAFFÉ, 2015; SEGUÍ et al., 2015).

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o conteúdo dos principais compostos bioativos, incluindo os compostos fenólicos, flavonoides e carotenoides, além da atividade antioxidante *in vitro* (DPPH e ABTS) nos produtos da cana-de-açúcar.

## **5.2 Materiais e métodos**

### **5.2.1 Reagentes e amostras**

Todos os produtos químicos utilizados nas determinações espectrofotométricas foram de grau analítico, incluindo: quercetina, ácido gálico, Folin Ciocalteu solução 2N, 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (trolox) e ácido 2, 2'azino-bis (3-etilbenzotiazolina- 6-sulfonado) (ABTS) (Sigma-Aldrich, St. Louis, 67 EUA) e metanol (Merck, Alemanha). Ainda foram utilizados etanol, carbonato de sódio

e persulfato de potássio (Vetec); acetona, éter de petróleo e cloreto de alumínio (Synth), todos com grau para análise. As amostras foram descritas no Capítulo 1 item 3.2.1.

## **5.2.2 Instrumentação**

Para as determinações espectrofotométricas foi utilizado um espectrofotômetro (mono feixe) para trabalhos na faixa visível (325-1000 nm) marca Biospectro SP-22.

## **5.2.3 Determinação dos compostos bioativos**

### **5.2.3.1 Conteúdo total de compostos fenólicos (CTCF)**

Para a determinação do CTCF foram preparadas soluções a 10% (m/v) em etanol 50% (v/v), de cada amostra. Desta solução homogeneizada, uma alíquota de 500 µL foi utilizada na reação com 2,5 mL de Folin-Ciocalteu (0,2 Eq-g L<sup>-1</sup>) e após 5 minutos, 2 mL de uma solução de carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 75 g L<sup>-1</sup>) foi adicionada. Posteriormente as amostras foram deixadas na ausência de luz por duas horas. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 760 nm, e os resultados obtidos foram relacionados com a curva padrão construída com ácido gálico na faixa de concentração entre 0 e 200 mg L<sup>-1</sup>. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes (EQ) de ácido gálico por 100 gramas de amostra (BUENO-COSTA et al., 2016).

### **5.2.3.2 Conteúdo total de flavonoides (CTF)**

Para determinação do CTF, soluções a 10% (m/v) em etanol 50% (v/v) foram preparadas e homogeneizadas. A reação foi realizada com 5 mL de tricloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>) 2% (m/v) em metanol e 5 mL de amostra. Após homogeneização, a mistura foi deixada no escuro por 30 minutos. A absorbância foi determinada a 415 nm, e a curva padrão foi construída com quercetina na faixa de concentração entre 0 e 40 mg L<sup>-1</sup>. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de quercetina (EQ) por 100 gramas

de amostra (BUENO-COSTA et al., 2016).

### 5.2.3.3 Conteúdo total de carotenoides (CTC)

A determinação do conteúdo total de carotenoides foi realizada utilizando-se 5 g de amostra, a qual foi extraída com os solventes acetona e éter de petróleo. A leitura do extrato final foi realizada em espectrofotômetro a 450 nm, usando éter de petróleo como branco. O CTC foi expresso em  $\mu\text{g g}^{-1}$  de  $\beta$ -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999) e a Equação 9 foi utilizada para o cálculo.

$$\text{Carotenoides totais } (\mu\text{g g}^{-1})^* = \frac{\text{Absorbância} \times \text{volume do extrato (mL)} \times 10^6}{2500 \times 100 \times \text{g de amostra}}$$

#### (Equação 9)

\*Expresso em  $\beta$ -caroteno.

### 5.2.4 Atividade antioxidante *in vitro*

#### 5.2.4.1 DPPH

A técnica de captura de radicais DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil) foi adaptada de outros trabalhos (BUENO-COSTA et al., 2016; LEE et al., 2018; SEGUÍ et al., 2015), onde foram testadas diferentes concentrações de soluções das amostras em etanol 50% (v/v) e de solução de DPPH, para todos os tipos de amostras.

Observou-se que ao utilizar 500  $\mu\text{L}$  da solução de cada amostra na reação com 3900  $\mu\text{L}$  de solução de DPPH em metanol ( $0,02\text{mg.mL}^{-1}$ ), obteve-se bons resultados para todos os produtos. A mistura foi homogeneizada e permaneceu durante 30 min à temperatura ambiente e, em seguida, a absorbância foi medida no comprimento de onda de 517nm. A curva padrão foi construída com trolox na faixa de concentração entre 0 e 2000  $\mu\text{M}$ . Os resultados da atividade antioxidante foram calculados através da equação da reta expressa por  $y = -0,0012 x + 0,5765$  ( $R^2=0,9902$ ), e os resultados foram expressos em  $\mu\text{M}$  de trolox  $\text{g}^{-1}$ .

#### **5.2.4.2 ABTS**

A técnica de captura de radicais ácido 2, 2'azino-bis (3- etilbenzotiazolina- 6- ácido sulfônico) (ABTS<sup>•+</sup>) foi adaptada de outros trabalhos (BUENO-COSTA et al., 2016; RE et al., 1999; RUFINO et al., 2007). O ensaio de ABTS foi feito utilizando a mesma solução utilizada no método do DPPH. Na reação foi usado 100 µL de solução e 3900 µL de solução ABTS (0,700±0,05nm), homogeneizada e deixada em repouso durante 6 minutos. A absorbância foi medida no comprimento de onda de 734 nm, e a curva padrão foi construída com trolox na faixa de concentração entre 0 e 2000 µM. Os resultados foram calculados através da equação de reta expressa por  $y = -0,0003 x + 0,6895$  ( $R^2=0,9979$ ), e os resultados foram expressos em µM de trolox.

#### **5.2.5 Análise estatística**

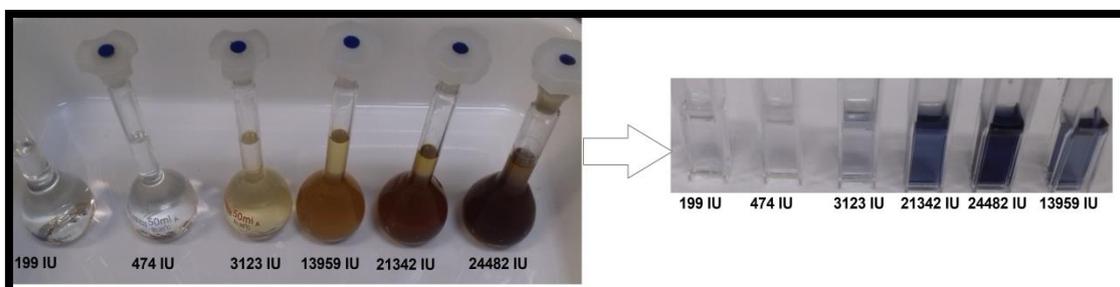
Todas as determinações foram realizadas em triplicata e expressas pela média ± desvio padrão (n=3). Os resultados foram avaliados por meio de análise estatística descritiva dos dados utilizando a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### **5.3 Resultados e discussões**

#### **5.3.1 Conteúdo total de compostos fenólicos (CTCF)**

A cor mais clara no caldo é importante para obtenção do açúcar refinado, e os compostos fenólicos são um problema na industrialização do açúcar branco e por isso são removidos no processo. No presente estudo, a quantificação dos CTCF foi baseada em uma curva de calibração de ( $Y= 0,0096 x - 0,0012$ ), apresentada no apêndice, constituída de 7 níveis de concentração, a qual apresentou coeficiente de correlação linear de 0,9930, indicando ser adequada para a quantificação dos compostos fenólicos. A Figura 15 representa a comparação visual entre a cor nas amostras (parâmetro físico-químico descrito no capítulo 1) dos diferentes produtos avaliados (AR,

AC, AD, RA, AMA e ME) e a cor obtida na reação com Folin para a avaliação do CTCF. Quanto mais intensa a coloração azul, maior a intensidade da reação colorimétrica entre os componentes da amostra e o reagente de Folin, e conseqüentemente maior o teor de compostos fenólicos.



**Figura 15.** Comparação visual de cor nas amostras e da reação de Folin na determinação do CTCF.

Fonte: o autor

Os teores de compostos fenólicos variaram significativamente de 3,01 (AC- açúcar cristal) a 279,56 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> (ME- melado), com valores de desvio padrão inferiores que 23,6 (Tabela 17).

**Tabela 17.** Conteúdo total dos principais compostos bioativos nos produtos da cana-de-açúcar (n=3).

Amostras	CTCF (mg EAG 100 g <sup>-1</sup> )	CTF (mg EQ 100 g <sup>-1</sup> )	CTC (µg β caroteno g <sup>-1</sup> )
AR	3,91 <sup>e</sup> ± 0,8	0,63 <sup>e</sup> ± 0,04	0,59 <sup>bc</sup> ± 0,003
AC	3,01 <sup>e</sup> ± 0,25	0,69 <sup>e</sup> ± 0,01	0,99 <sup>b</sup> ± 0,34
AD	11,92 <sup>e</sup> ± 0,43	1,78 <sup>e</sup> ± 0,06	0,91 <sup>bc</sup> ± 0,04
AMA	129,88 <sup>c</sup> ± 1,4	8,29 <sup>c</sup> ± 0,28	1,09 <sup>b</sup> ± 0,01
AMB	235,69 <sup>b</sup> ± 23,6	28,33 <sup>a</sup> ± 0,56	1,23 <sup>b</sup> ± 0,02
AMC	128,29 <sup>c</sup> ± 3,4	8,66 <sup>c</sup> ± 0,35	0,57 <sup>bc</sup> ± 0,04
AMD	111,92 <sup>cd</sup> ± 7,8	9,34 <sup>bc</sup> ± 0,15	0,18 <sup>d</sup> ± 0,1
RA	89,22 <sup>d</sup> ± 0,5	6,63 <sup>d</sup> ± 0,02	4,37 <sup>a</sup> ± 1,1
ME	279,56 <sup>a</sup> ± 8,5	10,18 <sup>b</sup> ± 1,08	0,73 <sup>bc</sup> ± 0,08

As médias foram comparadas por ANOVA, usando o teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna diferem estatisticamente.

AR = açúcar refinado; AC = açúcar cristal; AD: açúcar demerara; AMA, AMB, AMC e AMD: açúcares mascavos marcas A, B, C e D, RA: rapadura e ME: melado.

Outros autores relatam a mesma tendência em teores inferiores de compostos fenólicos em açúcar refinado e teores superiores nos açúcares não

refinados; 0,39 a 321,24  $\mu\text{g EAG mg}^{-1}$ , determinados em amostras de açúcar branco e açúcar mascavo, respectivamente, comercializados na Coréia do Sul (LEE et al., 2018). Em amostras de produtos da cana comercializados em Valência (Espanha), o conteúdo total de compostos fenólicos não foi detectado em açúcar branco, e foi na faixa de 0,371-0,800  $\text{mg EAG g}^{-1}$  em diferentes tipos de açúcar mascavo com diferentes colorações, 1,00-2,33  $\text{mg EAG g}^{-1}$  em rapaduras e 2,62  $\text{mg EAG g}^{-1}$  em mel de cana (SEGUÍ et al., 2015). No estudo de BARRERA et al. (2020) ao avaliar compostos fenólicos em amostras de rapaduras, melado e açúcar mascavo o teor de fenólicos variou na faixa de 0,587-3,64  $\text{mg EAG g}^{-1}$ .

Em amostras de açúcares não centrífugos de diferentes cultivares da Tailândia, o conteúdo total de compostos fenólicos variou de 2,33-13,95  $\text{mg EAG g}^{-1}$ . Diferenças no processamento, bem como a origem e cultivar da cana-de-açúcar pode ser responsável por estas diferenças (KADAM et al., 2008).

### **5.3.2 Conteúdo total de flavonoides (CTF)**

Os flavonoides são uma importante classe de produtos naturais presentes nas plantas como metabólitos secundários, e estão associados a um amplo espectro de efeitos promotores de saúde, tendo importantes atividades biológicas como atividade antioxidante, anti-inflamatório, anti-mutagênico e anti-carcinogênico (PANCHE et al., 2016). Dentre os compostos fenólicos presentes no caldo de cana-de-açúcar destacam-se os fenilpropanoides e os flavonoides. Com relação aos flavonoides, os principais são flavonas agliconas e na forma ligada (glicosiladas) como apigenina, naringenina, luteolina e tricina (DUARTE-ALMEIDA et al., 2011; WEERAWATANAKORN et al., 2016).

No presente estudo, a quantificação do CTF foi realizada utilizando uma curva de calibração ( $Y = 0,0338 x - 0,0579$ ) apresentada no apêndice, com 9 níveis de concentração de quercetina, a qual apresentou coeficiente de correlação linear de 0,9932, indicando adequada linearidade. O teor de flavonoides nas amostras analisadas foi entre 0,63 a 28,33  $\text{mg EQ } 100 \text{ g}^{-1}$  de amostra, com valores de desvio padrão inferiores ou iguais a 1,08 (Tabela 17).

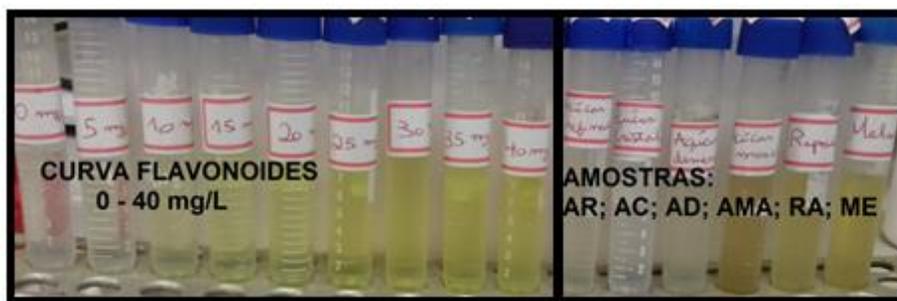
Cabe ressaltar que o teor de flavonoides é uma parcela do teor total de compostos fenólicos, uma vez que outros compostos também podem estar

presentes como alguns compostos de alto peso molecular formados pelas reações de escurecimento não enzimático e de caramelização. Além do método de Folin não ser específico e pode reagir com outros interferentes como proteínas, açúcares redutores, vitamina C e compostos gerados durante o processamento dos açúcares.

Ácidos fenólicos foram avaliados no presente estudo com o mesmo método utilizado por BUENO-COSTA e colaboradores (2016), no entanto não foi possível a quantificação. Segundo o estudo de ALMEIDA (2006) foi confirmada a perda de compostos fenólicos durante o processamento industrial do açúcar. Segundo o autor nos colmos da cana-de-açúcar foi evidenciado altas concentrações de ácido clorogênico e cumárico e baixos teores de flavonoides, no decorrer do processamento foi verificada perdas significativas de ácidos cinâmicos e aumento dos teores de flavonoides, sendo os maiores teores observados no xarope de cana e no açúcar VHP (ALMEIDA, 2006).

No estudo de BARRERA et al. (2020) ácidos hidroxicinâmicos específicos (clorogênico, cafeico, cumárico, ferúlico) e flavonas (apigenina, tricina, luteolina) foram identificadas e quantificadas nos produtos da cana. foram identificados e quantificados em produtos da cana-de-açúcar. Tricina e apigenina foram os fenólicos mais abundantes nos açúcares mascavos, ambos considerados importantes constituintes bioativos de alimentos que postulam como nutracêuticos, agentes antiproliferativos e quimiopreventivos. Alguns derivados e seus extratos também exibiram propriedades antibacterianas contra *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* (bactérias cariogênicas).

Em nosso estudo, da mesma forma que os compostos fenólicos, teores superiores de flavonóides foram encontrados na rapadura (RA), no açúcar mascavo (principalmente na amostra AMB) e no melado (ME) e teores inferiores nos açúcares refinados (AR) e cristal (AC). Importante destacar que os produtos com maior teor de compostos fenólicos também apresentaram maiores teores de flavonoides e coloração mais escura (Figura 16). Esta mesma tendência está de acordo com o relato de outros estudos (LEE et al., 2018; SEGUÍ et al., 2015; WEERAWATANAKORN et al., 2016).



**Figura 16.** Avaliação visual da cor durante o procedimento de determinação do conteúdo de flavonoides nas amostras.

Fonte: o autor.

### 5.3.3 Conteúdo total de carotenoides (CTC)

O CTC foi baixo para todas as amostras (na ordem de  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), sendo os menores valores (0,59; 0,57 e 0,18) encontrados para o açúcar refinado (AR) e o açúcar mascavo (AMC e AMD). Os maiores teores de carotenóides (1,23 e 4,37) foram determinados respectivamente no açúcar mascavo (AMB), o qual também apresentou dentre os açúcares avaliados a maior coloração (67217 UI), e na rapadura (RA) (Tabela 17).

Em geral amostras açucaradas apresentaram baixos teores de carotenoides em estudos que avaliaram carotenoides em mel de abelhas (0,56 a  $6,19 \text{ mg kg}^{-1}$ ) expressos em  $\beta$ -caroteno (BUENO-COSTA et al., 2016), e maior conteúdo no mel de laranjeira ( $4,72 \text{ mg } \beta\text{-caroteno kg}^{-1}$ ) (BOUSSAID et al., 2018). Nos açúcares da cana pode haver a perda parcial destes compostos em função da temperatura utilizada durante o processamento artesanal ou na industrialização (purificação, refino e etapas de concentração).

### 5.3.4 Atividade antioxidante *in vitro* (DPPH e ABTS)

Os resultados da atividade antioxidante *in vitro* determinados pelos métodos DPPH e ABTS estão na Tabela 18. As curvas de calibração estão no apêndice. De forma geral, as amostras dos produtos que apresentaram cor mais escura (ICUMSA), obtiveram maiores conteúdo de fenólicos, flavonoides e atividades antioxidantes, como o melado (ME) a amostra AMB. As amostras

de açúcares brancos (AC- cristal e AR- refinado) não mudaram visualmente a coloração dos reagentes DPPH e ABTS, apresentando apenas pequena alteração da absorbância registrada no equipamento; onde os valores calculados através da curva de calibração foram 10,88-9,99 e 14,03-14,08  $\mu\text{M trolox g}^{-1}$  pelo DPPH e ABTS, respectivamente. No entanto, as amostras de açúcar mascavo AMB e do melado (ME) apresentaram alta atividade antioxidante, por ambos os métodos, de 184,7-275,33 e 1087,11-1263,46  $\mu\text{M trolox g}^{-1}$  por DPPH e ABTS, respectivamente.

**Tabela 18.** Atividade antioxidante nos produtos da cana-de-açúcar (n=3).

Amostras	DPPH	ABTS
	( $\mu\text{M trolox.g}^{-1}$ )	( $\mu\text{M trolox.g}^{-1}$ )
AR	10,88 <sup>e*</sup> $\pm$ 0,64	14,03 <sup>e*</sup> $\pm$ 3,20
AC	9,99 <sup>e*</sup> $\pm$ 1,29	14,08 <sup>e*</sup> $\pm$ 3,25
AD	24,81 <sup>eb</sup> $\pm$ 1,88	234,2 <sup>da</sup> $\pm$ 11,09
AMA	104,59 <sup>db</sup> $\pm$ 0,87	495,34 <sup>ca</sup> $\pm$ 4,88
AMB	184,70 <sup>bb</sup> $\pm$ 13,95	1087,11 <sup>ba</sup> $\pm$ 17,57
AMC	108,49 <sup>db</sup> $\pm$ 3,69	498,7 <sup>ca</sup> $\pm$ 27,02
AMD	93,40 <sup>db</sup> $\pm$ 7,76	260,41 <sup>da</sup> $\pm$ 37,01
RA	131,58 <sup>cb</sup> $\pm$ 4,86	555,82 <sup>ca</sup> $\pm$ 18,14
ME	275,33 <sup>ab</sup> $\pm$ 2,31	1263,46 <sup>aa</sup> $\pm$ 76,02

As médias foram comparadas por ANOVA , usando o teste de Tukey ao nível de significância de 5 % e teste - t ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey e médias seguidas de letra maiúscula na linha não diferem pelo teste- t.

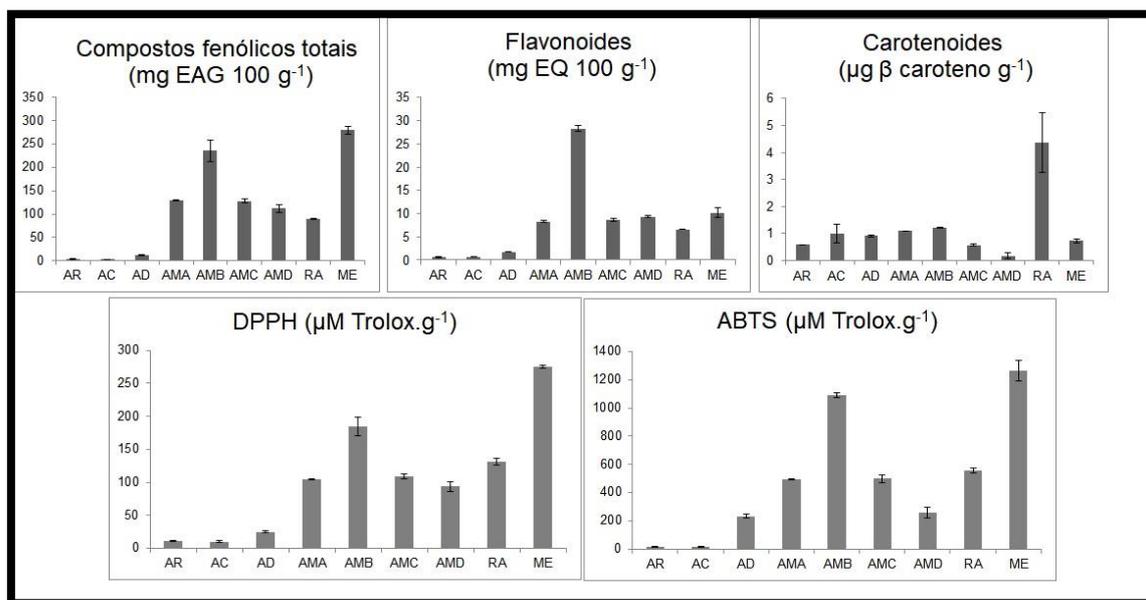
\*Amostras não significativas para o teste- t.

AR = açúcar refinado; AC = açúcar cristal; AD: açúcar demerara; AMA, AMB, AMC e AMD: açúcares mascavos marcas A, B, C e D, RA: rapadura e ME: melado.

As diferenças significativas nos resultados observados entre os métodos ABTS e DPPH (teste -t), exceto para as amostras AR e AC, podem ser em função do método ABTS ser um ensaio de descoloração aplicável a ambos antioxidantes, lipofílicos e hidrofílicos, incluindo flavonoides, hidroxicinamatos, carotenoides e antioxidantes plasmáticos (RE et al., 1999), o ensaio usando DPPH tem sido muito utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de frutas, o método apresenta vantagens quando os antioxidantes analisados são mais solúveis em solventes orgânicos, e por ser um radical livre estável e estar disponível comercialmente, o que evita sua geração por distintas formas (como

ocorre com o método ABTS) o que facilita seu uso (LIMA, 2008). Outra explicação para diferença entre os métodos pode ser em função da sensibilidade dos compostos antioxidantes em relação às espécies radicais (LEE et al., 2018).

Para uma melhor comparação visual, o conteúdo dos compostos bioativos e as atividades antioxidantes das amostras avaliadas estão apresentados na forma de gráficos na Figura 17.



**Figura 17.** Gráficos representativos do conteúdo dos compostos bioativos e da atividade antioxidante de amostras de açúcar e produtos da cana-de-açúcar.

Fonte: o autor

Relatos da literatura apontam para a atividade antioxidante de produtos da cana-de-açúcar. PAYET et al. (2005) ao avaliarem sete variedades de açúcares marrons, observaram que os extratos de diclorometano exibiram atividades antioxidantes de 14-69% frente ao radical DPPH e de 34-54% frente ao radical ABTS. INAFUKU et al. (2007) relataram a atividade antioxidante de 328-446 µmol equivalente de trolox g<sup>-1</sup> em três variedades de Kokuto (um açúcar da cana não centrifugo) no Japão. O mesmo grupo de pesquisa também demonstrou alta atividade antioxidante, de 504 µmol equivalente de trolox g<sup>-1</sup>, da fração fenólica de Kokuto (LEE et al., 2018; OKABE et al., 2009).

Importante citar também que nos produtos da cana-de-açúcar, o tratamento térmico durante o processamento pode produzir produtos da reação de Maillard, os quais podem aumentar a capacidade antioxidante, devido a formação de compostos de alto peso molecular oriundos das transformações químicas durante o processamento do açúcar, como as melanoidinas, além de outros compostos da reação de Maillard como furanos, furanonas, 5-hidroxiacetilfurfural, dentre outros, produzidos na degradação térmica dos carboidratos (JAFFÉ, 2015; SEGUÍ et al., 2015). (SEGUÍ et al., 2015). SEGUÍ et al. (2015) estudaram a influência do tratamento térmico na atividade antioxidante de produtos da cana e concluíram no estudo que o tratamento térmico não produziu uma mudança severa na capacidade antioxidante, e que as propriedades antioxidantes das rapaduras particularmente não foram afetadas. Os autores relatam no estudo que dependendo da combinação de tempo e temperatura usados no processamento, a atividade antioxidante das amostras reduziu, ou não foi afetada ou ainda apresentou um aumento. Tempos curtos e baixas a médias temperaturas podem destruir os antioxidantes naturalmente presentes nas amostras, e a intensificação do tratamento térmico poderia originar novos compostos, inclusive com maior atividade.

No presente estudo, todas as amostras de açúcar mascavo (MA), açúcar demerara (AD), rapadura (RA) e o melado (ME), apresentaram atividade antioxidante, pela ocorrência da reação com ambos reagentes DPPH e ABTS. No entanto, o melado de cana oriundo do RS (ME) e a amostra de açúcar mascavo oriunda de São Paulo (AMB), apresentaram maiores teores de todas as classes de compostos bioativos avaliados, dentre os açúcares estudados. Isto pode estar relacionado ao fato da região Sudeste reunir as características ideais para o desenvolvimento da cana. No estado do Rio Grande do Sul a Embrapa Clima Temperado vem desenvolvendo estudos de genótipos de cana que se adaptem às condições climáticas do estado, incluindo boa tolerância ao frio e ao déficit hídrico, alta produtividade e qualidade, elevado teor de açúcar e com resistência às pragas e doenças (BORGES FILHO et al., 2019).

## 5.4 Conclusões

Os resultados do presente trabalho confirmaram que os produtos não refinados da cana exibiram maior atividade antioxidante *in vitro* frente ao DPPH e ABTS, e maior conteúdo de compostos bioativos quando comparados com os produtos da cana mais refinados.

Produtos da cana-de-açúcar mais processados perdem importantes propriedades nutricionais e atividade antioxidante. Observou-se, em geral, nas amostras do açúcar mascavo oriundo de SP (AMB) e no melado maiores teores de compostos bioativos e maior atividade antioxidante.

Em geral, para a maioria das avaliações, não foram observadas diferenças significativas nas determinações entre os tipos de açúcar mascavo oriundos do estado do Rio Grande do Sul; no entanto, ao comparar com a amostra de São Paulo, foram observadas diferenças significativas.

A substituição dos açúcares refinados por açúcares não refinados pode ser uma alternativa na dieta com efeitos benéficos para a saúde, devido a presença de maior conteúdo de minerais e de compostos bioativos além de maior atividade antioxidante.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo atingiu os objetivos propostos. No 1º Capítulo, as amostras de açúcar mascavo, rapadura e melado apresentaram valores superiores de cinzas, umidade, açúcares redutores (glicose e frutose) e menores teores de sacarose, valores inferiores de parâmetros de cor (L, a e b) e superiores pelo método ICUMSA, na comparação com os açúcares industriais (refinado, cristal e demerara), os quais apresentaram a sacarose como o açúcar majoritário.

No 2º Capítulo, o método de preparo de amostra para a determinação de minerais empregando a decomposição ácida com sistema de refluxo com dedo frio, mostrou-se preciso e eficiente, o que foi comprovado pelos baixos valores de acidez remanescente, sólidos totais dissolvidos e teor residual de carbono, bem como pelo aspecto visualmente límpido da solução final e muito adequada para a introdução de amostras no MIP OES por nebulização convencional. As concentrações dos minerais nas diferentes amostras variaram significativamente, sendo encontrados valores superiores para amostras de açúcar mascavo, melado e rapadura. Pelo conjunto dos resultados, o método desenvolvido foi adequado para a determinação de minerais em produtos com alto teor de açúcar.

No 3º Capítulo, os resultados do presente trabalho confirmaram que os produtos não refinados da cana exibiram maior atividade antioxidante *in vitro* e maior conteúdo de compostos bioativos quando comparados com os produtos da cana mais refinados, os quais perdem importantes propriedades nutricionais e capacidade antioxidante. A substituição dos açúcares refinados por açúcares não refinados pode ser uma alternativa na dieta com efeitos benéficos para a saúde.

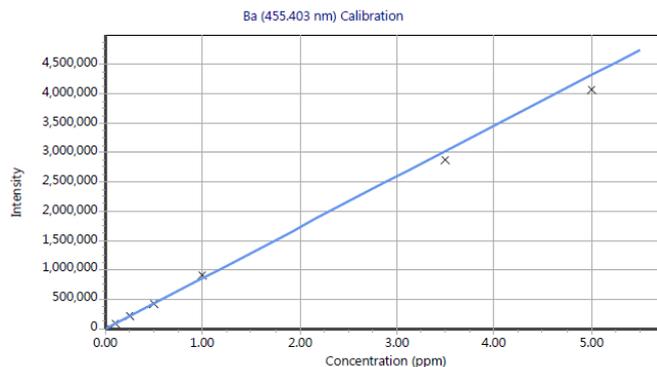
O artigo referente ao segundo capítulo foi aceito em janeiro de 2020 para publicação na revista *Analytical Methods* (DOI: 10.1039/C9AY02675D). O segundo artigo encontra-se em fase de submissão.

Ainda, pretende-se realizar um estudo futuro em parceria sobre a “Avaliação sensorial e do perfil volátil de produtos da cana da Região Sul do Brasil”.

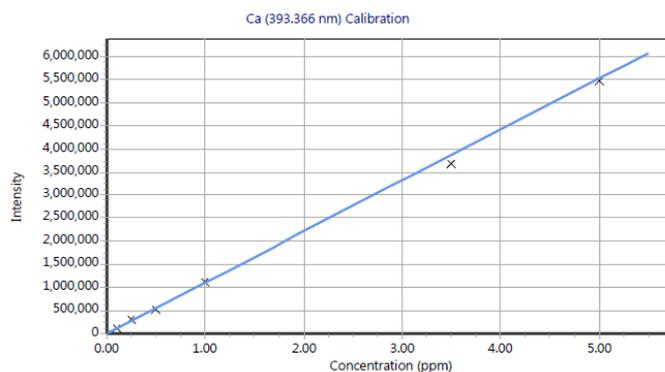
Como sugestões para trabalhos futuros: avaliação de minerais, compostos bioativos e atividades antioxidantes em produtos de mesma matéria-prima (cana-de-açúcar), estudo sobre os compostos bioativos individuais em produtos da cana-de-açúcar após preparo de amostra e determinação por Cromatografia líquida acoplada a detectores como ultravioleta ou espectrômetro de massas.

## 7 APÊNDICE

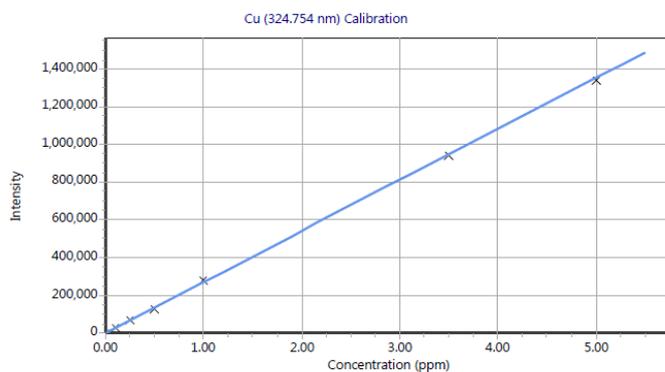
### CURVAS – MINERAIS (Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na)



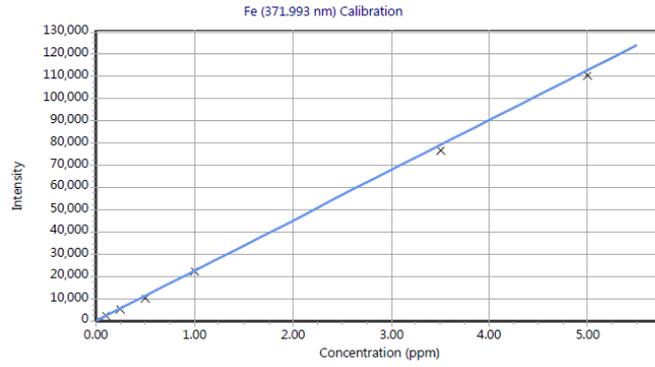
Ba (455.403 nm)  
Intensity = 863589.66 \* Concentration + 8.59  
Correlation coefficient: 0.99976



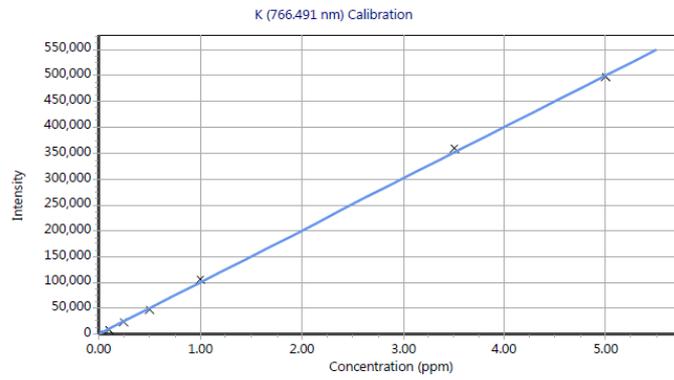
Ca (393.366 nm)  
Intensity = 1104199.27 \* Concentration + 2782.01  
Correlation coefficient: 0.99959



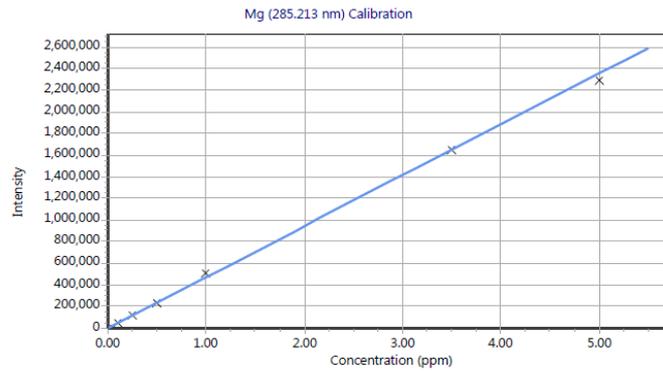
Cu (324.754 nm)  
Intensity = 270330.73 \* Concentration + 12.94  
Correlation coefficient: 0.99994



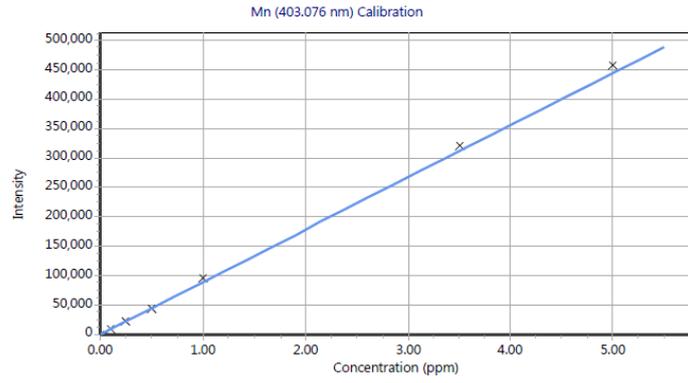
Fe (371.993 nm)  
 Intensity = 22592.90 \* Concentration - 7.95  
 Correlation coefficient: 0.99996



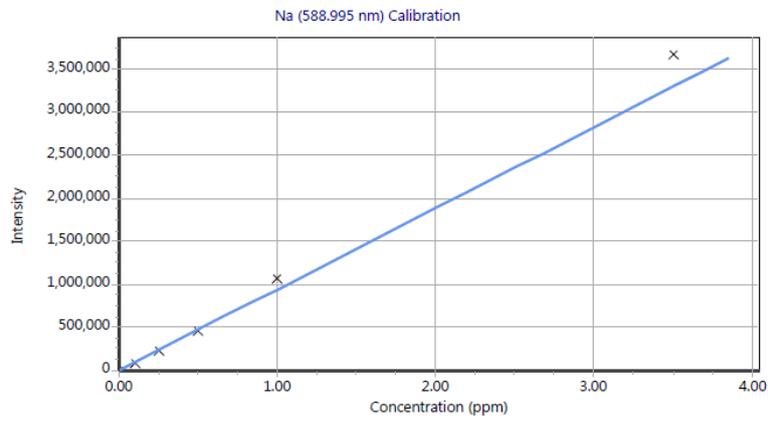
K (766.491 nm)  
 Intensity = 100229.01 \* Concentration - 53.71  
 Correlation coefficient: 0.99979



Mg (285.213 nm)  
 Intensity = 470918.14 \* Concentration + 5.61  
 Correlation coefficient: 0.99969

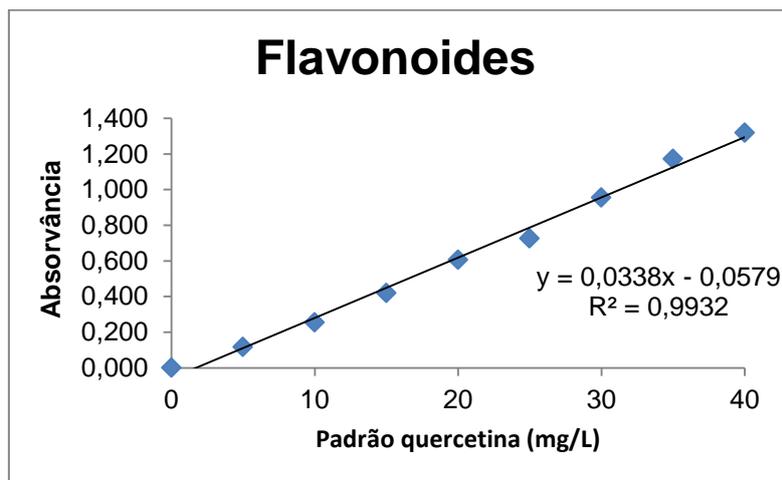
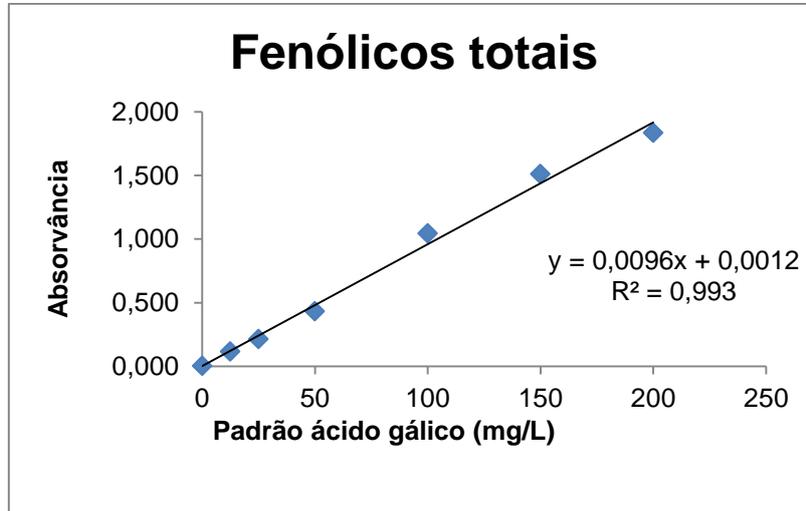


Mn (403.076 nm)  
 Intensity = 88914.57 \* Concentration - 0.26  
 Correlation coefficient: 0.99995

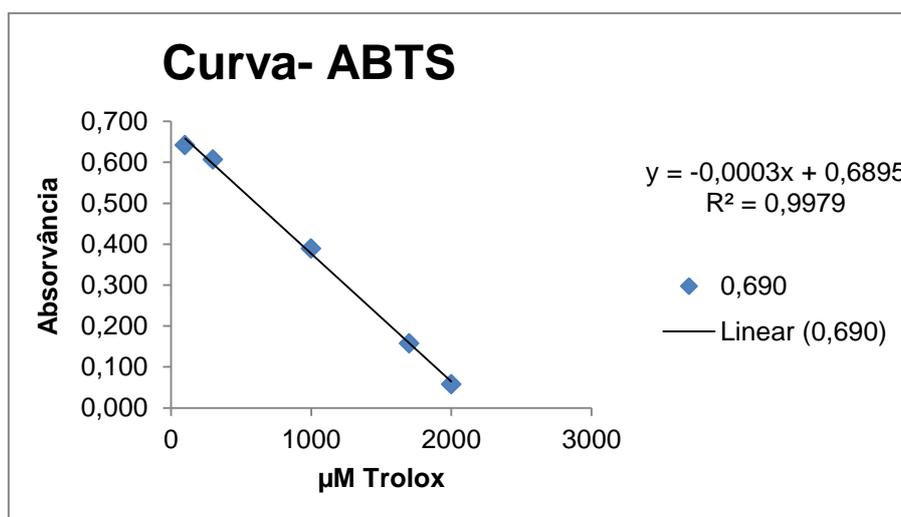
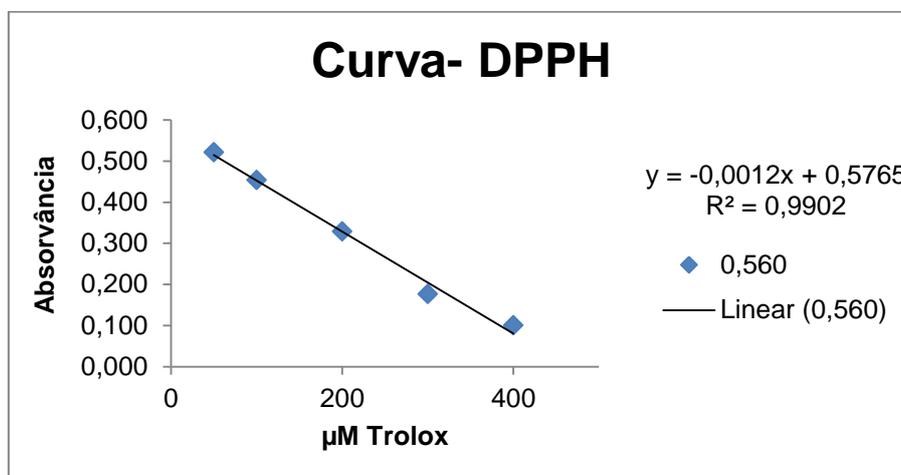


Na (588.995 nm)  
 Intensity = 941553.46 \* Concentration - 2.77  
 Correlation coefficient: 0.99980

## CURVAS- BIOATIVOS



## CURVAS – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE



## 8 REFERÊNCIAS

AGILENT TECHNOLOGIES. **Determinação de Cr, Ni, Pb e V em combustível etanol por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido por micro-ondas**, 4p. 2012. Nota disponível em <<https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-0771PTBR.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2021.

AGILENT TECHNOLOGIES. **Especificações MP-AES Agilent 4200**. 8 p., 2014. Disponível em: <<http://cn.agilent.com/cs/library/specifications/public/5991-3445PTBR.pdf>>. Acesso em: 29 jan. 2021.

AGILENT TECHNOLOGIES. **Microwave Plasma Atomic Emission Spectroscopy (MP-AES) Application eHandbook**, 2016, 167 p. Disponível em: <[https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-7282EN\\_MP-AES-eBook.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-7282EN_MP-AES-eBook.pdf)>. Acesso em: 28 dez. 2020.

ALBA, J. M. F. & FLORES, C. A. **Zoneamento edáfico da cana-de-açúcar para o Estado do Rio Grande do Sul**. Brasília: Embrapa, 2013, ISBN 978-85-7035, 80 p.

ALMEIDA, JOAQUIM MAURÍCIO DUARTE, **Flavonoides e ácidos cinâmicos de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L- Poaceae) e seus produtos. Identificação e atividade antioxidante e antiproliferativa**, 2006, Tese, Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Universidade de São Paulo, 141p.

AMAI, R. S.; DONATI, G. L.; SCHIAVO, D.; NÓBREGA, J. A. A simple dilute-and shoot procedure for Si determination in diesel and biodiesel by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 106, p. 318–322, 2013.

ANDRADE, A. R. P. **Tratamento do caldo: manual técnico da usina de açúcar Santa Terezinha**. Santana do Paraíba, 1998. Sem pag.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão, **Revista Instituto Adolfo Lutz.**, v. 66 (1), 1-9, 2007.

ANVISA (AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999: Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou

de saúde alegadas em rotulagem de alimentos.

ANVISA (a) (AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). Resolução RDC nº 271, de 22 de setembro de 2005 ementa não oficial: Aprova o **"REGULAMENTO TÉCNICO PARA AÇÚCARES E PRODUTOS PARA ADOÇAR"**.

ANVISA (b) (AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA) **REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE A INGESTÃO DIÁRIA RECOMENDADA (IDR) DE PROTEÍNA, VITAMINAS E MINERAIS"**. publicação: ANVISA – RDC de 23 de setembro de 2005.

ARAÚJO, F. D. Processo de clarificação do caldo de cana pelo método da bicarbonatação, **Revista Ciência & Tecnologia**, Ano 1, n.1, julho-dezembro 2007.

ARGENTON, A. **Conceitos Fundamentais de Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho (HPLC)**. Conselho Regional de Química – IV Região (SP). São José do Rio Preto, 2010. Disponível em: [http://www.crq4.org.br/sms/files/file/conceitos\\_hplc\\_2010.pdf](http://www.crq4.org.br/sms/files/file/conceitos_hplc_2010.pdf). Acesso em: 23 dez. 2020.

ASIKIN, Y.; KAMIYA, A.; MIZU, M.; TAKARA, K.; TAMAKI, H.; WADA, K. Changes in the physicochemical characteristics, including flavour components and Maillard reaction products, of non-centrifugal cane brown sugar during storage, **Food Chemistry**, v.149, 170–177, 2014.

BARRERA, C.; BETORET, N.; SEGUÍ. Phenolic Profile of Cane Sugar Derivatives Exhibiting Antioxidant and Antibacterial Properties. **Sugar Tech**, v. 22, n. 5, p. 798–811, 2020.

BETTANI, S. R.; LAGO, C. E.; FARIA, D. A. M.; BORGES, M. T. M. R.; VERRUMA-BERNARDI, M. R. Avaliação físico-química e sensorial de açúcares orgânicos e convencionais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, 15, 155–162, 2014.

BORGES FILHO, R. C.; STURZA, V. S.; BERNARDI, D.; CUNHA, U. S.; PINTO, A. S.; ANJOS E SILVA, S. D.; NAVA, D. E. Population dynamics of pests and natural enemies on sugar cane grown in a subtropical region of Brazil. **Florida Entomologist**, v.102, p.526-530, 2019.

BOUSSAID, A.; CHOUAIBI, M.; RESIG, L.; HELLAL, R.; DONSI, F.; FERRARI, G.; HAMDY, S. Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, n. 2, p. 265–274, 2018.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed., 1. reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014, 156 p.

BUENO-COSTA, F. M.; ZAMBIAZI, R.; BOHMER, B. W.; CHAVES, F. C.; SILVA, W. P.; ZANUSSO, J. T.; DUTRA, I. Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **LWT - Food Science and Technology**, v.65, p.333-340, 2016.

BUENO-COSTA, F. M. **Caracterização físico-química, conteúdo em bioativos e perfil volátil de méis do Rio Grande do Sul**, Tese (Doutorado), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 128f. 2016.

CANADANOVIC-BRUNET, J., CETKOVIC, G., SAPONJAC, V. T., STAJCIC, S., VULIC, J., DJILAS, S., STAJNER, D., POPOVIC, B. Evaluation of phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of Serbian honey-based product. **Industrial Crops and Products**, 62, 1–7, 2014.

CARNAUBA, R. A. Ação dos compostos bioativos dos alimentos no envelhecimento e longevidade. **Revista Brasileira de Nutrição Funcional**, v.45(80), p.08-13, 2019.

CARVALHO, R. F. **Beneficiamento dos derivados da cana-de-açúcar (melado e açúcar mascavo)**- Dossiê técnico- Rede de Tecnologia da Bahia, 2007.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A.; ABREU, H. M. C. de; ARRUDA, P.; BESPALHOK FILHO, J. C.; BURNQUIST, W. L.; CRESTE, S.; CIERO, L. di; FERRO, J. A.; FIGUEIRA, A. V. de O.; FIULGUEIRAS, T. de S.; SA, M. F. G. de; GUZZO, E. C.; HOFFMANN, H. P.; LANDELL, M. G. de A.; MACEDO, N.; MATSUOKA, S.; REINACH, F. de C.; PINTO, E. R. de C.; SILVA, W. J. da; SILVA FILHO, M. de C.; ULIAN, E. C. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): a reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil., Brazil. **Tropical Plant Biology**, v.4, p.62-89, 2011.

CHEN, J. C. P.; CHOU, C. **Cane Sugar Handbook**. A manual for cane sugar manufacturers and their chemists. 12.ed. New York John Wiley & Sons, 1120 p, 1993.

CNNPA - **Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos**. DECRETO Nº 12.486, DE 20 DE OUTUBRO DE 1978. Aprova Normas Técnicas Especiais relativas a Alimentos e Bebidas, Disponível em <<https://www.al.sp.gov.br/repositorio/legislacao/decreto/1978/decreto-12486-20.10.1978.html>>. Acesso em: 01 fev. 2021.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Editora da Unicamp, 2017. 456 p.

COLOMBO, R.; YARIWAKE, J. H.; QUEIROZ, E. F.; NDJOKO, K.; HOSTETTMANN, K. On-line identification of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) methoxyflavones by liquid chromatography-UV detection using post-column derivatization and liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1082, n. 1 SPEC. ISS., p. 51–59, 2005.

COLOMBO, R.; YARIWAKE, J. H.; MCCULLAGH, M. Study of C- and O-glycosylflavones in Sugarcane Extracts using Liquid Chromatography - Exact Mass Measurement Mass Spectrometry, **Journal of the Brazilian Chemical Society** v. 19, 483-490, 2008.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira Cana-de-Açúcar Safra 2020/2021, terceiro levantamento, dezembro/2020**. Brasília, 2020. 62 p. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>>. Acesso em: 31 jan. 2021.

CRUZ, S. H. & SARTI, D. A química do açúcar, texto do CRQ IV Região. 2011. Disponível em: <[https://www.crq4.org.br/quimicaviva\\_acucar](https://www.crq4.org.br/quimicaviva_acucar)>. Acesso em: 27 jan. 2021.

DONATI, G. L.; AMAIS, R. S.; SCHIAVO, D.; NÓBREGA J. A. Determination of Cr, Ni, Pb and Vin gasoline and ethanol fuel by microwave plasma optical emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.28, p.755-759, 2013.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; NEGRI, G.; SALATINO, A.; CARVALHO, J. E.; LAJOLO F. M. Antiproliferative and antioxidant activities of a tricin acylated glycoside from sugarcane (*Saccharum officinarum*) juice. **Phytochemistry**, v.

68, n. 8, p. 1165–1171, 2007.

DUARTE-ALMEIDA J. M.; SALATINO A.; GENOVESE M. I.; LAJOLO F. M. Phenolic composition and antioxidant activity of culms and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) products. **Food Chemistry**, 125, 660-664, 2011.

EGGLESTON, G. Positive Aspects of Cane Sugar and Sugar Cane Derived Products in Food and Nutrition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 16, p. 4007–4012, 2018.

EMBRAPA (2009) – **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**  
Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01\\_131\\_272200817517.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_131_272200817517.html)>. Acesso em 02 fev. 2021.

EMBRAPA **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Sistema de Produção da Cana-de-açúcar para o Rio Grande do Sul** / Sérgio Delmar dos Anjos e Silva... [et al.] – Pelotas : Embrapa Clima Temperado, 2016. 247 p.

FAVA, A. R. **Atletas ingerem garapa para repor energia**. Disponível em: <[http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp\\_hoje/ju/maio2004/ju250pag8a.html](http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/maio2004/ju250pag8a.html)>. Acesso em: 30 jan. 2021.

FERREIRA, S.L.C.; SILVA, L.O.B.; SANTANA, F. A.; JUNIOR, M.M.S.; MATOS, G. D.; SANTOS, W.N.L. A review of refluxe systems using cold finger for sample preparation in the determination of volatile elements. **Microchemical Journal**, v.106, p.307-310, 2013.

FLORES, E. M. M.; KRUG, F. J.; BARIN, J. S.; ARRUDA, M. A. Z. **Decomposição de materiais orgânicos por via úmida In: Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. 1 ed. Piracicaba : Edição do autor, p. 252 – 275, 2008.

FOGLIANO, V.; MONTI, S. M.; MUSELLA, T.; RANDAZZO, G.; RITIENI, A. Formation of coloured Maillard reaction products in a gluten-glucose model system. **Food Chemistry**, v. 66, n. 3, p. 293–299, 1999.

FRASER, C. M.; CHAPPLE, C. The phenylpropanoid pathway in Arabidopsis. **Arabidopsis Book**, v. 9, p. e0152, 2011.

GENEROSO, W. C.; BORGES, M. T. M. R.; CECCATO-ANTONINI, S. R.; MARINO, A. L. F.; SILVA, M. V. M.; NASSU, R. T. Avaliação microbiológica e físico-química de açúcares mascavo comerciais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo. v. 68, n. 3, p. 259-268, 2009.

GUERRA, M. J. & MUJICA, M. V. Physical and chemical properties of granulated cane sugar “Panelas”. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 30(1), 250–257, 2010.

HEREDIA, J. Z.; CINA, M.; SAVIO, M.; GIL, R. A.; CAMIÑA, J. M. Ultrasound-assisted pretreatment for multielement determination in maize seed samples by microwave plasma atomic emission spectrometry (MPAES), **Microchemical Journal**, v. 129, p. 78–82, 2016.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, 4a ed. p. 1020.

INAFUKU, M.; TODA, T.; OKABE, T.; WADA, K.; TAKARA, K.; IWASAKI, H.; OKU, H. Effect of Kokuto, a non-centrifugal cane sugar, on the development of experimental atherosclerosis in Japanese quail and apolipoprotein e deficient mice. **Food Science and Technology Research**, v. 13, n. 1, p. 61–66, 2007.

INMETRO- Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial . **Orientações sobre validação de métodos analíticos: documento de caráter orientativo**. DOQ-CGCRE-008. Rio de Janeiro, 2016.

INMETRO, s.d. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Açúcar**. Disponível em <<http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/acucar.asp>>. Acesso em: 03 fev. 2021.

INSTITUTE OF MEDICINE. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes. National Academic Press, Washington D.C., 1999 -2001.

JAFFÉ, W. R. Health Effects of Non-Centrifugal Sugar (NCS): A Review. **Sugar Tech**, v. 14, n. 2, p. 87–94, 2012.

JAFFÉ, W. R. Nutritional and functional componentes of non centrifugal cane sugar: a compilation of the data from the analytical literature, **Journal of Food**

**Composition and Analysis**, v. 43, 194-202, 2015.

JERONIMO, M. E.; ANJOS, I. A.; LANDELL, M. G. A. Açúcar mascavo: potencial de produção e diferenças em relação ao açúcar refinado. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 13, n. 1, 2016.

KADAM, U. S.; GHOSH, S.B.; STRAYO, De.; SUPRASANNA, P.; DEVASAGAYAM, T.P.A.; BAPAT, V.A. Antioxidant activity in sugarcane juice and its protective role against radiation induced DNA damage. **Food Chemistry**, v. 106, n. 3, p. 1154–1160, 2008.

KHODDAMI, A.; WILKES, M. A.; ROBERTS, T. H. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. **Molecules**, v. 18, n. 2, p. 2328-75, 2013.

KONG, F.; YU, S.; ZENG, F.; WU, X. Preparation of antioxidant and evaluation of the antioxidant activities of antioxidants extracted from sugarcane product. **Journal of Food and Nutrition Research**, 3, 458–463. 2015.

KORN M. G. A.; MORTE E. S. B.; SANTOS D. C. M. B.; CASTRO J. T.; BARBOSA J. T. P., TEIXEIRA A. P., FERNANDES A. P., WELZ B., SANTOS W. P. C., SANTOS E. B. G. N, KORN, M. Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods – a review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, p. 67–92, 2008.

KRUG, F. J. **Métodos de Preparo de Amostras: Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Piracicaba, 2008, 1. ed.,340p.

Laboratório de Técnicas Instrumentales (2016). **Espectroscopía de Plasma**. <http://laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisisquimicos/espectroscopa-de-plasma-icp-oes> in RIOS e colaboradores (2017).

LAYRISSE, M. New property of vitamin A and  $\beta$ -carotene on human iron absorption: effect on phytate and polyphenols as inhibitors of iron absorption. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 50, n. 3, p. 243-248, 2000.

LEÃO, P.R.P.; MEDINA, A.L.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A.S.; Decomposição de amostras de cerveja com sistema de refluxo para determinação monoelementar por F AAS/AES e determinação por MIP OES. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.21, p.01-11, 2018.

LEE, J. S. ; RAMALINGAM, S.; JO, I. G.; KWON, Y.S.; BAHUGUNA, A.; OH, Y. S. ; KWON, O.; KIM, M.; Comparative study of the physicochemical, nutritional and antioxidant properties of some comercial refined and non-centrifugal sugars. **Food Research International**, v.109, p.614-625, 2018.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (caryocar brasiliense, camb.)**. Tese. Doutorado em Bromatologia- Universidade de São Paulo; 2008.

LOHMANN, P. **Os minerais na alimentação**. Food Ingredients, Brasil, n. 4, 2008.

LOPES, C. H.; BORGES, M. T. M. R. **Manual de análise de açúcar: compilação, VHP, VVHP, demerara, cristal, refinado e açúcar líquido**. Araras: CCA, UFSCar, 2004. Sem paginação.

LOPES, R. K. L. C.; COUTINHO E. P.; VILELA, A. F.; MUNIZ, M. B.; LEITE, K. S.; LOPES NETO, J. H.; GOMES, A. S.; HOLANDA, H. D. Qualidade físico-química e microbiológica marcas comerciais de mel de engenho comercializadas em João Pessoa-PB, Brasil. **Revista Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 04, p. 23-26, Belo Horizonte - MG: Poisson – 2019.

LUCHINI, P. D. **Teores de nutrientes minerais e metais pesados em açúcar mascavo produzido por diferentes sistemas orgânicos e convencionais**. 2014. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)--Curso de Agroecologia e Desenvolvimento Rural, Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2014.

LUCHINI, P. D.; BETTANI, S. R.; VERRUMA-BERNARDI, M. R.; BORGES, M. T. M. R. Mineral and Metal Levels in Brown Sugar from Organic and Conventional Production Systems. **Journal of Agricultural Science**, v. 09, No. 10, p. 226-233, 2017.

MACHADO, S. S. **Tecnologia da fabricação do açúcar**. Inhumas: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, 2012. Rede E-tec Brasil.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Roca, 2003, 10 ed., 1052 p.

MALDONADO-ROBLEDO, G.; RODRIGUEZ-BUSTAMANTE, E.; SANCHEZCONTRERAS, A.; RODRIGUEZ-SONOJA, R.; SANCHEZ, S. Production of tobacco aroma from lutein. Specific role of the microorganisms involved in the process. **Applied Microbiology e Biotechnology**, v. 62, p. 484-488, 2003.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres, s. d. Disponível em <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/laboratorios/credenciamento-e-laboratorios-credenciados/legislacao-metodos-credenciados/arquivos-metodos-da-area-bev-iqua/nao-alcoolicos-14-acucares-redutores-nao-redutores-e-totais.pdf>. Acesso em 27 de fevereiro de 2021.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). **Regulamento Técnico do açúcar**, INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 47, DE 30 DE AGOSTO DE 2018. Disponível em <[https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/39939558/do1-2018-09-06-instrucao-normativa-n-47-de-30-de-agosto-de-2018-3993944](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/39939558/do1-2018-09-06-instrucao-normativa-n-47-de-30-de-agosto-de-2018-3993944)>. Acesso em: 08 dez. 2020.

MARTINS, S.; MUSSATO, S.I.; MARTÍNEZ-AVILA, G., MONTAÑEZ-SAENZ, J.; AGUILAR, C. N.; TEIXEIRA, J. A. A review: Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 365-373, 2011.

MENDONÇA, C. R., RODRIGUES, R. S., ZAMBIAZI, R. C., Açúcar mascavo em geleadas de maçã. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.6, p.1053-1058, 2000.

MILLER, D.D. Minerais. In: **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010. Cap. 8, pp. 409-444. 900p.

MORAES, F. P., & COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Vol 3(2), 109-122, 2006.

MOYNIHAN, P. J., & KELLY, S. A. M. Effect on caries of restricting sugars intake : Systematic review to inform WHO guidelines. **Journal of Dental**

**Research**, 93(1), 8–18, 2014.

NACZK M., SHAHIDI F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A** 2004; 1054 (1/2): 95-111.

NIEDZIELSKI, P.; KOZAK, K.; WACHELKA, M.; JAKUBOWSKI, K.; WYBIERALSKA J. The microwave induced plasma with optical emission spectrometry (MIP–OES) in 23 elements determination in geological samples. **Talanta**, v. 132, p. 591–599, 2015.

NOGUEIRA, F.S.; FERREIRA, K.S.; CARNEIRO JÚNIOR, J.B.; PASSONI, L.C. Minerais em melados e em caldos de cana. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 29(4): p.727-731, out/dez, 2009.

OLIZ, C. M.; LOPES, E. R.; MEDINA, A. L.; RIBEIRO, A. S.; NUNES, A. M. Determinação de metais por técnicas de Espectrometria Atômica em amostras de carvão mineral e cinzas utilizando metodologia de superfície de resposta. **Química Nova**, v.39, p.936-943, 2016.

OKABE, T.; TODA, T.; INAFUKU, M.; WADA, K.; IWASAKI, H.; OKU, H. Antiatherosclerotic Function of Kokuto, Okinawan Noncentrifugal Cane Sugar. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 69–75, 2009.

ORESTE, E. Q.; JESUS, A.; OLIVEIRA, R. M.; SILVA, M. M.; VIEIRA, M. A. RIBEIRO, A. S. C. H. New design of cold finger for sample preparation in open system: Determination of Hg in biological samples by CV-AAS. **Microchemical Journal**, v.109, p.05-09, 2013.

ORESTE, E. Q.; SOUZA, A. O.; PEREIRA, C. C.; LISBOA, M. T.; CIDADE, M. J.A.; VIEIRA, M. A.; CADORE, S.; RIBEIRO, A. S. Evaluation of Sample Preparation Methods for the Determination of Ca, Cu, Fe, K, and Na in Milk Powder Samples by ICP-OES. **Food Analytical Methods**, v.09, p.777-784, 2016.

OZBEK N.; AKMAN S. Determination of boron in Turkish wines by microwave plasma atomic emission spectrometry. **LWT - Food Science and Technology**, v.61, p.532-535, 2015.

OZBEK N.; AKMAN S. Method development for the determination of calcium, copper, magnesium, manganese, iron, potassium, phosphorus and zinc in different types of breads by microwave induced plasma-atomic emission

spectrometry. **Food Chemistry**, v.200, p.245-248, 2016.

OZBEK N.; KOCA, M.; AKMAN S. Microwave plasma atomic emission spectrometric determination of Ca, K and Mg in various cheese varieties. **Food Chemistry**, v.192, p.295-298, 2016a.

OZBEK, N.; KOCA, M.; AKMAN, S. A practical method for the determination of Al, B, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb, and Zn in different types of vinegars by microwave induced plasma optical emission spectrometry. **Food Analytical Methods**, v.9, p.2246-2250, 2016b.

OZBEK, N.; TINAS, H.; ATESPARE, A. E. A procedure for the determination of trace metals in rice varieties using microwave induced plasma atomic emission spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 144, p. 474–478, 1 Jan. 2019.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: An overview. **Journal of Nutritional Science**, v. 5, p. 1–15, 2016.

PATON N. H.; DUONG M. Sugar cane phenolics and first expressed juice colour. Part II. Concentration of phenolics in sugar cane and colour of first expressed juice. **International Sugar Journal**, 94; 205; 1992.

PAYET, B.; SING, A. S. C.; SMADJA, J. Assessment of antioxidant activity of cane brown sugars by ABTS and DPPH radical scavenging assays: Determination of their polyphenolic and volatile constituents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, 10074–10079, 2005.

PEREIRA, C. C.; SOUZA, A. O.; ORESTE, E. Q.; CIDADE, M. J. A.; CADORE, S. RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Acid Decomposition of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) Using a Reflux System for the Evaluation of Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Pb and Zn Contents by Atomic Spectrometric Techniques. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, p. 685-693, 2016.

PEREIRA, C. C.; SILVA, E., SOUZA, A. O., VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; CADORE, S. Evaluation of bioaccessibility of minerals from blackberries, raspberries, blueberries and strawberries. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 68, p. 73-78, 2018.

PINHEIRO, A. C. A.; LISBOA, M. T.; RIBEIRO, A. S.; NUNES, A. M.; YAMASAKI, A.; Avaliação da mineralização de arroz em Sistema de refluxo para determinação de Cu, Fe, Mn e Zn por FAAS. **Química Nova**, v.37, p.6-9,

2014.

PINTO, E., **Métodos Analíticos na determinação de polifenóis em frutos** (2016), disponível em <http://tmeventos.com.br/frut2016/pdfs/C7EDGARPINTO.pdf>. Acesso em: 03 fev. 2021.

PINTO, A. M. T. P.; BOEIRA, A. C. S.; LISBOA, M. T.; MEDINA, A. L.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Development of an analytical method for the determination of metals in chicken breast by Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry (MIP-OES). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Vol. 30, No. 11, 2395-2403, 2019.

PORTAL DRAUZIO VARELLA s. d., Disponível em <https://drauziovarella.uol.com.br/alimentacao/conheca-as-diferencas-entre-os-tipos-de-acucar/>>. Acesso em: 31 de jan. 2021.

PRATI, P.; CAMARGO, G. A. Características do caldo de cana e sua influência na estabilidade da bebida, **BioEng, Campinas**, v.2, n.1, p 037-044, Jan/abr, 2008.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICEEVANS, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, 26, 1231–1237.

RIOS, S. E. G.; PEÑUELA, G.A.; BOTERO, C. R.; Method Validation for the Determination of Mercury, Cadmium, Lead, Arsenic, Copper, Iron and Zinc in Fish Through Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry (MIP OES). **Food Analytical Methods**, v.10, p.3407-3414, 2017.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoids analysis in foods**. ILSI Press: Washington, 1999, 64p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. ILSI Press. USA, 2001.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., BRITO, E. S., MORAIS, S. M., SAMPAIO, C. G., PÉREZ-JIMÉNEZ, J., SAURA-CALIXTO, F. D.. Cot\_127. Comunicado Técnico EMBRAPA. 127, p. 0–3, 2007.

SAMPAIO, M. R. F. **Otimização e validação de métodos empregando QuEChERS modificado, LC-DAD e LC-ESI-MS/MS para determinação de agrotóxicos em derivados da cana-de-açúcar.** Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental). Universidade Federal do Rio Grande, RS. 121p, 2011.

SANTOS, S. N., CASTANHA, R. F., HABER, L. L., MARQUES, M. O. M., SCRAMIM S., MELO, I. S. Determinação quantitativa da atividade antioxidante de extratos brutos de microrganismos pelo método de captura de radical livre DPPH. Cot\_50. Comunicado Técnico 50, p. 1–3, ISSN 1516-8638, Jaguariúna, SP, Julho, 2011.

SBD- **Sociedade Brasileira de Diabetes.** Disponível em <<http://www.diabetes.org.br/publico/perguntas-e-respostas/592-acucar-mascavo>>. Acesso em: 05 fev. 2021.

SEGUÍ, L. Q.; CALABUIG-JIMÉNEZ, L.; BETORET, N.; FITO, P. Physicochemical and antioxidant properties of non-refined sugarcane alternatives to white sugar. **International Journal of Food Science and Technology**, v.50, p.2579-2588, 2015.

SILVA, F., CESAR, M. A. A. SILVA, C. A. B. **Pequenas Indústrias Rurais de Cana-de-açúcar: melado, rapadura e açúcar mascavo**, EMBRAPA, v. 1, p. 155, 2003.

SILVA, Anna Flavia de Souza. **Caracterização e determinação de minerais em amostras de açúcares brasileiros.** Dissertação (Mestrado) – USP/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2017. 133 p.

SINGH, A., LAL U., MUKHTAR, H., SINGH, P., SHAH, G., DHAWAN, R. Phytochemical profile of sugarcane and its potential health aspects. **Pharmacognosy Reviews**. 9.17 (January-June 2015): p45, 2015.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Oxidants and Antioxidants**, Pt A, v. 299, p. 152-178, 1999.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica.** 8 ed. São Paulo: Thomsom Learning, 2007. 1124p.

SOARES, Bruno Oliveira. **Fitotecnia: cana-de-açúcar e café: Morfologia e fisiologia da cana-de-açúcar**. Londrina - PR: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2018.

SOUZA, A. O. **Cereal matinal e infantil: concentração total, bioacessível e pré-concentração de metais por técnicas de espectrometria atômica**. 2018. 130f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

SOUZA, A. O.; PEREIRA, C. C.; JADO, B. M.; ORESTE, E. Q.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; VENDRUSCOLO, C. T.; NUNES, A. M. Determinação de Cd e Pb em amostras de goma xantana por GF AAS. **Química Nova**, v. 38, p. 209-213, 2015.

SOUZA, A. O.; PEREIRA, C. C.; HELING, A. I.; ORESTE, E. Q.; CADORE, S.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Determination of total concentration and bioaccessible fraction of metals in infant cereals by MIP OES. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.77, p.60-65, 2019.

TACO, **Tabela brasileira de composição de alimentos** / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl.. -- Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p.

TAKARA K.; MATSUI D.; WADA K.; ICHIBA T.; NAKASONE Y. New antioxidative phenolic glycosides isolated from Kokuto non-centrifuged cane sugar. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 66: 29-35, 2002.

UNICA-União da Indústria de Cana-de-açúcar. Disponível em: <<https://observatoriodacana.com.br/historico-de-producao-e-moagem.php?idMn=32&tipoHistorico=4&acao=visualizar&idTabela=2449&safr=2019%2F2020&estado=RS%2CSC%2CPR%2CSP%2CMG%2CMS%2CGO>> Acesso em: 26 dez. 2020.

VERRUMA-BERNARDI, M. R.; BORGES, M. T. M. R.; LOPES, C. H.; DELLA-MODESTA, R. C.; CECCATO-ANTONINI, S. R. Microbiological, physical-chemical and sensory evaluations of brown sugars commercialised in the city of São Carlos, Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 3, p. 205–211, 2007.

WEERAWATANAKORN, M., ASIKIN, Y., TAKAHASHI, M., TAMAKI, H., WADA, K., HO, C., CHUEKITTISAK, R. Physico-chemical properties, wax composition, aroma profiles, and antioxidant activity of granulated non-centrifugal sugars from sugarcane cultivars of Thailand. **Journal of Food Science and**

**Technology**, v. 53, n. 11, p. 4084–4092, 2016.

WILWERTH, M. W.; SILVA, C. V. N.; SOUZA, G. B.; BERNARDI, A. C. C.; LOPES, C. H.; BORGES, M. T. M. R.; VERRUMA-BERNARDI, M. R.  
Determinação de minerais e metais pesados em açúcar mascavo. In: XVII Congresso de Iniciação Científica, 2009, São Carlos. **Anais**. de Eventos da UFSCar, v. 5, p.94, 2009.

ZAMBIAZI, R. C. **Análise físico-química de alimentos**, Pelotas: Editora Universitária/ UFPel, 2010. 202p.