

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**“DETERMINAÇÃO SACARIMÉTRICA DE CALDOS E  
MELAÇOS PROVENIENTES DA CANA-DE-AÇÚCAR SEM  
ADIÇÃO DE CLARIFICANTES QUÍMICOS”**

**Elder Polo Zuza**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA TECNOLÓGICA.

**Orientador: Éder Tadeu Gomes Cavalheiro**

**São Carlos - SP  
2015**

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar  
Processamento Técnico  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Z96d Zuza, Elder Polo  
Determinação sacarimétrica de caldos e melaços  
provenientes da cana-de-açúcar sem adição de  
clarificantes químicos / Elder Polo Zuza. -- São  
Carlos : UFSCar, 2016.  
92 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de  
São Carlos, 2015.

1. Química tecnológica. 2. Polarização. 3. Sacarose.  
4. Cana-de-açúcar. I. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS


Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Programa de Pós-Graduação em Química

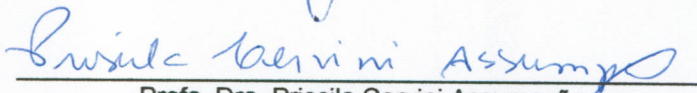
---

**Folha de Aprovação**

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Elder Polo Zuza, realizada em 22/01/2015:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Eder Tadeu Gomes Cavalheiro  
IQSC/USP

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Priscila Cervini Assumpção  
IQSC/USP

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Edénir Rodrigues Pereira Filho  
UFSCar

*Dedico este trabalho a Deus que me  
presenteou com a chance de poder realizar  
um sonho antigo: o mestrado em química.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar força e vontade em concluir esse trabalho, que é muito importante para mim.

À minha família e aos meus pais e irmãos que sempre estão comigo e através de nossa união eu pude buscar forças para chegar até aqui.

Ao Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro (IQSC/USP) pela atenção especial, orientação, dedicação e amizade que tivemos nesses anos de estudos e elaboração do projeto.

Ao Prof. Dr. Edenir Pereira Filho (DQ/UFSCar) por fazer parte da banca e também pelas excelentes aulas de Química Analítica e Quimiometria.

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho (DQ/UFSCar) pelas excelentes observações de melhoria para continuidade na elaboração do trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação de química do DQ/UFSCar por promover o programa de mestrado profissional em química, possibilitando a continuidade dos estudos durante o trabalho na indústria.

Ao Departamento de Química da UFSCar por dispor de um excelente e completo acervo de livros que me possibilitou a conclusão deste trabalho.

Ao Instituto de Química de São Carlos (IQSC/USP) por me acolher e servir como local de estudos.

Às empresas Polimate pelo início dos trabalhos e pela Metrohm na possibilidade de continuar e finalizar o mestrado.

Aos amigos das usinas Cevasa e São José da Estiva pela valiosa ajuda na complementação dos trabalhos em laboratórios.

Aos meus colegas do IQSC, Dra. Priscila Cervini Assumpção e o Dr. Willi Glen Santos pelas excelentes observações de melhoria do trabalho concedidas durante a banca examinadora.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS .....</b>	<b>07</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>10</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>13</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>14</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>15</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1 - Cana-de-açúcar .....</b>	<b>17</b>
1.1.1 Trajetória histórica da cana-de-açúcar .....	17
1.1.2 Composição tecnológica .....	17
<b>1.2 - Carboidratos.....</b>	<b>19</b>
1.2.1 Monossacarídeos .....	20
1.2.2 Dissacarídeos .....	21
1.2.3 Sacarose .....	22
1.2.4 Caldos e melaços .....	23
1.2.5 Tipos de amostras .....	25
<b>1.3 - Processo industrial de açúcar cristal e etanol carburante .....</b>	<b>25</b>
1.3.1 Recepção da cana-de-açúcar .....	26
1.3.2 Controle de qualidade – Amostragem e análise tecnológica da cana-de-açúcar .....	26
1.3.3 Preparo da cana-de-açúcar.....	27
1.3.4 Extração do caldo de cana.....	27
Moendas.....	27
Difusores .....	28
1.3.5 Produção de vapor e cogeração de energia elétrica .....	28
1.3.6 Tratamento do caldo .....	28
Sulfitação.....	29

Calagem.....	29
Aquecimento.....	30
Decantação .....	30
Filtração .....	31
Evaporação .....	31
1.3.7 Cozimento.....	31
1.3.8 Cristalização .....	31
1.3.9 Centrifugação .....	32
1.3.10 Secagem de açúcar cristal.....	32
1.3.11 Processos fermentativos .....	32
<b>1.4 - Métodos para determinação de sacarose e sua importância.....</b>	<b>33</b>
Polarimetria na região do visível (589 nm) .....	33
Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIR) .....	35
1.4.1 Escala Internacional do Açúcar (°Z) .....	36
1.4.2 Medidas polarimétricas .....	36
Ondas eletromagnéticas.....	37
Radiação de luz polarizada.....	38
Rotação óptica.....	38
Determinação sacarimétrica por polarização convencional .....	39
<b>1.5 - Polarimetria NIR: características e vantagens da técnica.....</b>	<b>40</b>
<b>1.6 – Revisão bibliográfica.....</b>	<b>41</b>
<b>2.OBJETIVOS .....</b>	<b>51</b>
<b>2.1 - Objetivos do trabalho .....</b>	<b>51</b>
<b>3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>52</b>
<b>3.1 - Reagentes e consumíveis.....</b>	<b>52</b>
<b>3.2 - Instrumentação .....</b>	<b>53</b>
3.2.1 Padronização de acessórios .....	54

3.2.2	Calibração com utilização da placa de quartzo .....	54
3.2.3	Correção de temperatura.....	54
<b>3.3</b>	<b>- Procedimento experimental .....</b>	<b>56</b>
3.3.1	Diluições .....	56
3.3.2	Preparo das amostras .....	57
3.3.3	Validação do método polarimétrico NIR .....	57
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>59</b>
4.1	- Avaliação de desempenho do método NIR .....	59
4.2	- Viabilidade econômica e meio ambiente .....	68
4.3	- Teste de robustez do Método NIR .....	71
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>84</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>87</b>



## LISTA DE ABREVIATURAS

a: rotação específica à temperatura da solução ou amostra

$A_{20}$ : rotação específica corrigida a 20°C

a.C.: antes de Cristo

AR: açúcares redutores do caldo

ARC: açúcares redutores da cana-de-açúcar

atm: unidade de pressão atmosférica

ATR: açúcar total recuperável

Bé: grau baumé

Brix: porcentagem de sólidos dissolvidos

(C): coeficiente de transformação da Pol do caldo extraído em Pol do caldo absoluto

c: concentração

CONSECANA: Conselho dos Produtores de Cana-de-açúcar, Açúcar e Álcool

$C_6H_6O_6$ : fórmula molecular do ácido aconítico

$C_6H_8O_7$ : fórmula molecular do ácido cítrico

$C_6H_{11}O_6$ : fórmula molecular da glicose

$C_7H_6O_3$ : fórmula molecular do ácido silícico

$C_{12}H_{22}O_{11}$ : fórmula molecular da sacarose

$CH_3CH(OH)COOH$ : fórmula molecular do ácido láctico

CNTP: Condições Normais de Temperatura e Pressão

D (+): substância dextrógira

(F): fibra da cana-de-açúcar

(FE): fase estacionária

(FM): fase móvel

HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência

$HO_2CCO_2H$ : fórmula molecular do ácido oxálico

ICUMSA: Comissão Internacional de Métodos Uniformes para Análises de

Açúcar

INMETRO: Instituto de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

INPM: Instituto Nacional de Pesos e Medidas

IP: índice de preparo da cana desfibrada

ISS: escala Internacional do Açúcar

Kcal: quilocaloria

Kgf cm<sup>-2</sup>: quilograma força por centímetro quadrado

L (-): substância levógira

*l*: comprimento da célula de medição ou tubo polarimétrico

LAl: leitura sacarimétrica com clarificante a base de alumínio

*m/m*: razão massa/massa

MW.: massa molar

Pb(OH)COOH: fórmula molecular do acetato de chumbo

PBU: peso do bolo úmido da cana desfibrada

PC: pol (% sacarose *m/m*) da cana-de-açúcar

pH: potencial hidrogeniônico

Pol: polarização, expressa porcentagem de sacarose em peso

NIR: infravermelho próximo

nm: nanômetros

*v/v*: razão volume/volume

°Z: unidade da Escala Internacional do Açúcar

(+): sentido horário

(-): sentido anti-horário

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>: rotação óptica

[ $\alpha$ ]: rotação específica

$\lambda$ : comprimento de onda

$\Phi$ : rotação óptica do plano de polarização segundo Fresnel

®: marca registrada

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição genérica do caldo de cana .....	18
Tabela 2.	Característica e composição química da Celite .....	52
Tabela 3.	Detalhamento dos tipos de melaços e suas diluições .....	56
Tabela 4.	Resultados da determinação de sacarose do caldo misto .....	71
Tabela 5.	Resultados da determinação de sacarose do caldo clarificado.....	72
Tabela 6.	Resultados da determinação de sacarose do xarope.....	72
Tabela 7.	Resultados da determinação de sacarose da massa A .....	73
Tabela 8.	Resultados da determinação de sacarose da massa B .....	73
Tabela 9.	Resultados da determinação de sacarose do magma.....	74
Tabela 10.	Resultados da determinação de sacarose do mel A.....	74
Tabela 11.	Resultados da determinação de sacarose do mel B.....	75
Tabela 12.	Resultados da determinação de sacarose do mel final .....	75
Tabela 13.	Gastos com clarificantes nas análises de Pol utilizando o método visível .....	76
Tabela 14.	Gastos com clarificantes nas análises de Pol utilizando o método infravermelho .....	77
Tabela 15.	Resultados da determinação de sacarose pelos dois métodos, por analistas diferentes para amostras de caldo misto.....	80
Tabela 16.	Resultados da determinação de sacarose pelos dois métodos, por analistas diferentes para amostras de caldo clarificado .....	81
Tabela 17.	Resultados da determinação de sacarose pelos dois métodos, por analistas diferentes para amostras de xarope .....	82
Tabela 18.	Resultados da determinação de sacarose pelos dois métodos, por analistas diferentes para amostras de massa A.....	83
Tabela 19.	Resultados da determinação de sacarose pelos dois métodos, por analistas diferentes para amostras de massa B.....	84

Tabela 20. Resultados da determinação de sacarose pelos dois métodos, por analistas diferentes para amostras de magma .....	85
Tabela 21. Resultados da determinação de sacarose pelos dois métodos, por analistas diferentes para amostras de mel A .....	86
Tabela 22. Resultados da determinação de sacarose pelos dois métodos, por analistas diferentes para amostras de mel B.....	87
Tabela 23. Resultados da determinação de sacarose pelos dois métodos, por analistas diferentes para amostras de mel final.....	88
Tabela 24. Resultados da leitura sacarimétrica intra-dias pelos dois métodos para amostras de caldo misto .....	89
Tabela 25. Resultados da leitura sacarimétrica intra-dias pelos dois métodos para amostras de xarope .....	90
Tabela 26. Resultados da leitura sacarimétrica intra-dias pelos dois métodos para amostras de mel final.....	90

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Composição tecnológica da variedade SP87-396.....	20
Figura 2.	Fórmula estrutural da sacarose .....	22
Figura 3.	Exemplo de dissacarídeo .....	21
Figura 4.	Representação esquemática do sistema óptico do sacarímetro digital .....	34
Figura 5.	Plano de vibração da radiação de luz natural .....	37
Figura 6.	Radiação de luz polarizada.....	38
Figura 7.	Gastos com Clarificantes .....	69
Figura 8.	Gastos com Celite .....	70

# DETERMINAÇÃO SACARIMÉTRICA DE CALDOS E MELAÇOS PROVENIENTES DA CANA-DE-AÇÚCAR SEM ADIÇÃO DE CLARIFICANTES QUÍMICOS

## RESUMO

Este trabalho visa efetuar análises instrumentais para quantificação do teor de sacarose em caldos e melaços industriais da cana-de-açúcar usando o método de polarização, como alternativa aos métodos atuais, com a vantagem de não utilizar clarificantes químicos de classe industrial, realizando medidas com radiação de luz polarizada em 880 nanômetros. Amostras provenientes dos processos de extração, tratamento, evaporação e cozimento, foram usadas e os resultados obtidos comparados com os resultados resultantes do método convencional. No procedimento proposto, os clarificantes químicos são substituídos pelo auxiliar de filtração Celite<sup>®</sup> [SiO<sub>2</sub>], com vantagens em termos de custo por análise e menor geração de resíduos, implicando também em vantagens ambientais. A amostragem foi limitada à disponibilidade de amostras e tempo de operadores e as comparações feitas pelas médias e os desvios padrão, para cada amostragem. Essas médias foram comparadas usando ferramentas estatísticas como o teste t-Student pareado, além de medidas inter e intra-dias para avaliar a robustez do método proposto. Diferentes operadores também foram envolvidos em determinações nas mesmas amostras com as duas metodologias para avaliar a reprodutibilidade dos resultados.

# **SACCHARIMETRIC DETERMINATION IN SUGAR JUICE AND MOLASSES FROM SUGARCANE WITHOUT ADDITION OF CHEMICAL CLARIFIER AGENTS**

## **ABSTRACT**

This work aims to evaluate the performance of an alternative procedure for the instrumental determination of sucrose in industrial sugar cane juices and molasses, using the polarization method as an alternative procedure that do not involves clarifying agents, taking data at 880 nm. Samples from extraction, treatment, evaporation and cooking were used to compare the results from the present proposed method and the conventional one. In the proposed procedure, the filtering auxiliary Celite® [SiO<sub>2</sub>] replaced the chemical clarifying agent, with advantages concerning costs and lower waste generation, resulting in diminished environmental impact. Sampling was limited to the availability of samples and of operators and the comparisons were performed using the average values as well as the standard deviations, based on paired t-Student test. Inter e intra-day assays were taken to evaluate the robustness of the proposed procedure. Different operators were involved in the measurements with both procedures in order to evaluate the reproducibility of the measurements and accuracy of the proposed method.

## 1 - INTRODUÇÃO

As usinas de açúcar e álcool no Brasil utilizam uma grande quantidade de clarificantes químicos para determinar a concentração de sacarose nos caldos e melaços industriais de seus respectivos processos, pois a sacarose é o principal parâmetro de qualidade tecnológica da cana-de-açúcar, caldos e melaços, representando a substância diretamente cristalizável no processo de fabricação de açúcar, ou que sofre inversão microbiológica para produção de etanol. Assim, há a necessidade de se efetuar monitoramentos e controles rotineiros que sejam capazes de avaliar e quantificar a sacarose.

No início do século XX, praticamente todas as usinas sucroalcooleiras do Brasil utilizavam a mesma metodologia para determinação da sacarose em caldos e melaços com a utilização do acetato de chumbo  $Pb(OH)COOH$ , como clarificante. Entretanto, sua utilização foi proibida em meados do ano 2000 pelo Ministério do Meio Ambiente, tendo em vista sua alta toxicidade e a não disponibilidade de locais adequados para seu descarte após o seu uso nos laboratórios. A destinação desse produto é a incineração em forno de alta temperatura ou caldeiras de alta pressão, porém, há a geração de material particulado que pode ficar em suspensão, tornando-se um agravante na qualidade do ar.

Após a proibição da utilização do acetato de chumbo,  $Pb(OH)COOH$ , houve a necessidade da utilização de outros reagentes que executassem a mesma função de clarificante químico. Foi, então, proposta uma mistura de cloreto de alumínio,  $AlCl_3$  e hidróxido de cálcio,  $Ca(OH)_2$  para tal função. Durante essa alteração, percebeu-se que a mistura clarificante é sensível à umidade e também há a necessidade de usar maior quantidade de produto para se obter um efeito similar àquele do acetato de chumbo, no processo de clarificação.



Com esses problemas foram desenvolvidos clarificantes químicos de baixa toxicidade, com efeito de clarificação semelhante ao acetato de chumbo, para a determinação de sacarose em caldos e melaços, mas tais produtos apresentam custo mais elevado que gera aumento de cada análise.

Depois de várias tentativas para obtenção de clarificantes com baixa toxicidade, alto efeito de clarificação e baixo custo, foram realizados diversos estudos para se desenvolver um sacarímetro digital automático que fosse capaz de realizar medições sem a utilização de clarificantes químicos, buscando assim, a redução de custos e resíduos laboratoriais. Com base nisso, na década de 90, diversas usinas introduziram métodos baseados na espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) para quantificação de sacarose em caldos, mas, devido à complexidade para obtenção dos modelos de calibração e também de operação, devido aos softwares com certa complexidade, esta técnica praticamente foi abolida do setor sucroalcooleiro e desacreditada por diversos órgãos certificadores de qualidade da cana-de-açúcar.

Com os problemas apresentados pela espectroscopia de infravermelho próximo nos laboratórios sucroalcooleiros, em meados de 2005, foram lançados no Brasil alguns modelos de sacarímetros digitais automáticos com duplo comprimento de onda, sendo 589 nm para o método visível e 880 nm para o método NIR, no qual, o último foi testado pouquíssimas vezes em usinas para análises de polarização em caldos de cana, caldos industriais e melaços.

Em 2007, foram realizados alguns testes para determinação de sacarose em caldos de cana, mas sem sucesso devido à falta de concordância entre os resultados das leituras sacarimétricas e Pol para uma possível validação do método de polarimetria por infravermelho próximo.

Em 2011, novamente realizam-se diversos testes com o sacarímetro digital automático e a Celite Rosa, mas agora para caldos e melaços industriais, assim obtendo resultados mais coerentes que possibilitaram a validação do método. Durante os testes, foi possível medir e quantificar a sacarose por

polarimetria NIR desde o caldo primário até o mel final, no qual foram realizados comparativos com o método convencional, pois neste trabalho propõem-se a mudança do método visível (589 nm) para o método NIR (880 nm).

## **1.1 Cana-de-açúcar**

A cana-de-açúcar é uma planta da família das gramíneas, espécie *Saccharum officinarum* composta por folhas, colmos, raízes e eventualmente flores, cultura na qual é utilizada para obtenção de açúcar e etanol devido à sacarose contida em seu caule.

### **1.1.1 Trajetória histórica da Cana-de-açúcar**

As incertezas históricas sobre a idade da cana-de-açúcar e a origem, fizeram com que vários historiadores atribuíssem uma única certeza sobre a cana-de-açúcar: a sua origem asiática. Estima-se que inicialmente foi introduzida na China por volta de 800 *a.C.*, havendo relatos de sua expansão ocidental chegando à Índia e à Pérsia, o que ocorreu por uma expedição militar persa do Imperador Dario à Índia dada em 510 *a.C.*

Em 327 *a.C.*, Alexandre “O Grande” comprovou o consumo da cana-de-açúcar na Índia. Seu almirante Nearchos disse que havia encontrado “uma **cana** que fazia o mel sem abelhas”, e os escribas observaram os hindus enquanto mastigavam a gramínea.

Com a descoberta do Brasil, a Cana-de-Açúcar foi trazida para a América, onde as primeiras mudas foram introduzidas em 1532, na expedição de Martim Afonso de Souza. Aqui a planta espalhou-se no solo fértil com a ajuda do clima quente e úmido.

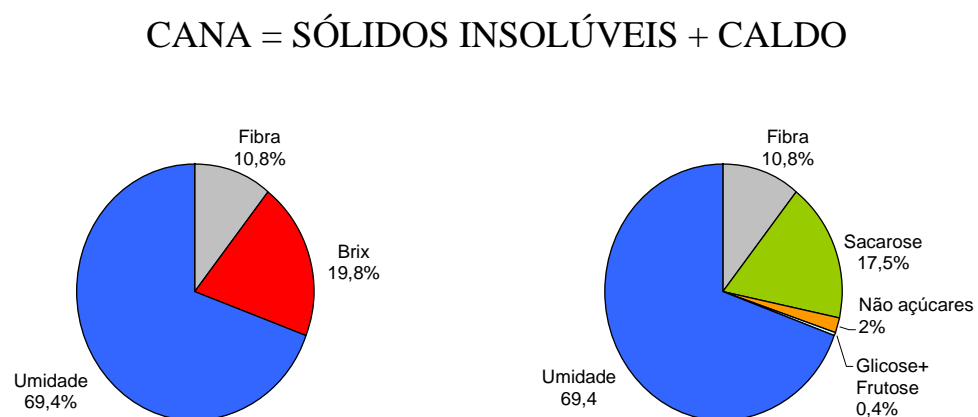
Principalmente por causa de invasões estrangeiras no Brasil, o Rei D. João III dividiu as terras pertencentes a Portugal em capitânicas hereditárias, nas quais a mais importante na época do ciclo da cana era a Capitania de Pernambuco que

pertencia a Duarte Coelho, onde foi implantado o primeiro centro açucareiro do Brasil, seguida pela Capitania da Bahia de Todos os Santos, de Francisco Pereira Coutinho. Por outro lado, as capitanias de São Vicente (São Paulo) e São Tomé (Rio de Janeiro) estavam mais distantes da metrópole e dos portos europeus, o que encarecia o transporte de açúcar, fato que não impediu que a cultura também se estabelecesse nessas áreas.

O Brasil, representado pelo Nordeste e muito pouco por São Vicente, teve papel importante na revolução causada pelo uso generalizado do açúcar no século XVI. No século XX, com o declínio da cultura do café, a área canavieira se intensificou principalmente no interior paulista.

### 1.1.2 Composição tecnológica

A qualidade da cana-de-açúcar como matéria-prima industrial pode ser definida como uma série de características intrínsecas da própria planta, mas em relação ao aspecto tecnológico, os colmos são constituídos de caldo e por sólidos insolúveis em água (Figura 1). Daí a origem da fórmula básica da tecnologia açucareira:



**Figura 1:** Composição tecnológica da variedade SP87-396

**Fonte:** CTC, Centro de Tecnologia Canavieira (dados não publicados).

Os sólidos insolúveis em água são representados pela fibra da cana, enquanto que o caldo é a umidade da cana e os sólidos solúveis totais correspondem aos açúcares presente no caldo (sacarose, glicose e frutose) e não açúcares (orgânicos e inorgânicos), sendo que a medição de sólidos solúveis é denominada *brix* (Fernandes, 2003). Assim,

$$\text{CALDO} = \text{SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS} + \text{ÁGUA}$$

Basicamente a cana-de-açúcar é constituída por sacarose, se não se levar em consideração a umidade (água). A sacarose é a substância de interesse utilizada para a produção de açúcar e etanol, sendo também o principal componente tecnológico industrial do caldo que é processado nas usinas e destilarias conforme mostra a TABELA 1.

**TABELA 1: COMPOSIÇÃO GENÉRICA DO CALDO DE CANA**

<b>COMPOSIÇÃO DO CALDO</b>	<b>SÓLIDOS SOLÚVEIS %</b>
Açúcares	75 – 92
Sacarose	70 – 80
Glicose	2 – 4
Frutose	2 – 4
Sais	3,0 – 4,5
Ácidos Inorgânicos	1,5 – 4,5
Ácidos Orgânicos	1,0 – 3,0
Ácidos Carboxílicos	1,1 – 3,0
Aminoácidos	0,5 – 2,5
Ceras, gorduras e fosfatídeos	0,05 – 0,1

Proteínas	0,5 – 0,6
Amido	0,001 – 0,01
Gomas	0,30 – 0,60

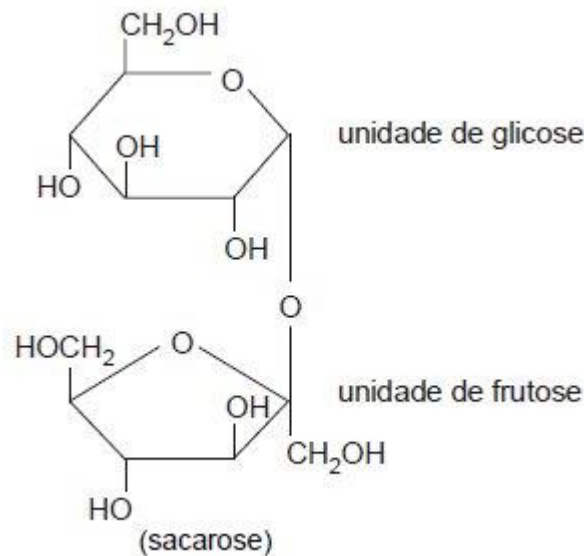
**Fonte:** E. Hugot – *Manual para Ingenieros Azucareros, 1986*

## 1.2 Carboidratos

A palavra **carboidrato** historicamente deriva do fato de que a glicose, o primeiro carboidrato simples a ser obtido puro, apresenta fórmula molecular  $C_6H_{12}O_6$  e, originalmente, acreditava-se que era um “hidrato de carbono”  $C_6(H_2O)_6$ , apesar de que essa visão logo foi abandonada, o nome permaneceu. Atualmente, o termo *carboidrato* é utilizado para se referir livremente à ampla classe de aldeídos e cetonas poli-hidroxilados comumente chamados de açúcares. (John McMurry, 2011).

Os carboidratos também são conhecidos como hidratos de carbono, glicídios, glicidos, glucídeos, glúcidos, glúcides, sacarídeos ou simplesmente açúcares, assim, são definidas como moléculas poli-hidroxi-aldeídos e poli-hidroxi-cetonas ou substâncias que liberam estes compostos por hidrólise, onde muitos carboidratos, com poucas exceções, apresentam fórmulas empíricas  $(CH_2O)_n$  e outros podem conter átomos de nitrogênio, fósforo ou enxofre. (Lehninger, 2006).

As classificações dos carboidratos variam conforme sua composição química, ou seja, dependem dos números de átomos de carbono existentes na molécula. A sacarose (Figura 2), é classificada como um *oligosacarídeo*, pertencente ao grupo dos *dissacarídeos*, os quais são compostos por dois *monossacarídeos*.



**Figura 2:** Fórmula estrutural da sacarose.

### 1.2.1 Monosacarídeos

São carboidratos com menor massa molar, ou seja, o número de átomos de carbono em sua molécula pode variar de 3 a 7, pois possuem estrutura relativamente simplificada em relação aos dissacarídeos, são solúveis em água e não sofrem hidrólise.

Os carboidratos mais conhecidos desse gênero são as moléculas de glicose e frutose respectivamente, ou seja, são carboidratos mais simples e, quimicamente, são aldeídos ou cetonas contendo um ou mais grupos hidroxila na molécula (Lehninger, 2006).

Os monossacarídeos são compostos incolores, sólidos cristalinos, solúveis em água, insolúveis em solventes apolares, constituída por uma cadeia carbônica não-ramificada nas quais todos os átomos de carbono estão unidos entre si por ligações covalentes simples e podem ser classificados de acordo com o número de átomos de carbono existentes na estrutura molecular:

3 Carbonos: *trioses*;

4 Carbonos: *tetroses*;

5 Carbonos: *pentoses*;

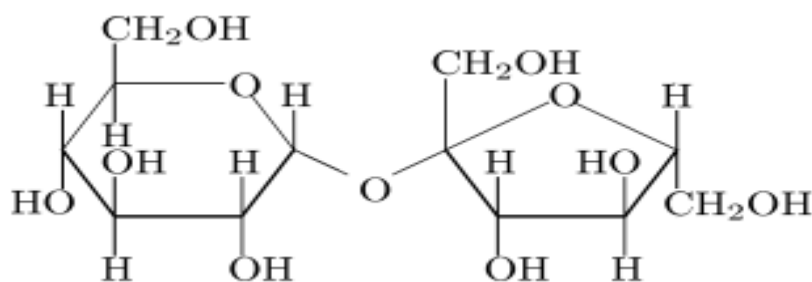
6 Carbonos: *hexoses*;

7 Carbonos: *heptoses*.

### 1.2.2 – Dissacarídeos

São compostos orgânicos constituídos por duas unidades de monossacarídeos que também podem ser chamados de *dissacarídios* ou *dissacáridos* unidos por uma ligação glicosídica (Figura 3). A variação entre as unidades de monossacarídeos garante a formação de uma grande diversidade de dissacarídeos que podem ser sintetizados pelos seres vivos.

Quando ocorre a ligação de dois monossacarídeos para formar um dissacarídeo, processo conhecido como *síntese por desidratação*, pois uma molécula de água é perdida, mas quando duas moléculas menores se ligam para formar uma molécula maior, a água é formada e removida simultaneamente.



**Figura 3:** Exemplo de dissacarídeo: sacarose

A sacarose é o dissacarídeo mais conhecido, sendo explorada de forma comercial a partir da cana-de-açúcar ou cana-da-índia (*Saccharum officinarum*), e constituída por dímeros de *glucopirranose* e *frutofuranose* que, durante o processo digestivo, têm suas ligações glicosídicas quebradas por hidrólise resultando nos monossacarídeos. A hidrólise nesse caso pode ser de classe química através da aplicação de ácidos ou bases e também de classe enzimática,

essa sendo utilizada a aplicação de enzimas com a finalidade de quebrar a ligação glicosídica.

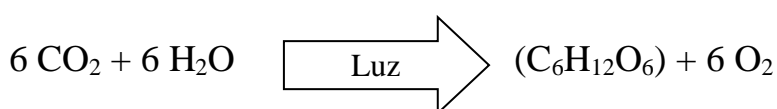
Os dissacarídeos como a sacarose, são constituídos por dois monossacarídeos unidos covalentemente entre si por uma ligação *O*-glicosídica, a qual é formada quando um grupo hidroxila de uma molécula de açúcar reage com o átomo do carbono anomérico da outra molécula de açúcar. (Lehninger, 2006).

### 1.2.3 Sacarose

Composto orgânico que pertence ao grupo dos carboidratos que basicamente são constituídos por carbono, hidrogênio e oxigênio combinados de acordo com a fórmula molecular  $C_{12}H_{22}O_{11}$ .

Todas as plantas e grande parte das frutas (banana, laranja, maçã entre outras) produzem sacarose por fotossíntese, processo natural, no qual consiste em transformar a luz solar em energia. Entretanto, somente a cana-de-açúcar e a beterraba produzem sacarose suficientemente para produção industrial de açúcar cristal.

A fotossíntese é processo pelo qual as plantas clorofiladas, entre elas a cana-de-açúcar, converte gás carbônico do ar e da água em material orgânico, usando energia luminosa, ou seja, na presença de luz, as plantas e as cianobactérias consomem  $CO_2$  e  $H_2O$ , produzindo  $O_2$  e carbono na forma de carboidrato, conforme a reação representada na Figura 5.



A sacarose é um dissacarídeo que produz um equivalente de glicose e um equivalente de frutose na hidrólise. Essa mistura de 1:1 de glicose e frutose geralmente é chamada de *açúcar invertido* porque o sinal de rotação óptica se inverte, ou se modifica, durante a hidrólise da sacarose ( $[\alpha]_D = +66,5$ ) para uma



mistura de glicose/frutose ( $[\alpha]_D = -22,0$ ). Diferente da maior parte dos dissacarídeos, a sacarose não é um açúcar redutor e não sofre mutarrotação, pois a sacarose não é um hemiacetal, sugerindo que a glicose e a frutose devem ser glicosídeos. (John McMurry, 2011).

#### 1.2.4 Caldos e melaços

O *Caldo Industrial* é uma solução diluída de sacarose que contém sólidos dissolvidos e em suspensão (de 11 a 15 °Brix), presença de bagacilhos e corantes, sendo obtidos através de moendas e difusores existentes no setor de extração da cana-de-açúcar, das indústrias sucro-alcooleiras.

Os caldos industriais são divididos em:

- *Caldo Misto*: é um líquido turvo, possui cor verde ou verde castanho e sua composição varia de acordo com os constituintes da cana-de-açúcar e a forma que é realizada o processo de extração.

O caldo misto possui diversas substâncias em sua composição química: a sacarose, os açúcares redutores e os íons  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Na^+$  e  $H^+$ , se encontram em solução molecular e em equilíbrio eletrolítico com os anions dos ácidos inorgânicos e orgânicos entre eles fosfórico ( $H_3PO_4$ ), cítrico ( $C_6H_8O_7$ ), sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), silícico ( $C_7H_6O_3$ ), clorídrico (HCl), oxálico ( $HO_2CCO_2H$ ), láctico ( $CH_3CH(OH)COOH$ ), aconítico ( $C_6H_6O_6$ ) entre outros.

Nas matérias no estado coloidal se encontram substâncias orgânicas e inorgânicas, tais como gomas, proteínas, corantes, argilas e compostos de silício, ferro e alumínio.

- *Caldo prensado (último terno)*: é um líquido turvo com presença de bagacilho, no qual podem ser encontrados os mesmos constituintes presentes no caldo misto, porém em menores quantidades, pois o caldo prensado possui aproximadamente 80% de água.

- *Caldo clarificado*: é o caldo misto após o processo de clarificação, no qual a cal é o material mais comumente usado, sendo efetiva na separação de compostos coloridos de natureza insolúvel.

- *Bagaço*: subproduto ou resíduo da moagem da cana-de-açúcar é uma fibra lenhosa, constituída de 50% de fibra e a outra metade de água e sólidos solúveis sendo substâncias orgânicas de alta massa molar que geralmente é utilizado como combustível de caldeiras de alta pressão.

- *Torta*: é um resíduo proveniente da extração do caldo de cana-de-açúcar, o qual contem entre 1,2 a 1,8% de fósforo e cerca de 70% de umidade com presença considerável de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) e nitrogênio (N).

Os melaços também são soluções açucaradas, mas apresentam, em média uma maior concentração de sólidos totais dissolvidos, em relação aos caldos industriais (em torno 85 °Brix), pois trata-se de um produto que já foi submetido à evaporação (perda de água) em meio ao processo industrial e sob condições específicas.

Os melaços são obtidos em diferentes etapas do processo, sendo divididos em:

- *Xarope*: apresentam brix na faixa de 65 a 70%, pois valores inferiores de brix consistem em excesso de água, que durante o processo de cozimento, ocasiona o aumento do tamanho do grão de açúcar e conseqüentemente poderá haver intensificação da cor.

- *Magma*: são misturas de cristais de açúcar provenientes da centrifugação da massa “B” com xarope, caldo clarificado e água que são utilizados como “*pé de cozimento*”<sup>1</sup>. A pureza do magma deve ser a mais alta possível (92 - 92%), pois influência diretamente na qualidade do açúcar cristal devido à variação de cinzas e filtrabilidade.

- *Massas cozidas (A, B e C)*: produto resultante da concentração do xarope ou mel constituído de cristais de açúcar, em média possui 80% de pureza.

---

<sup>1</sup> *Pé de cozimento*: fração de uma mistura de caldos e melaços

- *Mel Rico (A)*: produto resultante da centrifugação da massa cozida do 1º efeito do processo de cozimento.

- *Mel Pobre (B)*: produto resultante da centrifugação da massa cozida do 2º efeito do processo de cozimento.

- *Mel Final (ou residual)*: produto obtido da massa cozida final de baixa pureza (35-40%), geralmente é diluído na faixa de 18 a 22º brix e destinado ao sistema de fermentação para produção de etanol combustível.

- *Mosto*: é um líquido açucarado proveniente do caldo da cana-de-açúcar ou da diluição do mel final que pode ser fermentado, pois são necessários cuidados em relação à concentração de sólidos solúveis (Brix), pH e acidez total.

### **1.2.5 Tipos de amostras**

Ao longo do processo industrial de extração da cana-de-açúcar, são obtidas amostras de diferentes tipos de caldos industriais e melaços, no qual são divididos por etapas para se efetuar um controle de amostragem mais efetivo.

Os caldos industriais e melaços são coletados durante o processo, em pontos de amostragem estratégicos e previamente subdivididos em laboratório da seguinte maneira:

- 1) Extração: Caldo primário, caldo misto, caldo clarificado, caldo filtrado, bagaço e torta do filtro;
- 2) Fábrica: xarope, massa A, massa B, magma, mel A, mel B e mel final;

### **1.3 Processo industrial de açúcar cristal e etanol combustível**

No setor sucroalcooleiro, os processos industriais podem variar ou modificar de uma unidade industrial para outra, pois são influenciadas por diversas variáveis regionais e diferenças de projetos nas etapas de cada

processo, com isso demonstrando uma grande diversificação desde a moagem de cana-de-açúcar até a produção de açúcar cristal e etanol combustível.

Em geral, cada etapa do processo sucroalcooleiro pode ser atribuída com modificações específicas com o intuito de melhoria e adaptação do projeto original, tais como, utilização e disponibilidade de captação de água, vapor e energia elétrica respectivamente, assim se mostrando ser um processo dinâmico e flexível, porém de alta complexidade.

Ao decorrer deste trabalho foram usadas amostras de vários setores e etapas da produção, motivo pelo qual decidiu-se descrever as diversas etapas do processo.

### **1.3.1 Recepção da cana-de-açúcar**

A cana-de-açúcar inteira ou picada chega até a usina transportada por caminhões com carrocerias adaptadas. Antes da amostragem é feita a pesagem do caminhão carregado e posteriormente vazio, para quantificar a massa de cana-de-açúcar que foi entregue a unidade industrial.

A entrega da cana-de-açúcar na unidade industrial é de inteira responsabilidade do fornecedor que deve realizá-la conforme prazos estabelecidos pelo CONSECANA (Manual do CONSECANA-SP, 2005).

### **1.3.2 Controle de qualidade - Amostragem e análise tecnológica da cana-de-açúcar**

A amostragem mecânica é realizada por uma sonda horizontal ou oblíqua, localizada geralmente após a balança ou no próprio laboratório de pagamento de cana (PCTS), sendo necessária sua homologação junto ao CONSECANA-SP para operação na unidade industrial. Com uso dessa sonda, são realizadas três perfurações em pontos diferentes da carga, procurando-se obter a melhor representatividade da amostragem e a padronização do peso da amostra final.

A resultante da mistura das amostras simples é preparada em desintegradores para desfibrar os bastões da cana-de-açúcar e o material desintegrado deverá apresentar um índice de preparo (IP) de 88-92%, sendo que posteriormente a amostra desintegrada é homogeneizada em betoneiras adaptadas com raspador, de maneira a impedir a retenção de amostra no fundo do tambor. (CONSECANA-SP, 2005).

### **1.3.3 Preparo da cana-de-açúcar**

Nesta etapa existe processo de limpeza da cana-de-açúcar inteira, sendo a lavagem com água quente caçada (pH= 8,0 – 10,0) para remoção de impurezas minerais e vegetais, tais como excesso de terra, areia e palha.

### **1.3.4 Extração do caldo de cana**

O setor de extração do caldo da cana-de-açúcar é uma etapa básica para produção de açúcar cristal e etanol carburante, pois consiste em separar água e os sólidos dissolvidos da fibra tendo como objetivo secundário a produção do bagaço final de baixa umidade (< 50%) visando à produção de energia mecânica na forma de vapor de água a alta pressão, em consequência para a co-geração de energia elétrica.

Existem dois processos que são utilizadas pelas unidades industriais, sendo a moagem realizada por ternos de moendas com eficiência de extração em torno de 96% e a outra por difusores de extração com eficiência de extração de até 98%.

### **Moendas**

Os ternos de moendas ou unidades esmagadoras são constituídos por quatro cilindros dispostos de tal modo que formam um triângulo geometricamente isósceles, sendo os cilindros inferiores com eixos fixos que giram no sentido horário a uma determinada rotação.

## **Difusores**

A difusão consiste na condução da cana-de-açúcar desfibrada em equipamentos industriais conhecidos como difusores, com o intuito de remover a sacarose adsorvida ao material fibroso por lixiviação ou em lavagem de contra corrente, sistema visando reduzir a quantidade de água utilizada no processo de extração através de uma operação de retorno do caldo diluído extraído, com isso, ao final da operação, o bagaço se apresenta esmagado ao máximo, efetua-se a lavagem do mesmo com água. O líquido obtido dessa lavagem contém baixa concentração de sacarose que foi extraída do bagaço é usado na lavagem anterior e assim sucessivamente.

### **1.3.5 Produção de vapor e co-geração de energia elétrica**

As caldeiras são as responsáveis pela produção de vapor através da queima do bagaço proveniente da cana-de-açúcar, pois nas unidades industriais o consumo de energia elétrica é demasiado, havendo a necessidade da co-geração.

Em média as caldeiras produzem vapor de água com pressão a 21 Kgf.cm<sup>-2</sup> e temperatura de aproximadamente 300 °C, sendo utilizado no acionamento de turbinas a vapor, transformando energia térmica em energia mecânica para movimentar picadores, desfibradores, moendas entre outros.

### **1.3.6 Tratamento do caldo**

O caldo resultante da extração pelas moendas ou pelo difusor, geralmente denominado de caldo misto passa por dois tipos de tratamento, sendo o físico e o químico.

- *Tratamento físico*: consistem na remoção de impurezas mais grosseiras provenientes da cana-de-açúcar, tais como, terra, areia e bagacilhos, utilizadas peneiras (estáticas, vibratórias e rotativas) para retenção desses sólidos.

- *Tratamento químico*: consiste na remoção ou eliminação de impurezas presentes na forma de compostos solúveis, coloidais, insolúveis ou em suspensão, processo denominado de clarificação, que consiste basicamente em promover a coagulação e floculação do material em suspensão e posteriormente remove-los no processo de decantação.

Dentre as etapas de clarificação do caldo existem a sulfitação e a calagem que tem como objetivos eliminar não-açúcares, colóides, diminuir cor, turbidez e cálcio ( $\text{Ca}^{++}$ ), por fim controlar o pH do caldo de modo a evitar inversão de sacarose ou decomposição dos açúcares redutores.

### **Sulfitação**

Este processo consiste em adicionar dióxido de enxofre ( $\text{SO}_2$ ) ao caldo, sendo na forma líquida ou gasosa (gás sulfuroso), obtido na combustão direta do enxofre (400 a 450°C).

A finalidade da sulfitação é reduzir a acidez do caldo para favorecer a precipitação e eliminação de albuminas e proteínas, formar complexos com açúcares redutores impedindo a formação de cor e sua decomposição, diminuição da viscosidade do caldo e conseqüentemente a viscosidade de massas e méis no processo de produção de açúcar cristal, com isso facilitando a cristalização da sacarose.

Na sulfitação, a faixa operacional utilizada de temperatura é aproximadamente de 70 a 75°C visando acelerar o processo de cristalização do sulfito de cálcio ( $\text{Ca SO}_3$ ).

### **Calagem**

Consiste na adição de cal hidratada ou leite de cal [ $\text{Ca}(\text{OH}_2)$ ] ao caldo sulfitado, cuja concentração deve ser de aproximadamente 4 a 8 °Bé (Baumé).

A calagem tem função importante no tratamento do caldo, pois auxilia na precipitação e arraste de compostos solúveis e insolúveis, no entanto,

também coagula material coloidal, com isso aumentando a eficiência na floculação.

Em condições normais de operação, o caldo clarificado deve apresenta-se ligeiramente ácido, com pH de 6,7 a 7,1, que é suficiente para se produzir açúcar cristal de boa qualidade, caso contrário, é necessário elevar o pH até 7,5 a 7,7, para melhorar o processo de decantação, mas com atenção especial, pois em  $\text{pH} > 8,0$  ocorre hidrólise da sacarose e intensificação da cor no açúcar cristal.

### **Aquecimento**

O caldo clarificado é aquecido à temperatura de 103 a 105°C, aquecedores ou trocadores de calor, nos quais o caldo passa pelo interior dos tubos, enquanto há circulação de vapor na parte externa, assim, havendo a troca térmica.

Os principais objetivos do aquecimento do caldo são para acelerar as reações de coagulação e floculação dos colóides e não açúcares protéicos, emulsificação de graxas e ceras existentes, além da eliminação de gases dissolvidos na tentativa de aumentar a eficiência no processo de decantação.

### **Decantação**

Durante os processos de sulfitação, calagem e aquecimento do caldo misto respectivamente, ocorrem diversas reações que ocasionam na aglomeração de impurezas constituídas de partículas com maior tamanho e densidade. Após essas etapas se faz necessário retirar todas as impurezas indesejáveis através do processo de decantação.

A decantação, também chamada de clarificação é a etapa de purificação do caldo pela remoção das impurezas floculadas nos tratamentos anteriores. O caldo livre das impurezas é chamado de caldo decantado que segue



para o processo de evaporação, enquanto as impurezas são denominadas de lodo que são enviadas a etapa de filtração.

### **Filtração**

O lodo produzido nos decantadores passa pelo processo de filtração através de filtros rotativos, para recuperação da sacarose nele contida. Dessa forma, separa-se o caldo filtrado que fica retido no filtro, onde o mesmo retorna ao processo, já a torta produzida é utilizada como adubo na lavoura.

### **Evaporação**

Constitui no primeiro estágio de concentração do caldo clarificado proveniente da etapa de tratamento, ou seja, tem por finalidade retirar parte da água contida no caldo clarificado, tornando-o um líquido mais espesso, após redução de 85% para aproximadamente 40% de água, através de evaporadores. O caldo concentrado obtido é denominado de xarope.

#### **1.3.7 Cozimento**

O xarope é enviado ao setor de cozimento, que representa outra etapa de concentração do caldo, mas com a formação de cristais em virtude da precipitação da sacarose dissolvida na água.

O cozimento é feito em equipamentos denominados cozedores que são semelhantes aos evaporadores, no entanto se obtém cristais de açúcar envolvidos em solução açucarada (massa cozida) com concentração entre 90 a 95 °Brix a temperatura de 58 a 65 °C.

#### **1.3.8 Cristalização**

A massa cozida obtida do setor de cozimento é enviada aos cristalizadores que a resfriam lentamente com o auxílio de água, com isso consegue-se recuperar parte da sacarose que ainda estava contida no mel

proveniente de sua deposição nos cristais já existentes, com consequente aumento no tamanho dos mesmos.

### **1.3.9 Centrifugação**

A massa cozida que sai dos cristalizadores segue para as centrifugas ou turbinas que promovem a separação do açúcar, resultando como subproduto dessa etapa o mel, que posteriormente será removido e, em seguida, retorna aos cozedores.

O açúcar descarregado das centrifugas apresenta alto teor de umidade entre 0,5 a 2% e temperatura elevada de 65 a 95 °C.

### **1.3.10 Secagem de açúcar cristal**

Os cristais de açúcar seguem para o setor de secagem em tambores rotativos com ar quente em contracorrente com o açúcar a ser seco. Este açúcar pode ser comercializado como cristal, ou sendo utilizado para a fabricação de outros produtos, tais como, açúcar invertido, líquido ou refinado.

### **1.3.11 Processos Fermentativos**

#### **- Preparo do mosto**

Ao contrário do que ocorre na fabricação de açúcar, o caldo que servirá como matéria-prima na produção deve ser resfriado utilizando um trocador de calor em contracorrente com água fria até atingir a temperatura de aproximadamente 28 °C.

O mosto é uma solução de açúcar que pode ser preparada a partir de méis, caldo misto e água de modo que a mistura apresente uma concentração de 16 a 22 °Brix.

#### - Preparo do fermento

Normalmente nas destilarias brasileiras, utiliza-se o processo de fermentação *Melle-Boinot*, que consiste basicamente na recuperação de leveduras através da centrifugação do vinho bruto e que posteriormente passa por tratamento específico antes de retornar ao processo fermentativo.

Para propiciar condições ótimas de fermentação e evitar a infecção bacteriana o fermento é submetido ao tratamento que consiste na adição de água para reduzir o teor alcoólico e de ácido sulfúrico concentrado até chegar ao pH de 1,8 a 2,2, gerando assim uma mistura denominada “pé-de-cuba”.

### **1.4 Métodos para determinação de sacarose e sua importância**

Como já foi dito na Introdução dessa dissertação, o controle analítico no setor sucroalcooleiro tem como sua principal análise a determinação de sacarose que é utilizada posteriormente para quantificar a taxa de produção em açúcar cristal e etanol combustível.

Segundo levantamentos teóricos (HAMERSK, 2009), a determinação da sacarose por polarimetria tem como fundamento a etapa de clarificação, pois quando a clarificação é correta se tem a remoção completa dos não açúcares e o teor de sacarose é mantido, assim facilitando sua quantificação quando utilizado o método da polarimetria visível.

Dentre os diversos métodos utilizados para determinação da sacarose, temos como padrão e oficial a utilização da polarimetria (ICUMSA GS1/2/3/9-1, 2009), uma técnica antiga, mas eficiente e que perdura até os dias de hoje devido à facilidade de operação dos instrumentos, o custo para realização das análises e, também, pela exatidão do método utilizado.

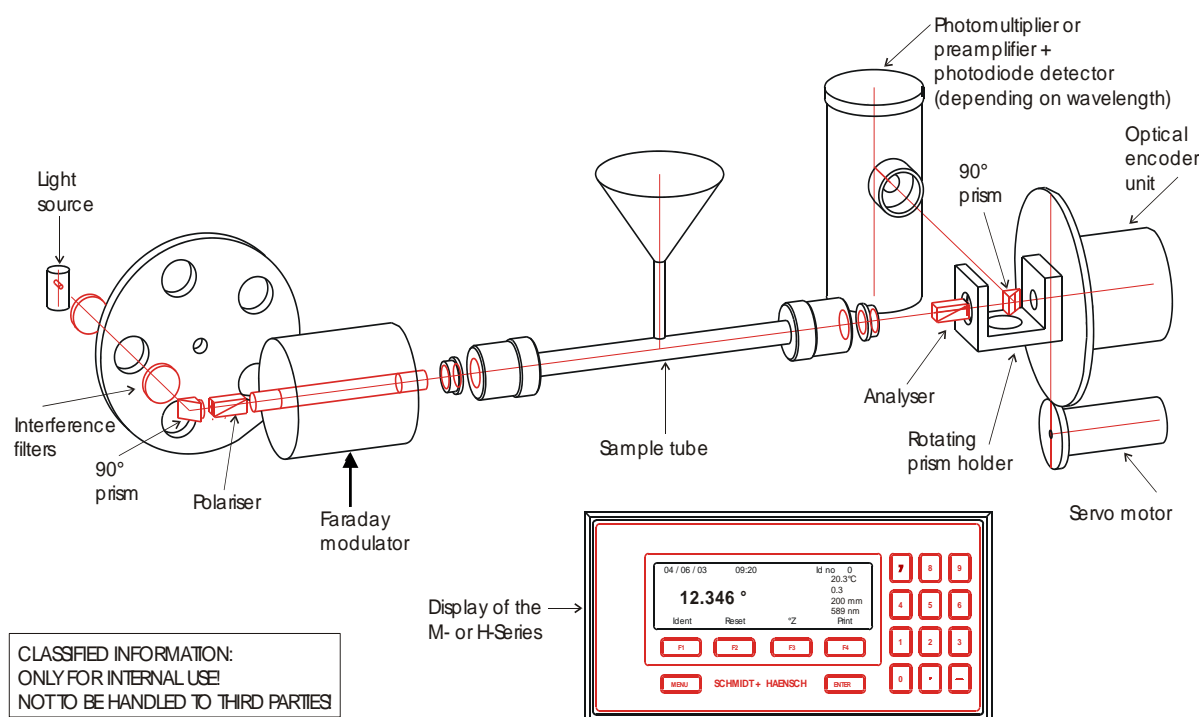
#### **Polarimetria na região do visível (589 nm)**

A Polarimetria constitui uma das mais antigas técnicas de análise instrumental, que consiste basicamente na medida do desvio do plano de

vibração da radiação de luz polarizada quando intersectada por substâncias opticamente ativas. (WILLARD, 1979).

Substâncias opticamente ativas apresentam a propriedade de girar o plano da radiação de luz polarizada devido à falta de simetria em sua estrutura molecular ou cristalina, denominando-se rotação *dextrógira* (+) para o desvio de rotação no sentido horário e *levógira* (-) para desvio de rotação no sentido anti-horário. (EWING, 1914).

Nesse caso, a medição da atividade óptica é realizada por um polarímetro (Figura 4), que pode ser construído com um monocromador, de forma que se possa determinar a rotação óptica, rotação específica e escalas de açúcares ( $^{\circ}Z$ ), em comprimentos de ondas específicos, como por exemplo, a 589 nanômetros.



**Figura 4:** Representação esquemática do sistema óptico do sacarímetro digital

**Fonte: Schmidt+Haensch**

A rotação óptica depende da espessura de amostra atravessada pela radiação de luz polarizada, do comprimento de onda, temperatura,

concentração, devendo a obtenção dos resultados das medidas polarimétricas ser realizadas sob parâmetros padronizados, tais como, caminho óptico (em geral de 200 mm), comprimento de onda de linha amarela do sódio (589 nm / 5890 angstroms) e temperatura corrigida a 20°C.

Seguindo a citação do método ICUMSA GS1/2/3/9-1 (2009) a rotação óptica é a soma algébrica dos efeitos predominantes do teor de sacarose da amostra, modificado pelas presenças de outros constituintes opticamente ativos e pelo processo de clarificação, na qual esta é uma análise física que envolve três passos básicos:

- Preparação da solução ou amostra com adição de clarificantes;
- Clarificação da solução e filtração;
- Determinação da polarização através da medição da rotação óptica da amostra clarificada.

### **Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIR)**

Espectroscopia no Infravermelho próximo (NIRS) é uma técnica simples, rápida, com tempo de análise < 30 s, não destrutiva e que fornece análise de vários constituintes em praticamente qualquer matriz com os níveis de exatidão e precisão que são comparáveis aos métodos de referência primários. Como outro grande benefício, as análises no infravermelho próximo não necessitam de preparação ou manipulação das amostras com produtos químicos, solventes ou reagentes perigosos. Portanto, a NIRS, compõe o grupo de técnicas livres de reagentes e que se utilizam da química verde, razão pela qual é uma contribuição analítica exemplar para a Agência de Proteção Ambiental (EPA). Os espectros registrados pelo NIR nas amostras e seus constituintes, contém uma variedade de informações físicas e químicas, incluindo tamanho da partículas.

Deve notar-se, no entanto, que os espectros de absorção NIR são muitas vezes complexos e normalmente apresentam bandas de absorção largas e sobrepostas, que requerem procedimentos especiais matemáticos para análises de dados. Os procedimentos de identificação e qualificação por NIR, que são um pré-requisito para análise quantitativa, podem ser feitos usando-se um espectro de amostra para fazer referência a espectros de materiais conhecidos.

A quantificação é feita por meio de modelos matemáticos, chamados de análise multivariada de dados, um procedimento quimiométrico. Como a calibração e validação espectral dos dados medidos por NIR está correlacionada através de métodos estatísticos para referenciar dados, isso o torne um método analítico secundário.

#### **1.4.1 Escala Internacional do Açúcar (°Z)**

A Escala Internacional do Açúcar (ISS) tem como referência a rotação específica de uma solução normal de sacarose pura, preparada a partir de 26,0160 g pesadas sob pressão reduzida e dissolvidas em 100 mL de água destilada a 20°C, a qual equivale a uma solução de 26,0000 g de sacarose pesadas no ambiente (ar) a Condições Normais de Temperatura e Pressão, conforme a CNTP, ou seja, 20°C de temperatura e 1 atm de pressão.

Em 1932, quando a ICUMSA se reuniu em Amsterdã, definiu-se o valor de 34,620° para rotação óptica equivalente ao ponto 100 da escala dos sacarímetros que trabalham com as lâmpadas de sódio. (ICUMSA, 1936)

#### **1.4.2 Medidas polarimétricas**

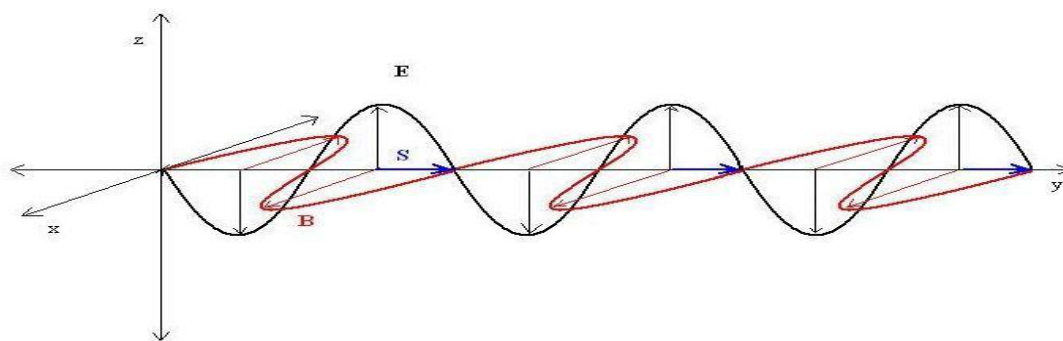
Substâncias orgânicas opticamente ativas apresentam a capacidade de girar um plano mediante a luz polarizada, assim ocorre com a molécula de sacarose, cuja solução padrão de 26,0000g 100mL<sup>-1</sup>, provoca uma rotação de 66,5°.

Nas usinas de açúcar e etanol são utilizados sacarímetros digitais previamente calibrados em 589 nm, que convertem a rotação óptica em °Z

utilizando a Escala internacional do Açúcar, isso para que, através da leitura sacarimétrica obtida, seja possível calcular a Pol (% sacarose em peso) dos caldos e melaços que serão analisados.

### **Ondas eletromagnéticas**

Uma onda eletromagnética polarizada tem seu campo elétrico oscilando somente em uma direção (HALLIDAY, 1991), pois a mesma é polarizada na direção y, o que significa que as vibrações do vetor campo elétrico (E) e do vetor campo magnético (B) são paralelas a essa direção em todos os pontos ao longo da onda, conforme representa a Figura 5.



**Figura 5:** Plano de vibração da radiação de luz natural

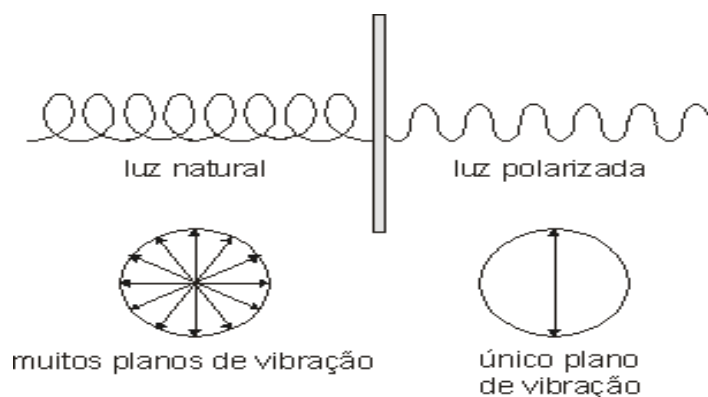
**Fonte:** HALLIDAY, 1991.

O plano definido pela direção de propagação (eixo x) e a direção de polarização (eixo y) é chamado de plano de vibração.

A radiação eletromagnética vibra transversalmente ao eixo de propagação do feixe em planos por todas as direções, onde se considera que o feixe de radiação passa através de um modulador de Faraday ou polarizador, em que o feixe emergente vibra em apenas um plano, no qual se denomina plano polarizado.

## Radiação de luz polarizada

A luz, sendo um fenômeno eletromagnético composto de dois campos oscilantes, sendo um elétrico e outro magnético perpendiculares entre si e também perpendiculares à direção de propagação do feixe luminoso, proporciona a ocorrência de vibrações em infinitos planos, à medida que estes campos se propagam. Para selecionar ou filtrar a luz ordinária é necessário um dispositivo chamado Polarizador, o qual interage com o campo elétrico de tal modo que esse campo fique oscilando somente em um único plano



**Figura 6:** Radiação da luz polarizada

**Fonte:** CALDAS, 2005

## Rotação óptica

O fenômeno da atividade óptica é conhecido desde o último século, através dos trabalhos de Arago, Biot, Fresnel e Pasteur (SNATZKE, 1967). A atividade óptica de uma medida específica é atribuída ao fato que esta medida tem diferentes índices de refração para a radiação de luz polarizada, o que significa que a velocidade da radiação de luz polarizada circular da esquerda é diferente da radiação de luz polarizada circular da direita.

Esta diferença nos índices de refração é expressa pela equação de Fresnel:

$$\Phi = \pi / \lambda \cdot (n_l - n_r)$$

na qual:

$\Phi$  é a rotação óptica do plano de polarização;



$\lambda$  é o comprimento de onda da luz incidente;

$n_l$  e  $n_r$  são os índices de refração para ambos os componentes da radiação de luz polarizada.

Os compostos opticamente ativos apresentam uma rotação específica  $[\alpha]$  com valor diferente de zero. Como é conhecida na polarimetria clássica, a rotação específica é geralmente dada pela luz de sódio, chamada “linha-D”, (SNATZKE, 1967), correspondendo a 589 nm com a seguinte equação:

$$[\alpha]_D = \alpha / l \cdot c$$

em que:

$[\alpha]_D$  é a rotação do plano da radiação de luz polarizada, expressa em graus;

$l$  é o comprimento da célula, expressa em decímetros;

$c$  é a concentração da substância que está sendo analisada, expressa por grama (mililitro da solução)<sup>-1</sup>.

A rotação molecular  $[\Phi]$  com base em *mol/mol* é definida da seguinte maneira:

$$[\Phi] = [\alpha] \times \text{M.W.} / 100$$

na qual:

M.W. é a massa molar da substância que está sendo analisada.

### **Determinação sacarimétrica por polarização convencional (589 nm)**

Para os caldos do setor de extração é realizada a filtração em algodão para remoção de bagacilhos, em seguida a adição de *clarificante químico*, agitação constante e filtração em papel de filtro tipo qualitativo de 185 mm de diâmetro.

Para os melaços (Fábrica) é realizada a diluição de 1:6 (*peso/peso*) exceto o xarope, onde se realiza a diluição de 1:4 (*massa/massa*), em seguida a adição de *Clarificante químico*, agitação constante e filtração em papel de filtro tipo qualitativo de 185 mm de diâmetro.

A quantificação da sacarose contida nos caldos, melaços e produtos finais após a filtração, são analisados por polarimetria em um sacarímetro digital automático utilizando o comprimento de onda de 589 nm.

### **1.5 Polarimetria NIR: características e vantagens da técnica**

A polarimetria é uma técnica físico-química de princípio óptico que consiste na interação da molécula com a radiação de luz previamente polarizada por um filtro de interferência com comprimento de onda específico.

A fonte utilizada nessa técnica é uma luz monocromática ordinária, de sódio, que incide no polarizador de 880 nm, e atravessa o tubo polarimétrico (ou tubo de medição ou célula), onde se encontra a amostra a ser analisada para avaliação de sua atividade óptica.

O caminho óptico recomendado para o método NIR é de 100 mm de comprimento, para que, ao atravessar a amostra, a luz polarizada chegue ao analisador rotacional, no qual o plano de luz será girado sentido horário (+) ou sentido anti-horário (-). Se a rotação for positiva, a substância é denominada como sendo Dextrógira representada pela letra “*D*”, se a rotação for negativa, denomina-se como Levógira representada pela letra “*L*”.

A rotação óptica é diretamente proporcional à Escala Internacional do Açúcar ( $^{\circ}Z$ ), ou seja, quanto maior for rotacionado um plano da radiação de luz polarizada de uma determinada amostra, maior será a medida em  $^{\circ}Z$ .

A Polarimetria NIR apresenta grandes vantagens quando aplicada a caldos e melaços industriais provenientes da cana-de-açúcar, principalmente a não necessidade de utilizar clarificante químico para efetuar leituras sacarimétricas, reduzindo com isso o custo analítico e também construindo com o aspecto ambiental, uma vez que são reduzidos drasticamente os resíduos laboratoriais provenientes da filtração das amostras e a periculosidade do produto que está sendo manuseado, nesse caso a troca de clarificante químico por Celite<sup>®</sup>, cuja

função é auxiliar a filtração das amostras e reter certa parte de impurezas de classe orgânica ou inorgânica.

## **1.6 Revisão bibliográfica**

Revisão sobre métodos envolvendo a determinação de açúcares em diversas matrizes vegetais por diferentes técnicas analíticas.

### **NIR – Infravermelho próximo (near infrared spectroscopy)**

Vários procedimentos são descritos com base no uso do NIR associado a técnicas quimiométricas para determinação de açúcares em amostras de cana-de-açúcar, beterraba e frutas, conforme se descreve a seguir.

Berding e colaboradores (1991a e 1991b) analisaram conteúdos de fibras e açúcares em amostras de caldo de cana por NIR, visando substituir procedimentos analíticos clássicos. O material particulado presente nas amostras contaminou a cela de análise, gerando resultados diferentes para CCS., condutividade, impurezas e leitura polarimétrica. Já os valores de Brix foram concordantes. Segundo os autores os resultados das análises de caldos por NIR se aproximaram dos requisitos para avaliação clonal.

Roggo e colaboradores (2002) determinaram sacarose em amostras de beterraba, usando NIR associado a procedimentos de processamento pré-espectral e regressão. Os melhores resultados foram obtidos no primeiro caso, usando a derivada 2ª. Também foi avaliada a possibilidade de uso de diferentes instrumentos de NIR para correlação de resultados, com sucesso.

Liu e colaboradores (2006) analisaram glicose, frutose e sacarose em amostras de maçãs intactas, por um procedimento baseado em NIR no modo de reflectância. Os espectros foram processados por correção de espalhamento multiplicativo (MSC, Multiplicative Scatter Correction), segunda derivativa de Savitsky-Golay e média do ponto central. Os modelos de calibração foram

baseados em mínimos quadrados parciais (PLS, partial least squares) e os resultados validados por HPLC. Os modelos foram estabelecidos usando PLS e RMSEP. Os resultados foram consistentes com aqueles obtidos por HPLC, com menor tempo de análise que os cromatográficos.

Schaffer (2001) descreveu resultados de determinação de pol e substâncias secas em sucos melados e massas cozidas por NIR no modo de transmissão. Nesse trabalho o autor procurou propor estratégias para introduzir as amostras na câmara de NIR de forma automática e minimizando o ruído e reduzir os erros para limites aceitáveis usando mais de 700 amostras durante 17 semanas em condições reais de análise, com resultados satisfatórios.

Xin e colaboradores (2010) determinaram valores de pol e Brix in caldos de cana usando NIR acoplada ao método de redes neurais de retro-propagação. (BP-ANN, back propagation - artificial neural network). Os espectros foram obtidos e processados pela derivada de Savitsky-Golay e média do ponto central. Em seguida a faixa de comprimentos de onda foi otimizada com o método dos coeficientes de correlação e finalmente os componentes principais obtidos por PLS foram introduzidos no BP-ANN. Os modelos de calibração foram estabelecidos usando-se conjuntos de calibração e validados com conjuntos de predição. O BP-ANN foi mais preciso que PLS na determinação de pol e Brix, sendo rápido e preciso neste tipo de análise em caldos de cana.

McClure e colaboradores (1996) usaram correlação cruzada bidimensional de espectros de NIR e Raman para avaliar o potencial dessa técnica na interpretação qualitativa de espectros NIR. Correlação cruzada por mínimos quadrados foi usada para avaliar mudanças espectrais em ambos os conjuntos. Espectros de NIR e Raman excitado na região do NIR foram obtidos sob as mesmas condições e uma correlação cruzada 2D ponto-a-ponto foi calculada. Neste caso cada número de onda do NIR fornece um espectro Raman e vice-versa. Isso explica porque certos comprimentos de onda são escolhidos em modelos de calibração quimiométrica.

Omar e colaboradores (2012) usaram NIR para medir teores de açúcar em frutas, buscando números de onda que permitam a determinação específica de açúcares, na mistura de sólidos solúveis representada pelo Brix, a partir de soluções aquosas de açúcares. Os autores descrevem que a região de 959-961 nm é a mais indicada para essa tarefa. Usando bandas de NIR referentes a ligações C-H e O-H foi possível fazer as determinações propostas com elevado grau de correlação com as amostras preparadas.

Kuchejda, Ramirez e Yilmaz (2005) aplicaram polarimetria NIR, que segundo os autores é o método mais promissor para substituir o processo tradicional de clarificação por acetato de chumbo ( $PbAc_2$ ), devido à sua rapidez e baixo impacto ambiental. Para resolver os problemas de filtrabilidade e turbidez, os autores propuseram o uso de novo processo de filtração pressurizada. O método dispensa  $PbAc_2$ , pois apenas os açúcares são removidos. Segundo os autores o método apresentou desempenho estável durante toda uma safra.

Magana e colaboradores (2011) propuseram o uso de uma metodologia baseada em NIR, no modo de refletância, para a predição do potencial de amostras de beterraba na produção de etanol, com base no seu teor de açúcar. Os espectros foram submetidos a tratamento por MPLS e os erros avaliados, predição de erro padrão, coeficiente de determinação e coeficiente de variação. A técnica se mostrou útil na determinação proposta e os resultados foram obtidos em 3 minutos.

Valderrama, Braga e Poppi (2007) utilizaram NIR associada a calibração multivariada na determinação de sólidos solúveis (Brix), açúcares polarizáveis (POL) e açúcares redutores (RS) em caldo de cana. O método apresentou coeficiente de correlação de 0,99 para Brix e Pol, sugerindo ser uma alternativa viável para uso na para a indústria canavieira.

Paton e colaboradores (1993) também utilizaram polarimetria NIR para determinar açúcares polarizáveis a 880 nm e compararam os resultados com o

método convencional de clarificação com  $\text{PbAc}_2$  a 589 nm. Para a polarimetria NIR foi necessário filtrar a amostra com filtro de fibra de vidro. Os resultados diferiram entre os procedimentos tradicional e o proposto, o que foi atribuído à presença de dextrana, a qual não pode ser removida pela filtração com filtro de fibra de vidro, mas é removida pela  $\text{PbAc}_2$ .

Tewari, Mehrotra e Irudayaraj (2003) determinaram os valores de Pol em caldos claros de cana. Os caldos obtidos durante toda uma safra foram analisados por NIR usando uma sonda de fibra ótica no modo de transmitância na região de 5400-6400  $\text{cm}^{-1}$  e analisados por PLS. O método polarimétrico padrão foi usado como controle e os resultados concordaram com R-2 da ordem de 0,936. Isso sugere grande potencialidade para uso do procedimento na determinação de açúcares em caldos claros de cana provenientes de usinas.

Schaffler e De Gaye (1997) utilizaram NIR para analisar caldos mistos e melaços durante quatro safras de cana na África do Sul. As amostras foram divididas em dois conjuntos de forma aleatória. Os espectros obtidos foram analisados por PLS e PCA para desenvolver calibrações para todos os analitos em um dos conjuntos, enquanto o outro conjunto foi usado para validação. Nos dois tipos de amostras analisou-se frutose, glicose, sacarose, Pol, Brix, e cinzas sulfatadas, em adição a sólidos secos nos melados. No caso de caldos mistos houve bons resultados para sacarose, Brix e pol (erro de  $\pm 0,1$  unidade) e pureza ( $\pm 0,8$  unidade), quando comparados aos procedimentos tradicionais. Resultados de cinzas foram pouco satisfatórios para NIR. Nos melaços bons resultados foram obtidos para Brix e sólidos secos, monosacrídeos e cinzas. Os bons resultados observados nas cinzas foram atribuídos à baixa umidade e interação íon-açúcar-água nas amostras. Resultados pouco satisfatórios foram observados para sacarose e Pol, no caso do NIR. Entretanto a vantagem é que o procedimento pode ser efetuado em 10 minutos.

Meyer (1997) apresentou uma resenha do uso de NIR, tanto com filtros como no modo reflectância, na indústria de cana tanto na pesquisa como no

manejo de campos, fertilidade de solo, qualidade da cana e “*screening*” para resistência a pragas e doenças. Nos avanços presentes o autor destaca o uso na determinação de constituintes em caldos, bagaço, açúcar bruto e melaço. Futuros usos podem incluir, segundo o autor, a especiação de nitrogênio na planta, estimativa de fotossíntese e predição de rendimento.

### **FTIR e ATR**

Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho e Refletância Total Atenuada (ATR, Attenuated Total Reflectance) associada ao infravermelho, ambas com transformada de Fourier, também tem sido propostas como alternativas na determinação de açúcares em amostras de cana de açúcar e outras fontes de sacarídeos naturais.

Rios-Corripio, Rojas-Lopez e Delgado-Macuil (2012) propuseram o uso de ATR-FTIR associada a calibração multivariada, na determinação de glicose, frutose e sacarose intencionalmente adicionadas a amostras de mel, para simular adulterações e xaropes (milho, açúcar invertido e de cana). Tratamento dos dados com PCA resultou em gráficos bi e tri-dimensionais. Uma superfície de resposta tetraédrica foi obtida, no vértice superior da qual se situaram as amostras puras, enquanto nas arestas se situaram os adulterantes. Calibrações com PLS levaram a resultados satisfatórios em termos de erros relativos, o que sugere o método como alternativa viável para predição da qualidade desses produtos.

Procedimento similar foi usado por Irudayaraj, Xu e Tewari (2003) para a determinação de açúcar invertido em amostras de mel, com FTIR e acessório de ATR e calibração multivariada. PLS, análise discriminante linear (LDA, linear discriminant analysis) e análise de variáveis canônicas (CVA, canonical variate analysis), foram usados para tratamento dos dados produzindo modelos que foram validados. Dois tipos de redes neurais foram aplicados: “*quick back*

*propagation network*” (BPN) e *“radial basis function network”* (RBFN). Os melhores resultados foram obtidos com LDA e BPN.

Queji e colaboradores (2010) avaliaram a possibilidade de uso de espectroscopia de IV com reflectância difusa (DRIFTS, diffuse reflectance infrared spectroscopy) para a determinação de açúcares simples, ácido málico e compostos fenólicos totais em amostras de bagaço de maçã. Neste caso foi usada regressão de mínimos quadrados parciais (PLSR, partial least square regression). Os modelos desenvolvidos com variáveis latentes na região do IV-médio levaram a resultados satisfatórios para sacarose, frutose, ácido málico e fenóis totais. Já a glicose mostrou melhores resultados em NIR, com mesmo tratamento de dados.

Cadet e Offman (1997) usaram ATR-FTIR para analisar açúcares em caldos de cana integrais opacos representando uma safra completa. PCA e PCR foram usados no processamento dos dados de ATR-FTIR, sendo a melhor faixa espectral entre 1250-800  $\text{cm}^{-1}$ . A validação foi feita com 1267 amostras e os valores de sacarose se mostraram melhores que aqueles obtidos com polarimetria, segundo os autores.

Sivakesava e Irudayaraj (2002) também avaliaram metodologia baseada em ATR-FTIR na determinação de açúcares adulterantes em amostras de mel. Os açúcares analisados foram glicose, frutose e sacarose e os açúcares invertidos de cana e beterraba. Os espectros foram analisados com PCA e PLS e análise discriminante linear (LDA, linear discriminant analysis) foi usada para discriminar adulterantes em três amostras diferentes de méis, com 100% de acerto, o que sugere o método como um procedimento rápido e para detectar adulterações neste tipo de amostra.

Cozzolino, Corbella e Smith (2011) apresentaram uma revisão do uso de espectroscopia vibracional na região do infra-vermelho na avaliação e monitoramento da composição de amostras de mel, ressaltando suas vantagens e desvantagens.



Suhandy, Suzuki, Ogawa, Kondo, Ishihara e Takemoto (2011) apresentaram um estudo sobre o uso de ATR na faixa de terahertz para a análise de açúcares. Soluções de sacarose, frutose e glicose tiveram seus espectros obtidos na faixa de  $60 - 450 \text{ cm}^{-1}$  ( $0,6 - 13,5 \text{ THz}$ ) em espectrofotômetro configurado para operar nessas condições. A relação entre concentração de açúcar e forma do espectro foi analisada por análise multivariada e modelos de calibração para os três açúcares foram desenvolvidos com PLS. O procedimento de validação cruzada foi usado para validar os procedimentos de calibração, mostrando que a metodologia proposta tem potencial para a determinação dos açúcares.

### **UV-Vis e análise em fluxo**

Um sistema de análise em fluxo para determinação de açúcares redutores totais em amostras de caldo de cana e melaço foi avaliado por Mattos, Zagatto e Jacintho (1988). O sistema se baseia na reação de redução de ferricianeto de ferro (III) pelo açúcar hidrolisado a  $95 \text{ }^\circ\text{C}$ . O ferrocianeto gerado nessa reação é usado para reduzir uma solução contendo ferro(III) que recebe *o*-fenantrolina na sequência gerando um composto colorido que é monitorado espectrofotometricamente em  $512 \text{ nm}$ . A interferência vários cátions foram avaliados e o método testado na determinação de 13 açúcares e ácido ascórbico.

Em um sistema semelhante, os mesmos autores desenvolveram um sistema de fluxo para a determinação de glicose usando duas frentes de amostra (1988). A primeira, após hidrólise ácida é oxidada com periodato. O consumo de periodato é monitorado pela diminuição da quantidade de iodo produzido quando o produto da reação com açúcar reage com iodeto. A segunda frente vai diretamente ao detector sem hidrolisar a diferença de sinais para absorção de iodo pelas duas amostras reflete o teor de açúcar hidrolisado.

Os resultados são concordantes com HPLC e permitem processar 30 amostras h<sup>-1</sup>, sem necessidade de clarificação, segundo os autores.

Alves, e colaboradores (2009) avaliaram o uso de sistemas de multicomutação em comparação a sistemas de altas temperaturas. O açúcar é hidrolisado e após degradação alcalina ocorre a determinação espectrofotométrica. Melhores resultados foram obtidos com fluxo pulsado, atribuído pelos autores à transferência de massa mais eficiente. Resultados compatíveis com cromatografia de íons foram encontrados.

Tumang, Tomazini e Reis (2003) determinaram carboidratos não estruturais e açúcares redutores em amostras de forragem, usando o método da neucroína, após hidrólise ácida. Após neutralização a mistura de açúcares reage com um reagente cromóforo composto de Cu<sup>2+</sup>/neocuproína. O produto dessa reação é monitorado em 460 nm. Para determinar os açúcares redutores, não se faz a hidrólise ácida e a diferença de resultados permite calcular os teores de carboidratos não estruturais e açúcares redutores. Resultados compatíveis com o método de referência AOAC foram encontrados, com frequência analítica de 32 amostras h<sup>-1</sup>.

### **Cromatografia de íons (IC)**

A cromatografia de íons (IC) pode prover ao analista um procedimento simples e confiável para determinar espécies orgânicas e inorgânicas em misturas relativamente complexas, garantido o preparo adequado da amostra. A escolha da coluna e das condições experimentais também auxilia no sucesso dos métodos.

Walford (2002) elaborou uma revisão sobre os métodos envolvendo cromatografia iônica em pesquisa aplicada a açúcares e problemas de processamento incluindo estudos de clarificação, degradação de melaços, remoção de cor de soluções e problemas de processamento em plantas industriais. Os métodos IC apresentam concordância com os resultados obtidos

por técnicas convencionais, como titulação potenciométrica e espectrometria de absorção e emissão atômica, assim como repetibilidade e coeficientes de recuperação.

Schaffler e colaboradores (1997) utilizaram um método envolvendo cromatografia líquida de troca aniônica de alta eficiência com detecção por amperometria pulsada, para a determinação de sacarose, frutose e glicose em amostras de melão de cana e de sacarose em amostras de beterraba. Os resultados se mostraram reprodutíveis e o procedimento recomendado pela Associação Americana de Químicos Analíticos (AOAC, Association of Official Analytical Chemists).

O mesmo grupo apresentou uma revisão sobre o uso de uma variedade de técnicas cromatográficas usadas nas indústrias de açúcar da África do Sul em um período de 30 anos, incluindo procedimentos analíticos para pagamentos e controle de produção (2005). Procedimentos para avaliar resolução de problemas de infecção e controle de corrosão em equipamentos, assim como determinação de polissacarídeos, ânions e cátions em caldos, melões, VHP e açúcares brancos são apresentados.

Farine e colaboradores (2000) descreveram o uso de cromatografia líquida de troca aniônica de alta eficiência com detecção por amperometria pulsada, para avaliar a degradação de sacarose durante o processamento de cana. Foram monitorados os teores de sacarose, glicose, frutose e oligossacarídeos em vários passos do processamento de cana em uma usina francesa. Em pH 6-6,5 as amostras de licor se mostraram estáveis. Já os xaropes 1 e 2 foram estáveis até pH 7-8. O caldo claro foi instável em pH acima de 8.

### **Polarimetria**

A polarimetria é uma técnica bastante difundida como procedimento simples para determinação dos teores de sacarose. O método necessita de uma

etapa de clarificação, para remover a turbidez da amostra e para a transmissão correta da luz no polarímetro. A clarificação convencional envolve o uso de acetato de chumbo e determinação polarimétrica em 589 nm.

Schmidt, Yilmaz e Kuczejda (2005) patentearam um procedimento polarimétrico para determinação de açúcares em suco de beterrabas. O procedimento, automatizado, envolve filtração na presença de material a base de sílica, seguida da determinação polarimétrica no suco.

Hoareau e colaboradores (2010) compararam os resultados de um procedimento envolvendo processos físicos de filtração e detecção em 882,6 nm, com aqueles envolvendo clarificação por  $PbAc_2$  e cromatografia, para a determinação de sacarose em caldos mistos, bagaço, torta de filtro e melaço. Os resultados foram compatíveis e os autores reportam o uso de polarimetria em 882 nm em usinas francesas desde 2005 e para pagamento de cana desde 2009.

Essa revisão mostra uma busca de vários autores por procedimentos livres de clarificadores, devidos às razões já discutidas acima, nessa dissertação. Todos apresentam vantagens como resultados satisfatórios e desvantagens sejam na necessidade de tratamentos complexos de dados ou na complexidade da instrumentação. Assim se justifica o presente trabalho que busca propor uma metodologia relativamente simples de ser usada e sem maiores dificuldades de tratamento de dados, considerando o volume de amostras processadas pelas usinas em cada safra e a necessidade de treinamento adequados dos operadores.

## **2 – OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivos do trabalho**

Introduzir a Polarimetria NIR de análise para determinação de sacarose em caldos e melaços industriais provenientes da cana-de-açúcar visando eliminar o uso de clarificantes químicos, promovendo assim a redução de custo por análise, e vantagens ambientais, pois será possível reduzir o volume de resíduos laboratoriais.

Comparar resultados obtidos a partir da polarimetria NIR com a polarimetria visível com aqueles obtidos pelo procedimento convencional no ciclo de uma safra, em diferentes fases do processo produtivo e por diferentes operadores.

### 3. PROCEDIMENTO EXPERIAMENTAL

#### 3.1 - Reagentes e consumíveis

Os reagentes utilizados neste experimento são de caráter industrial, sendo utilizados de forma “*in natura*”, ou seja, sem pré-tratamento ou purificação prévia. A água utilizada foi purificada por destilação simples em destilador metálico tipo Pylsen.

A substância química utilizada para clarificação é denominada comercialmente de Octapol<sup>®</sup>, Sugarpol<sup>®</sup> ou mistura clarificante (Cloreto de Alumínio, Hidróxido de Cálcio e Celite<sup>®</sup>) que são utilizadas no método convencional (589 nm).

O auxiliar de filtração utilizado no método NIR é denominado de Celite<sup>®</sup> Standard Super Gel, conforme certificado do fornecedor:

**TABELA 2: Características e composição química da Celite**

<b>Produto</b>	<b>Filtrante</b>
<b>Aspecto físico</b>	Pó rosa, finamente dividido e classificado
<b>pH</b>	7 (solução alcoólica à 10%)
<b>Densidade seca</b>	143 g/L
<b>Densidade úmida</b>	274 g/L
<b>Granulometria (150 mesch)</b>	5 a 8%
<b>Umidade</b>	Máximo 1,0%
<b>Matéria orgânica</b>	Totalmente isento
<b>Porosidade</b>	3,5 microns
<b>Tamanho da partícula</b>	22 microns
<b>Peso específico</b>	2,15
<b>Validade</b>	5 anos
<b>SiO<sub>2</sub></b>	89,6

<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	4,0
<b>Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	1,3
<b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	0,2
<b>TiO<sub>2</sub></b>	0,2
<b>CaO</b>	0,5
<b>MgO</b>	0,6
<b>Na<sub>2</sub>O + K<sub>2</sub>O</b>	3,3

Os consumíveis utilizados são papéis de filtro do tipo qualitativo com diâmetro de 185 mm, algodão hidrófilo e vidrarias, tais como, bastão de vidro, funil e béquer.

### **3.2 – Instrumentação**

Na pesagem de melaços açucarados para efeito de diluição, utilizou-se uma balança semi-analítica com precisão de 0,01g e para as leituras sacarimétricas foi utilizado um sacarímetro digital *Schmidt+Haensch*, modelo Saccharomat NIR-W2 com duplo comprimento de onda de valores específicos (589/882 nm), no entanto foi utilizado um refratômetro digital *Schmidt+Haensch* modelo ATR-BR para as medições de Brix.

Para as medições de polarização a 589 nm foi utilizado um tubo polarimétrico de 200 mm e a 882 nm um tubo polarimétrico de 100 mm, ambos os métodos com resolução de 0,01°Z, que acompanha o equipamento utilizado, como acessório.

Para as leituras sacarimétricas de todas as amostras foi utilizada a correção de temperatura, através de um sensor tipo Pt-100, acoplado ao tubo polarimétrico de aço inoxidável, com o intuito de se reduzir interferências externas relacionadas à temperatura durante as medições.

### **3.2.1 Padronização de acessórios**

Os acessórios utilizados são tubos polarimétricos de fluxo contínuo em aço inoxidável, com funil para alimentação manual de amostras.

Para o método denominado como convencional que efetua análises com auxílio do clarificante químico e comprimento de onda de 589 nm, é utilizado um tubo polarimétrico de 200 mm de comprimento por 0,5 mm de diâmetro.

Para o método NIR, que opera no comprimento de onda 880 nm é utilizado um tubo polarimétrico de 100 mm de comprimento por 0,5 mm de diâmetro, pois quanto menor o caminho óptico, melhor é a estabilidade de leitura das amostras que são mais escuras ou que possuem maior turbidez.

### **3.2.2 Calibração com utilização da placa de quartzo**

Na calibração é necessário zerar o sacarímetro com água destilada e utilizar uma placa de controle de quartzo com valor específico em °Z que depende do comprimento de onda e possui rastreabilidade ao PTB Alemão, único órgão do mundo a efetuar calibração de placas de quartzo.

Essa placa de quartzo apresenta o valor próximo de 100,00 °Z que é utilizado para calibrar o sacarímetro digital, pois o valor está dentro da faixa operacional de leituras das amostras que são analisadas no respectivo equipamento.

Atualmente os sacarímetros digitais contam com sistema de calibração automática em função da variação de temperatura, com o limite de desvio aceitável de 0,03°Z.

Ao término da calibração do sacarímetro é feita a verificação do valor obtido se está dentro do desvio descrito pelo certificado rastreável.

### **3.2.3 Correção de temperatura**

O método analítico para determinação de Pol recomenda que a mesma seja realizada em um ambiente com temperatura controlada em 20 +/-0,5°C,



não devendo estar em temperaturas inferiores a 14°C e acima de 26°C. Além de corrigir as leituras sacarimétricas é de extrema importância, corrigir a temperatura da água destilada que é utilizada na zeragem do sacarímetro e aquela utilizada na solução padrão de sacarose.

O polarímetro digital Schmidt+Haensch modelo Saccharomat NIR-W2, conta com um sistema automático de correção de temperatura das medições através de um sensor tipo Pt-100 que se encontra acoplado no tubo polarimétrico, que mesmo indica a temperatura real da amostra e fornece leituras com ou sem correção a 20°C.

Quando as leituras sacarimétricas dependem do controle termostático externo, as medidas devem ser corrigidas de acordo com a seguinte equação:

$$a_{20} = a_t [1 + 0,0001 (T - 10)]$$

na qual:

$A_{20}$  = rotação específica corrigida a 20°C

$a_t$  = rotação específica à temperatura da solução

$T$  = temperatura obtida na leitura

No caso da não existência de controle termostático, é necessário considerar todos os fatores citados com isso sendo indispensável submeter a amostra a um ajuste de temperatura para levá-la o mais próximo de 20°C.

Na correção de temperatura para placas de quartzo, o coeficiente de temperatura da rotação óptica é conhecido com exatidão absoluta para calibração do equipamento, dado pela seguinte equação:

$$a_{20} = a_t [1 + 0,000143 (T - 20)]$$

O coeficiente de temperatura entre a placa de quartzo e o equipamento é dado pela diferença:  $0,000143 - 0,0001 = 0,000043$ , sendo assim é necessário

utilizar a seguinte fórmula quando ambos estiverem em equilíbrio térmico com o ambiente:

$$a_{20} = a_t [1 + 0,000043 (T - 20)]$$

Considerando todos os fatores relacionados com a temperatura que afetam as medidas das rotações ópticas, o coeficiente de temperatura para correções dessas medidas nas soluções de sacarose deve finalmente ser dado pela equação:

$$a_{20} = a_t [1 + 0,000255 (T - 20)]$$

### 3.3 - Procedimentos experimentais

#### 3.3.1 Diluições

São realizadas diluições para todos os melaços na proporção de 1:6 (*m/m*), enquanto para o xarope será utilizada a diluição de 1:4 (*m/m*) com auxílio de uma balança semi-analítica conforme Tabela 2:

**Tabela 3.** Detalhamento dos tipos de melaços e suas diluições

#### Diluição de melaços

<b>Produtos</b>	<b>Diluição (<i>m/m</i>)</b>	<b>Clarificante químico (g/200 mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>Celite® (g/200 mL<sup>-1</sup>)</b>
Caldo Primário	-	30	30
Caldo Misto	-	30	30
Caldo Clarificado	-	30	30

Caldo Filtrado	-	30	30
Xarope	1:4	35	40
Massa A	1:6	35	40
Massa B	1:6	35	40
Magma	1:6	35	40
Mel A	1:6	35	40
Mel B	1:6	35	40
Mel Final	1:6	35	45

### 3.4.2 Preparo das amostras

Primeiramente foram realizadas coletas nos pontos de amostragem disponíveis nas usinas que geralmente possuem amostradores contínuos, em contrapartida, será feita a amostragem instantânea quando necessário.

Após amostragem, será padronizado que desde o caldo primário até o caldo filtrado não há diluição e serão coletados cerca de 200 mL de cada amostra e colocados em béqueres separadamente, em seguida será adicionado Celite® com agitação constante e filtrados em papel de filtro qualitativo de 185 mm de diâmetro. Posteriormente será realizada a medição no sacarímetro digital para obtenção da leitura sacarimétrica utilizada no cálculo da Pol.

Para os melaços, depois de efetuadas as diluições, serão efetuados os mesmos procedimentos analíticos para os caldos industriais.

### 3.4.3 Validação do método polarimétrico NIR

#### Validação - teste-*T*

O teste *T* é usado para comparar um grupo de medidas com outro, a fim de decidir se são ou não diferentes baseada em um determinado nível de probabilidade, para concluir se dois conjuntos de medidas diferem entre si. No presente caso optou-se por um nível de confiança de 95%, então se os valores

calculados forem maiores que os tabelados, os resultados serão diferentes estatisticamente. (HARRIS, 2001).

Neste trabalho as amostras são medidas cinco vezes no método visível e cinco vezes no método NIR, para averiguar se os resultados são estatisticamente iguais entre si, ou seja, para efetuar a validação. Destes valores de medidas serão obtidos a média e os desvios padrão, para então aplicar o teste-T de Student. Também foram realizadas comparações dos resultados por analistas diferentes em dias diferentes, para averiguar a robustez do método, onde se aplicou o **teste  $t$  pareado**. (HARRIS, 2001)

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 - Avaliação de desempenho do método NIR

Todas as amostras de caldos e melaços foram submetidas a quantificação de sacarose utilizando a polarimetria digital em dois comprimentos de onda, sendo um na região do visível 589 nm, referente ao método convencional e o outro na região do infravermelho 882 nm, referente ao método proposto sem clarificante. Os resultados podem ser observados nas TABELAS 4-12.

**TABELA 4: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE DO CALDO MISTO**

Pol (% sacarose) a 20°C			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
12,36	12,32	0,04	0,36
12,37	12,38	-0,01	-0,10
12,36	12,39	-0,03	-0,24
12,37	12,40	-0,03	-0,24
12,37	12,38	0,00	-0,02
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 12,37</b>	<b>12,37</b>	<b>-0,01</b>	<b>-0,05</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,00</b>	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	<b>0,22</b>

$f_{\text{tabelado}}$	<b>6,39</b>
$f_{\text{calculado direto}}$	<b>0,03</b>
$f_{\text{calculado invertido}}$	<b>32,67</b>
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>0,56</b>

**TABELA 5: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE DO CALDO CLARIFICADO**

Pol (%) a 20°C			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
11,73	11,65	0,08	0,72
11,77	11,68	0,09	0,74
11,79	11,70	0,09	0,80
11,79	11,69	0,10	0,84
11,81	11,70	0,11	0,97
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 11,78</b>	<b>11,68</b>	<b>0,10</b>	<b>0,82</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>	<b>0,09</b>

$f_{\text{tabelado}}$	<b>6,39</b>
$f_{\text{calculado direto}}$	<b>2,14</b>
$f_{\text{calculado invertido}}$	<b>0,47</b>
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>5,72</b>

**TABELA 6: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE DO XAROPE**

Pol (%) a 20°C			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
31,07	30,68	0,40	1,29
31,12	30,94	0,19	0,60
31,13	30,94	0,19	0,63
31,15	31,02	0,13	0,43
31,13	30,99	0,13	0,43
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 31,12</b>	<b>30,91</b>	<b>0,21</b>	<b>0,67</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,03</b>	<b>0,12</b>	<b>0,10</b>	<b>0,32</b>

$f_{\text{tabelado}}$	<b>6,39</b>
$f_{\text{calculado direto}}$	<b>0,05</b>
$f_{\text{calculado invertido}}$	<b>20,31</b>
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>3,33</b>

**TABELA 7: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE DA MASSA A**

Pol (%) a 20°C			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
56,13	55,80	0,34	0,60
56,19	55,82	0,37	0,65
56,24	55,86	0,38	0,67
56,25	55,83	0,42	0,75
56,27	55,82	0,45	0,80
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 56,21</b>	<b>55,83</b>	<b>0,39</b>	<b>0,69</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,05</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>	<b>0,07</b>

$f_{\text{tabelado}}$	<b>6,39</b>
$f_{\text{calculado direto}}$	<b>6,63</b>
$f_{\text{calculado invertido}}$	<b>0,15</b>
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>14,41</b>



**TABELA 8: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE DA MASSA B**

Pol (%) a 20°C			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
46,71	46,95	-0,24	-0,52
47,10	47,13	-0,03	-0,06
47,16	47,18	-0,02	-0,04
47,14	47,14	0,00	0,00
47,13	46,74	0,40	0,85
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 47,05</b>	<b>47,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,17</b>	<b>0,17</b>	<b>0,21</b>	<b>0,44</b>

$f_{\text{tabelado}}$	<b>6,39</b>
$f_{\text{calculado direto}}$	<b>1,07</b>
$f_{\text{calculado invertido}}$	<b>0,93</b>
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>0,17</b>

**TABELA 9: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE DA MAGMA**

Pol (%) a 20°C			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
55,34	55,67	-0,33	-0,59
55,53	55,61	-0,08	-0,14
55,57	55,72	-0,15	-0,28
55,52	55,70	-0,18	-0,32
55,16	55,69	-0,53	-0,95
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 55,43</b>	<b>55,68</b>	<b>-0,25</b>	<b>-0,45</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,15</b>	<b>0,04</b>	<b>0,16</b>	<b>0,29</b>

$f_{\text{tabelado}}$	<b>6,39</b>
$f_{\text{calculado direto}}$	<b>16,74</b>
$f_{\text{calculado invertido}}$	<b>0,06</b>
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>3,20</b>

**TABELA 10: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE DO MEL A**

Pol (%) a 20°C			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
40,40	40,50	-0,10	-0,25
40,42	40,48	-0,06	-0,14
40,43	40,51	-0,08	-0,20
40,38	40,48	-0,09	-0,23
40,39	40,51	-0,11	-0,28
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 40,41</b>	<b>40,49</b>	<b>-0,09</b>	<b>-0,22</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,02</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>

$f_{\text{tabelado}}$	<b>6,39</b>
$f_{\text{calculado direto}}$	<b>1,87</b>
$f_{\text{calculado invertido}}$	<b>0,54</b>
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>8,00</b>

**TABELA 11: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE DO MEL B**

Pol (%) a 20°C			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
40,04	40,22	-0,18	-0,45
40,09	40,12	-0,03	-0,08
40,14	40,15	-0,01	-0,03
40,13	40,16	-0,03	-0,08
40,18	40,15	0,02	0,06
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 40,11</b>	<b>40,16</b>	<b>-0,05</b>	<b>-0,12</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,04</b>	<b>0,03</b>	<b>0,07</b>	<b>0,17</b>

$f_{\text{tabelado}}$	<b>6,39</b>
$f_{\text{calculado direto}}$	<b>2,10</b>
$f_{\text{calculado invertido}}$	<b>0,48</b>
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>1,52</b>

**TABELA 12: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE DO MEL FINAL**

Pol (%) a 20°C			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
29,85	30,15	-0,30	-0,98
29,93	30,01	-0,08	-0,27
29,94	30,20	-0,26	-0,87
29,92	30,32	-0,40	-1,32
29,96	30,40	-0,44	-1,46
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 29,92</b>	<b>30,22</b>	<b>-0,30</b>	<b>-0,98</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,04</b>	<b>0,14</b>	<b>0,13</b>	<b>0,42</b>

$f_{\text{tabelado}}$	<b>6,39</b>
$f_{\text{calculado direto}}$	<b>0,08</b>
$f_{\text{calculado invertido}}$	<b>13,10</b>
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>4,21</b>

Em todas essas tabelas pode ser observado que os valores obtidos nos dois comprimentos de onda se apresentam próximos, enquanto o teste -T revela que nem todos os caldos e melaços são estatisticamente iguais, pois, para o caldo misto, massa B e mel B, os conjuntos de dados, os valores de  $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$ , portanto ambos concordam entre si no intervalo de confiança de 95%. Assim pode-se dizer que o método proposto determina os teores de sacarose tão bem quanto o método convencional, em diferentes tipos de amostras provenientes das diferentes fases do processo produtivo.

Resumindo sobre as tabelas, observou-se que 6 amostras não batem e 3 batem em termos estatísticos com o teste  $t$  para 95% de confiança. Em geral as amostras que não bateram, podem ser consideradas como mais desafiadoras para determinação de sacarose dependendo do processo, ao mesmo tempo que

algumas amostras como o mel final apresentam maior grau de impureza e coloração intensa.

As amostras que bateram, são menos desafiadoras, porém apesar da diferença estatística apontada pelo teste *t*, a diferença numérica é pouco significativa, sendo todos os erros relativos < 1,5%, o que é plenamente aceitável em uma usina de açúcar e etanol. Dado o volume de amostras analisadas e as diferenças aceitáveis nessas determinações.

#### **4.2 – Viabilidade econômica e meio ambiente**

Durante os testes também foram avaliados os custos analíticos de cada método, tendo sido possível compará-los e comprovar a economia dos gastos referentes aos clarificantes químicos, que por sua vez são mais elevados, em relação ao Celite®.

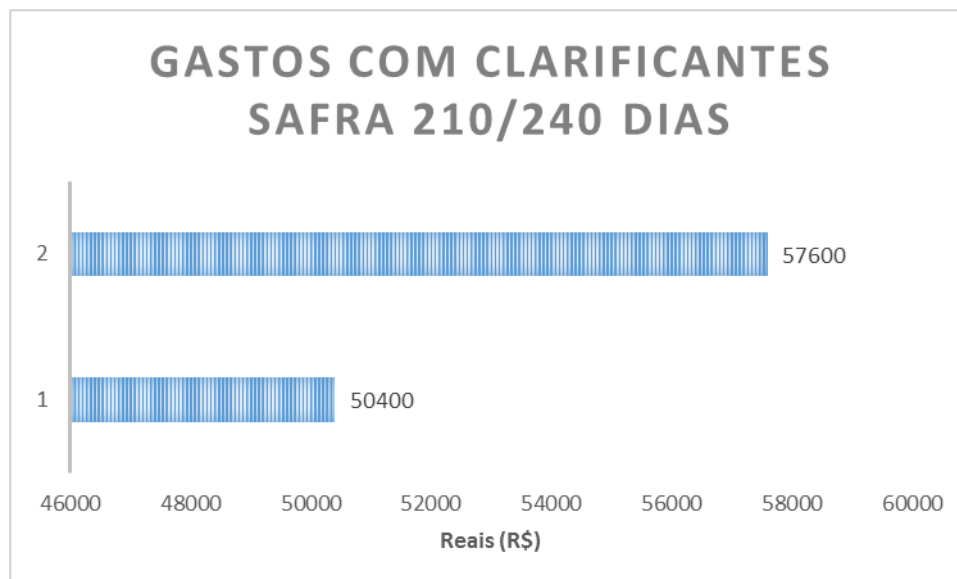
Com a realização das análises, foi possível verificar que o método NIR é mais econômico que o método Visível, entretanto devido a necessidade de utilizar maior quantidade de Celite® se percebeu que o processo de filtração por gravidade é mais demorado com duração entre 2 a 5 minutos dependendo da amostra analisada.

Com a utilização da Celite® ficou nítido a grande vantagem em relação ao meio ambiente, pois não há necessidade de efetuar o descarte dos resíduos das amostras em locais ou recipientes especiais.

Em seguida, nas Tabelas 12 e 13 estão listados os custos entre as técnicas empregadas para cada amostra e contabilizados por safra:

**TABELA 13: GASTOS COM CLARIFICANTES NAS ANÁLISES DE POL UTILIZANDO O MÉTODO VISÍVEL**

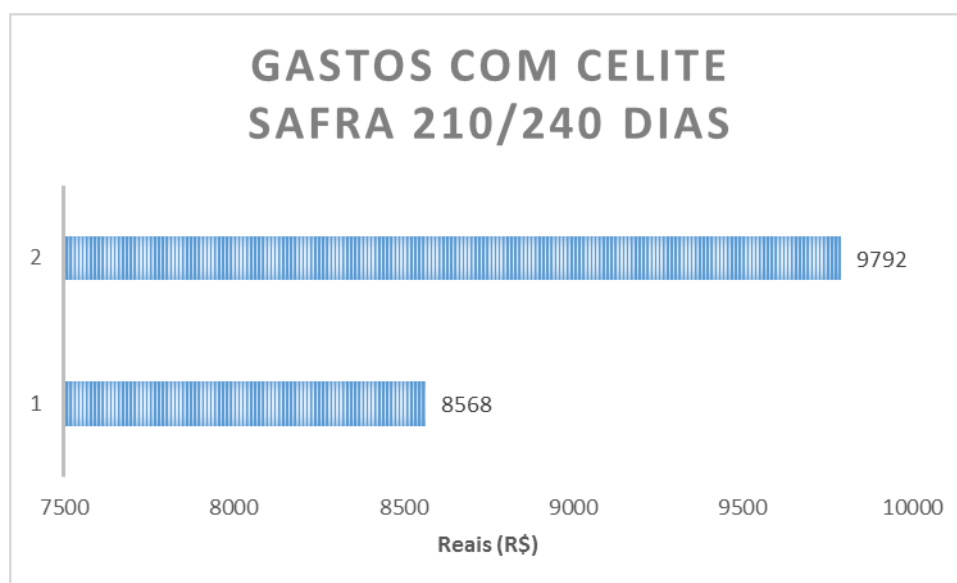
<b>AMOSTRA</b>	<b>QUANTIDADE (g)</b>	<b>CUSTO (R\$)</b>
Caldo Misto	20	0,80
Caldo Clarificado	20	0,80
Xarope	30	1,20
Massa A	30	1,20
Massa B	30	1,20
Magma	30	1,20
Mel A	30	1,20
Mel B	30	1,20
Mel Final	30	1,20



**Figura 7: Valores obtidos da safra 2011**

**TABELA 12: GASTOS COM CLARIFICANTES NAS ANÁLISES DE POL UTILIZANDO O MÉTODO INFRAVERMELHO**

AMOSTRA	QUANTIDADE (g)	CUSTO (R\$)
Caldo Misto	30	0,13
Caldo Clarificado	30	0,13
Xarope	40	0,18
Massa A	40	0,18
Massa B	40	0,18
Magma	40	0,18
Mel A	40	0,18
Mel B	40	0,18
Mel Final	50	0,22



**Figura 6: Valores obtidos da safra 2011**

Alguns detalhes referentes ao desenvolvimento das análises em função das características das amostras utilizadas foram feitas e são descritas a seguir.



Caldos com menor percentual de sólidos totais dissolvidos (Brix) apresentaram maior facilidade de filtração após a aplicação da Celite<sup>®</sup>, como por exemplo o caldo misto e o caldo clarificado, que contem maior volume de água em sua composição, não havendo necessidade de diluição. O mesmo acontece com os melaços de alta pureza, tais como, xarope, magma, massa A, massa B e mel A (rico), porém para essas amostras existem a necessidade de diluição.

O mel B (pobre) pode variar o percentual de pureza dependendo das condições do processo industrial, assim varia a quantidade de Celite<sup>®</sup> a ser aplicada nessa amostra e também em alguns casos aumentando o tempo de filtração.

Nas amostras de mel final, na maioria dos casos, surgiu a necessidade de aplicar maior quantidade de Celite<sup>®</sup> devido o percentual de pureza ser menor que 40%, assim tendo a amostra com maior tempo de filtração após a aplicação de Celite<sup>®</sup>.

### **4.3 – Teste de robustez do Método NIR**

No final do trabalho, foram realizados alguns testes após a validação do método NIR para verificação da robustez dos resultados entre analistas de turnos diferentes utilizando as mesmas amostras para ambos os métodos e analistas de turnos diferentes utilizando amostras de horários diferentes para o método NIR.

Estes testes também são importantes para avaliar se o treinamento dos analistas é fator determinante no uso do método proposto, tendo em vista a existência de métodos com resultados semelhantes, mas de difícil implementação, das dificuldades instrumentais e de tratamento de dados.

Nas Tabelas 15-23 estão listados os resultados obtidos em cinco repetições entre analistas diferentes com as mesmas amostras para ambos os métodos:

**TABELA 15: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE PELOS DOIS MÉTODOS, POR DOIS ANALISTAS DIFERENTES PARA AMOSTRAS DE CALDO MISTO**

<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA I</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
12,36	12,32	0,04	0,36
12,37	12,38	-0,01	-0,10
12,36	12,39	-0,03	-0,24
12,37	12,40	-0,03	-0,24
12,37	12,38	0,00	-0,02
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 12,37</b>	<b>12,37</b>	<b>-0,01</b>	<b>-0,05</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,00</b>	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	<b>0,22</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>0,56</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		
<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA II</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
12,06	12,02	0,03	0,29
12,07	12,07	0,00	-0,02
12,06	12,08	-0,03	-0,24
12,07	12,08	-0,01	-0,06
12,08	12,10	-0,02	-0,14
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 12,07</b>	<b>12,07</b>	<b>0,00</b>	<b>-0,04</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,01</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,18</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>0,14</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		

**TABELA 16: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE PELOS DOIS MÉTODOS, POR DOIS ANALISTAS DIFERENTES PARA AMOSTRAS DE CALDO CLARIFICADO**

<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA I</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
11,73	11,65	0,08	0,72
11,77	11,68	0,09	0,74
11,79	11,70	0,09	0,80
11,79	11,69	0,10	0,84
11,81	11,70	0,11	0,97
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 11,78</b>	<b>11,68</b>	<b>0,10</b>	<b>0,82</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>	<b>0,09</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>5,72</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		
<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA II</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
11,84	11,54	0,29	2,52
11,85	11,54	0,31	2,67
11,86	11,56	0,30	2,63
11,86	11,56	0,31	2,67
11,88	11,57	0,31	2,67
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 11,86</b>	<b>11,55</b>	<b>0,30</b>	<b>2,63</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,06</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>33,99</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		

**TABELA 17: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE PELOS DOIS MÉTODOS, POR DOIS ANALISTAS DIFERENTES PARA AMOSTRAS DE XAROPE**

<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA I</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
31,07	30,68	0,40	1,29
31,12	30,94	0,19	0,60
31,13	30,94	0,19	0,63
31,15	31,02	0,13	0,43
31,13	30,99	0,13	0,43
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 31,12</b>	<b>30,91</b>	<b>0,21</b>	<b>0,67</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,03</b>	<b>0,12</b>	<b>0,10</b>	<b>0,32</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>3,33</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		
<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA II</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
31,03	30,78	0,25	0,80
31,05	31,02	0,04	0,11
31,10	31,02	0,08	0,26
31,08	30,80	0,28	0,92
31,03	30,98	0,05	0,17
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 31,06</b>	<b>30,92</b>	<b>0,14</b>	<b>0,45</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,03</b>	<b>0,11</b>	<b>0,10</b>	<b>0,34</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>2,49</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		

**TABELA 18: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE PELOS DOIS MÉTODOS, POR DOIS ANALISTAS DIFERENTES PARA AMOSTRAS DE MASSA A**

<b>Poi (%) a 20°C – ANALISTA I</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
56,13	55,80	0,34	0,60
56,19	55,82	0,37	0,65
56,24	55,86	0,38	0,67
56,25	55,83	0,42	0,75
56,27	55,82	0,45	0,80
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 56,21</b>	<b>55,83</b>	<b>0,39</b>	<b>0,69</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,05</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>	<b>0,07</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>14,41</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		
<b>Poi (%) a 20°C – ANALISTA II</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
55,67	55,56	0,11	0,20
55,48	55,49	-0,01	-0,02
55,59	55,59	0,00	0,00
55,53	55,49	0,04	0,07
55,54	55,52	0,02	0,04
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 55,56</b>	<b>55,53</b>	<b>0,03</b>	<b>0,06</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,06</b>	<b>0,04</b>	<b>0,04</b>	<b>0,08</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>0,85</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		

**TABELA 19: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE PELOS DOIS MÉTODOS, POR DOIS ANALISTAS DIFERENTES PARA AMOSTRAS DE MASSA B**

<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA I</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
46,71	46,95	-0,24	-0,52
47,10	47,13	-0,03	-0,06
47,16	47,18	-0,02	-0,04
47,14	47,14	0,00	0,00
47,13	46,74	0,40	0,85
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 47,05</b>	<b>47,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,17</b>	<b>0,17</b>	<b>0,21</b>	<b>0,44</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>0,17</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		
<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA II</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
46,82	46,28	0,54	1,16
46,89	46,44	0,45	0,96
46,92	46,59	0,33	0,72
46,80	46,38	0,42	0,92
46,90	46,78	0,12	0,26
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 46,87</b>	<b>46,49</b>	<b>0,37</b>	<b>0,80</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,05</b>	<b>0,17</b>	<b>0,14</b>	<b>0,31</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>4,11</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		

**TABELA 20: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE PELOS DOIS MÉTODOS, POR DOIS ANALISTAS DIFERENTES PARA AMOSTRAS DE MAGMA**

<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA I</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
55,34	55,67	-0,33	-0,59
55,53	55,61	-0,08	-0,14
55,57	55,72	-0,15	-0,28
55,52	55,70	-0,18	-0,32
55,16	55,69	-0,53	-0,95
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 55,43</b>	<b>55,68</b>	<b>-0,25</b>	<b>-0,45</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,15</b>	<b>0,04</b>	<b>0,16</b>	<b>0,29</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>3,20</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		
<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA II</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
55,97	55,21	0,76	1,37
56,10	55,55	0,55	0,99
56,04	55,66	0,37	0,67
56,20	55,59	0,62	1,11
56,09	55,44	0,65	1,17
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 56,08</b>	<b>55,49</b>	<b>0,59</b>	<b>1,06</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,08</b>	<b>0,16</b>	<b>0,13</b>	<b>0,23</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>6,77</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		

**TABELA 21: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE PELOS DOIS MÉTODOS, POR DOIS ANALISTAS DIFERENTES PARA AMOSTRAS DE MEL A**

<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA I</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
40,40	40,50	-0,10	-0,25
40,42	40,48	-0,06	-0,14
40,43	40,51	-0,08	-0,20
40,38	40,48	-0,09	-0,23
40,39	40,51	-0,11	-0,28
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 40,41</b>	<b>40,49</b>	<b>-0,09</b>	<b>-0,22</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,02</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>8,00</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		
<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA II</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
40,24	40,60	-0,37	-0,90
40,26	40,54	-0,27	-0,68
40,29	40,07	0,22	0,54
40,27	40,37	-0,10	-0,25
40,27	40,47	-0,19	-0,48
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 40,27</b>	<b>40,41</b>	<b>-0,14</b>	<b>-0,35</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,02</b>	<b>0,19</b>	<b>0,20</b>	<b>0,50</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>1,54</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		



**TABELA 22: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE PELOS DOIS MÉTODOS, POR DOIS ANALISTAS DIFERENTES PARA AMOSTRAS DE MEL B**

<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA I</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
40,04	40,22	-0,18	-0,45
40,09	40,12	-0,03	-0,08
40,14	40,15	-0,01	-0,03
40,13	40,16	-0,03	-0,08
40,18	40,15	0,02	0,06
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 40,11</b>	<b>40,16</b>	<b>-0,05</b>	<b>-0,12</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,04</b>	<b>0,03</b>	<b>0,07</b>	<b>0,17</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>1,52</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		
<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA II</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
39,81	38,55	1,26	3,27
39,80	38,99	0,80	2,06
39,93	39,08	0,85	2,17
39,96	39,08	0,88	2,25
39,98	39,11	0,87	2,22
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 39,90</b>	<b>38,96</b>	<b>0,93</b>	<b>2,40</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,08</b>	<b>0,21</b>	<b>0,17</b>	<b>0,44</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>8,37</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		

**TABELA 23: RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE SACAROSE PELOS DOIS MÉTODOS, POR DOIS ANALISTAS DIFERENTES PARA AMOSTRAS DE MEL FINAL**

<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA I</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
29,85	30,15	-0,30	-0,98
29,93	30,01	-0,08	-0,27
29,94	30,20	-0,26	-0,87
29,92	30,32	-0,40	-1,32
29,96	30,40	-0,44	-1,46
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 29,92</b>	<b>30,22</b>	<b>-0,30</b>	<b>-0,98</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,04</b>	<b>0,14</b>	<b>0,13</b>	<b>0,42</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>4,21</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		
<b>Pol (%) a 20°C – ANALISTA II</b>			
589 nm	880 nm	Diferença	Erro Rel.
29,62	29,44	0,18	0,62
29,76	29,94	-0,18	-0,61
29,84	30,14	-0,30	-0,98
29,93	29,73	0,19	0,65
29,94	30,05	-0,11	-0,38
<b>Média (<math>\bar{X}</math>) = 29,82</b>	<b>29,86</b>	<b>-0,04</b>	<b>-0,14</b>
<b>Desvio padrão (<math>\sigma</math>) = 0,12</b>	<b>0,25</b>	<b>0,20</b>	<b>0,66</b>
$t_{\text{calculado}}$	<b>0,30</b>		
$t_{\text{tabelado}}$	<b>2,31</b>		

Em todas essas tabelas pode ser observado que os valores obtidos pelos dois analistas usando tanto o método convencional, quanto o método proposto se apresentam próximos, enquanto o teste-T revela que são estatisticamente iguais, apenas os caldos e melaços que apresentam os valores de  $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$ , portanto ambos concordam entre si no intervalo de confiança de 95%. Assim pode-se dizer que o analista que domina o método convencional não tem

dificuldades em se adaptar ao método proposto, o que o qualifica para implementação nas unidades produtivas, sem necessidade de treinamentos especiais, nem o uso de instrumentação difícil de montar ou manusear, nem dificuldades com o tratamento de dados.

Foi observado que a metodologia proposta tem influência do analista em ambos os métodos (Visível e NIR) devido à dosagem de Celite<sup>®</sup> ou clarificante químico serem feitas manualmente, o que pode aumentar o desvio padrão nessas amostras, em que há necessidade de diluição. Tais influências podem ser observadas quando o teste *t* de um analista para o outro muda para a mesma amostra, como por exemplo, a massa A, massa B, mel A, mel B e mel final.

Quando o mesmo método é aplicado a mesma amostra por 2 analistas diferentes, remete-se ao fato de que raramente há concordância estatística entre os resultados, com 95% de confiança, segundo o teste *t* de Student, mostrando que os procedimentos executados afetam a ambos os métodos. Por outro lado, os erros relativos são, novamente, aceitáveis no processo produtivo.

Esses fatos mostram que o método baseado em polarimetria NIR sem clarificante pode ser utilizado no processo com erro aceitável.

Em relação aos dois analistas, operando métodos diferentes, pode-se observar que em poucos casos há concordância em 95% de confiança entre os resultados, segundo o teste *t*. Isso mostra que os métodos levam a não concordância entre si, estatisticamente. Entretanto, o erro relativo é no máximo 2,5%, plenamente aceitável no processo produtivo.

Foram, ainda realizadas medidas em dias diferentes, com a mesma amostra e pelo mesmo operador, com o propósito de verificar se o método proposto, acompanha as mudanças na amostra, em concordância com o método convencional. Foram utilizadas amostras de caldo misto, xarope e mel final. Infelizmente, só foi possível realizar uma medida em cada dia, por cada método, devido às limitações de tempo do operador, durante a safra. Os resultados podem ser vistos nas Tabelas 23-25.

**TABELA 24: RESULTADOS DA LEITURA SACARIMÉTRICA INTRA-DIAS PELOS DOIS MÉTODOS PARA AMOSTRAS DE CALDO MISTO**

°Z a 20°C			
ENSAIOS	589 nm	880 nm	Diferença
DIA 1	37,23	37,42	- 0,19
DIA 2	37,18	37,39	- 0,21
DIA 3	37,15	37,38	- 0,23

**TABELA 25: RESULTADOS DA LEITURA SACARIMÉTRICA INTRA-DIAS PELOS DOIS MÉTODOS PARA AMOSTRAS DE XAROPE**

°Z a 20°C			
ENSAIOS	589 nm	880 nm	Diferença
DIA 1	51,04	51,07	- 0,03
DIA 2	51,04	51,04	0,00
DIA 3	51,01	51,05	- 0,04

**TABELA 26: RESULTADOS DA LEITURA SACARIMÉTRICA INTRA-DIAS PELOS DOIS MÉTODOS PARA AMOSTRAS DE MEL FINAL**

°Z a 20°C			
ENSAIOS	589 nm	880 nm	Diferença
DIA 1	37,41	37,34	+ 0,07
DIA 2	37,42	37,33	+ 0,09
DIA 3	37,40	37,32	+ 0,08

Nessas tabelas é possível observar que ambos os métodos são capazes de detectar pequenas variações nos teores de sacarose em todas as amostras, com diferenças relativamente pequenas e compatíveis com as diferenças observadas

nos demais experimentos, o que permite inferir que os resultados apresentam semelhança estatística entre si, apesar de que não é possível realizar o teste-T, em função do número de replicatas.

## 5. CONCLUSÃO

O processo de preparação dos caldos e melaços para ambos os métodos são praticamente os mesmos, assim sendo possível dar continuidade na execução dos procedimentos analíticos já utilizados pelos analistas de laboratórios das usinas;

Estatisticamente, foi possível verificar que as amostras de caldo misto analisadas em ambos os métodos o valor de  $t_{\text{calculado}}$  foi menor que o valor de  $t_{\text{tabelado}}$ , assim se comprovou que os métodos produziram resultados sem diferenças em termos estatísticos para alguns caldos e melaços. Nas amostras com menor grau de pureza, como o mel final, ficou nítido o aumento no  $t_{\text{calculado}}$  para um dos analistas o que foi atribuído às interferências provocadas pelas impurezas presentes nas amostras no sinal da polarimetria digital, bem como a dosagem de celite;

As análises realizadas em ambos os métodos apresentaram boa repetibilidade, tendo se observado diferenças de medições com o erro relativo abaixo de 1,5%, sendo que as repetições no método NIR apresentaram alta precisão devido o desvio padrão ser menor que 0,5;

Considerando que os desvios padrão são relativamente pequenos em relação aos dois métodos em todas as amostras, resulta na não concordância estatística na maioria dos casos, mesmo sendo os resultados relativamente próximos em termos de erro relativo;

Os ensaios intra-dias possibilitou visualizar a aderência e sensibilidade de ambos os métodos nas amostras de caldo misto, xarope e mel final através da degradação de sacarose que foram realizados em três dias de testes com as mesmas amostras;

Conforme os resultados obtidos do método NIR, foi possível obter economia e redução dos custos analíticos em aproximadamente 83%, sem a necessidade de destinar os resíduos para locais especiais;

Não houve dificuldade de operação pelos analistas, quando usaram o método proposto, devido à sua semelhança com o procedimento convencional, o que sugere sua praticidade de implementação.

## **SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

- aplicação da polarimetria NIR para análises de Pol em caldos de cana para redução de gastos no laboratório de pagamento de cana;
- aplicação da polarimetria NIR para análises de Pol em amostras de bagaço, torta e mosto no laboratório industrial;
- aplicação da polarimetria NIR para análises de Pol em caldos de cana para elaboração da curva de calibração do espectrofotômetro NIR no laboratório de pagamento de cana;
- utilização de um sistema automático para filtração das amostras para diminuição do tempo de espera;
- testar novos papeis de filtros ou membranas com diferentes diâmetros para otimizar o processo de filtração das amostras.



## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, F. M. Processo de fabricação do açúcar. Recife – PE. 2009
- ALLINGER, N. L. Química Orgânica. Rio de Janeiro – RJ. 1976
- ALVES, E. R.; FERES, M. A.; Zagatto, ELIAS A. G.; LIMA, J. L. F. C. Exploiting Pulsed Flows for Heating Improvement: Application to Determination of Total Reducing Sugars in Molasses and Sugar-Cane Juices. CURRENT ANALYTICAL CHEMISTRY., 5: 65-69. 2009
- ATKINS, P., JONES, L. Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente. Porto Alegre. RS. 2001
- BERDING, N.; BROTHERTON, G.A.; LEBROCQ, D.G.; SKINNER, J.C.; Near-infrared reflectance spectroscopy for analysis of sugarcane from clonal evaluation trials .1. fibrated cane. CROP SCIENCE., 31:1017-1023. 1991
- BERDING, N.; BROTHERTON, G.A.; LEBROCQ, D.G.; SKINNER, J.C.; near-infrared reflectance spectroscopy for analysis of sugarcane from clonal evaluation trials .2. expressed juice. CROP SCIENCE., 31:1024-1028. 1991
- CADET, F; OFFMANN, B. Direct spectroscopic sucrose determination of raw sugar cane juices. Journal of Agricultural and Food Chemistry., 45:166-171. 1997
- CALDAS, C. Manual de análises selecionadas para indústrias sucroalcooleiras. Maceió - AL: Sindicato da Indústria do Açúcar e do Álcool no Estado de Alagoas; Cooperativa Regional dos Produtores de Açúcar e de Álcool de Alagoas; Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil (STAB - Regional Leste). 1998.
- CALDAS, C. Teoria básica das análises sucroalcooleiras. Maceió - AL: Central Analítica. 2005.
- COSTA, C. B. B. Introdução à cristalização: princípios e aplicações. São Carlos – SP 2010
- COZZOLINO, D.; CORBELLA, E.; SMYTH, H. E. Quality Control of Honey Using Infrared Spectroscopy: A Review. Applied Spectroscopy Reviews., 46: 523-538. 2011
- CTC – Centro de Tecnologia Canavieira. Manual de controle químico da fabricação de açúcar. Piracicaba – SP 2011

EWING, G. W. Métodos instrumentais de análise química. São Paulo – SP 1972 – Volume I

FARINE, S.; ESTOUPAN, S.; PUIGSERVER., A; BIAGINI, A.; MALGOYRE, R. Degradation of sucrose during sugar processing - II. Storage study of refinery liquors at specific processing steps. INTERNATIONAL SUGAR JOURNAL., 102: 182. 2000

FERMENTEC. Métodos analíticos para o controle da produção de álcool e açúcar. Piracicaba – SP 1996

FERNANDES, A. C. Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar. São Paulo – SP. 2005

FREIRE, V. Polarímetro digital. Curitiba – PR. 2006 UnicenP (monografia)

HALLIDAY, D. Fundamentos de física 4, Ótica e física moderna. Rio de Janeiro: LTC, 1991.

HAMERSK. F. Estudo de variáveis no processo de carbonatação do caldo de cana-de-açúcar. Curitiba – PR: UFPR. 2009 (dissertação)

HARRIS, D. C. Análise Química Quantitativa. Rio de Janeiro: LTC, 2001

HOAREAU, W.; HOAREAU, S.; PETIT, A.; ROUSSEL, C.; CORCODEL, L. Non-lead polarimetry for sugarcane juice and factory products. ZUCKERINDUSTRIE., 135: 69-81. 2010

HUGOT, E. Manual para Ingenieros Azucareros. Holanda, 1986

ICUMSA. *Draft method n° 9: Method for determination of Polarization and Brix without wet lead clarification for all factory products – CERF method.* Berlin – Germany. 2007

ICUMSA. *Method 7/4/8-23: The determination of Sucrose, Glucose and Fructose by HPLC in cane molasses and Sucrose in Boel molasses.* Berlin – Germany. 2002

ICUMSA. *Method GS 1/2/3-2: The determination of the polarization of raw sugar without wet lead clarification – tentative.* Berlin – Germany. 2005

ICUMSA. *Method GS 1/2/3-2: The determination of the polarization of raw sugar without wet lead clarification – tentative.* Berlin – Germany. 2009

ICUMSA. *Method GS1/2/3/9-1: The determination of the polarization of raw sugar by polarimetry – Official.* Berlin – Germany. 2007

ICUMSA. *Method GS1/2/3/9-1: The determination of the polarization of raw sugar by polarimetry – Official.* Berlin – Germany. 2009

ICUMSA. *Method GS4/3-13: The determination of refractometric dry substance (RDS%) of molasses and very pure syrups (liquid sugar) – Accepted.* Berlin – Germany. 2007

ICUMSA. *Method GS4/3-13: The determination of refractometric dry substance (RDS%) of molasses – Accepted; and very pure syrups (liquid sugar) thick juice and run-off syrups – Official.* Berlin – Germany. 2009

ICUMSA. *Method GS4/7-1: The determination of apparent sucrose in molasses by a double polarization method – Accepted.* Berlin – Germany. 1994

ICUMSA. *Method GS5/7-1: The determination of Pol (Polarization), brix and fibre in cane and bagasse by the wet disintegrator method – Official.* Berlin – Germany. 1994

ICUMSA. *Specification and Standard SPS-1: Polarimetry and the International Sugar Scale - Official.* Berlin – Germany. 2007

ICUMSA. *Specification and Standard SPS-1: Polarimetry and the International Sugar Scale - Official.* Berlin – Germany. 2009

ICUMSA. *Specification and Standard SPS-3: Refractometry and Tables.* Berlin – Germany. 2000

INMETRO. *Vocabulário internacional de termos fundamentais e gerais de metrologia.* Duque de Caxias – RJ. 1995

IRUDAYARAJ, J; Xu, F; TEWARI, J. Rapid determination of invert cane sugar adulteration in honey using FTIR spectroscopy and multivariate analysis. *Journal of Food Science.*, 68: 2040-2045. 2003

JUNIOR, A.C.B. *Fundamentos de balanços de massa e energia.* São Carlos – SP. 2010

KUCHEJDA, M.; RAMIREZ, S.; YILMAZ, S. NIR polarimetry/sample preparation for sucrose measurement and assessment of an automated system for colour, turbidity and ash determination. *International Sugar Journal.*, 107: 302-307. 2005

LAPPONI, J. C. *Estatística usando Excel.* São Paulo – SP. 2000

LEHNINGER, A. L. *Princípios de Bioquímica.* São Paulo: Sarvier, 2006

LIU, Y.D.; YING, Y.; YU, H.Y.; FU, X.P. Comparison of the HPLC method and FT-NIR analysis for quantification of glucose, fructose, and sucrose in intact apple fruits. *Journal of agriculture and food chemistry.*, 54: 2810-2815. 2006

LOPES, C. H. Controle na fabricação de álcool. São Carlos – SP. 2010

MAGANA, C.; NUNEZ-SANCHEZ, N.; FERNANDEZ-CABANAS, V. M.; GARCIA, P.; SERRANO, A.; PEREZ-MARIN, D.; PEMAN, J. M.; ALCALDE, E. Direct prediction of bioethanol yield in sugar beet pulp using Near Infrared Spectroscopy. *Bioresource Technology.*, 102: 9542-9549. 2011

Manual do CONSECANA-SP. São Paulo, 2005

MATTOS, I.L.; ZAGATTO, E.A.G.; JACINTHO, A.O. Spectrophotometric Flow-Injection Determination Of Sucrose And Total Reducing Sugar In Sugar-Cane Juice And Molasses. *ANALYTICA CHIMICA ACTA.*, 214: 247-257. 1988

MCCLURY, W. F.; MAEDA, H.; DONG, J.; LIU, Y. L.; OZAKI, Y. Two-dimensional correlation of Fourier transform near-infrared and Fourier Transform Raman spectra I: Mixtures of sugar and protein. *Applied Spectroscopy.*, 50: 467-475. 1996

MCMURRY, J. Química Orgânica. São Paulo: Cengage Learning, 2011

MEYER, J.H. Near-Infrared reflectance spectroscopy for analysis of sugarcane from clonal evaluation trials.1.Fibrated cane; *Crop Science.*, 31: 1017-1023. 1991

MEYER, J.H. Near-Infrared reflectance spectroscopy for analysis of sugarcane from clonal evaluation trials.2.Expressed juice; *Crop Science.*, 31: 1024-1028. 1991

MEYER, J.H. Review of near infra-red spectroscopy research in the South African sugar industry. *South African Sugar Technologists Association.*, 71: 33-37. 1997

OMAR, A. F.; ATAN, H.; MATJAFRI, M. Z.; Peak Response Identification through Near-Infrared Spectroscopy Analysis on Aqueous Sucrose, Glucose, and Fructose Solution. *Spectroscopy Letters.*, 45: 190-201. 2012

PATON, N.H; PLAYER, M.R; URQUHART, RM; DUONG, M. The use of near-infrared polarimetry to determine the polarization of raw sugar. *Zuckerindustrie.*, 118: 705-709. 1993

QUEJI, M. D.; WOSIACKI, G; CORDEIRO, G. A.; PERALTA-ZAMORA, PATRICIO G.; NAGATA, N. Determination of simple sugars, malic acid and total phenolic compounds in apple pomace by infrared spectroscopy and PLSR. *International Journal of Food Science and Technology.*, 45: 602-609. 2010

RAMÍRES, S. Modern Developments in the Fields of Laboratory Analysis and Process Measurement Improving the Control of Sugar Factories. SCHMIDT & HAENSCH GMBH & CO. Berlin, 2003

RIOS-CORRIPIO, M. A.; ROJAS-LOPEZ, M.; DELGADO-MACUIL, R. Analysis of adulteration in honey with standard sugar solutions and syrups using attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate methods., 10: 119-122. 2012

ROGGO, Y.; DUPONCHEL, L.; NOE, B.; HUVENNE, J. P. Sucrose content determination of sugar beets by near infrared reflectance spectroscopy. Journal of near-infrared spectroscopy., 10: 137-150. 2002

SCHAFFLER, K.J. Automated routine analysis of quality parameters in sugar cane juices and molasses by NIR. International Society of sugar cane technologists., 1: 143-146. 2001

SCHAFFLER, K.J; DE GAYE, M.T.D. Rapid near infra-red estimation of multi-components in mixed juice and final molasses: The possibility of day-to-day control of raw sugar factories using NIR. South African Sugar Technologists Association., 71: 153-160. 1997

SCHAFFLER, K; DAYLEWIS, CMJ; CLARKE, M; JEKOT, J. Determination of sugars in beet and cane final molasses by ion chromatography: Collaborative study. JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL., 80: 603-610. 1997

SCHMIDT S; YILMAZ S; KUCHEJDA M. Automatic sugar beet juice polarimetry test sample preparation procedure presses sliced beets then filters juice further after pressing with siliceous Earth. SCHMIDT & HAENSCH GMBH & CO.

SCHOONEES B. M. Transition from leaded pol to NIR pol in the South African sugar industry. Sugar Milling Research Institute. Durban, South Africa. 2003

SIVAKESAVA, S; IRUDAYARAJ, J. Classification of simple and complex sugar adulterants in honey by mid-infrared spectroscopy. International Journal of Food Science and Technology., 37: 351-360. 2002

SKOOG, D. A., LEARY, J. J. Principles of instrumental analysis. New York – USA. 1992

SUHANDY, D.; SUZUKI, T.; OGAWA, Y.; KONDO, N.; ISHIHARA, T.; TAKEMOTO, Y. A Quantitative Study for Determination of Sugar Concentration Using Attenuated Total Reflectance Terahertz (ATR-THz) Spectroscopy. SENSING FOR AGRICULTURE AND FOOD QUALITY AND SAFETY III., 8027. 2011

TEWARI, J; MEHROTRA, R; IRUDAYARAJ, J. Direct near infrared analysis of sugar cane clear juice using a fibre-optic transmittance probe. Journal of near-infrared spectroscopy., 11: 351-356. 2003

TUMANG, C.A.; TOMAZZINI, M.C.; REIS, B.F. Automatic procedure exploiting multicommutation in flow analysis for simultaneous spectrophotometric determination of nonstructural carbohydrates and reducing sugar in forage materials. ANALYTICAL SCIENCES.,19: 1683-1686. 2003

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Validation of multivariate calibration models in the determination of sugar cane quality parameters by near infrared spectroscopy. Journal of Brazilian Chemical Society.,18: 259-266. 2007

WALFORD, SN. Applications of ion chromatography in cane sugar research and process problems. JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A., 956: 187-199. 2002

WALFORD, S.N.; SCHAFFLER, K.J.; DU BOIL, P.G.M. Chromatographic solutions for sugar processing. INTERNATIONAL SUGAR JOURNAL.,107: 90. 2005

WILLARD, H. H., MERRITT L. L., DEAN J.A., Análise Instrumental. Nova York – EUA. 1974

XIN, W.; HUA-JUN, Y.; QING-TAO, L.; JIN-CHUN, X.; JIA-JIONG, L.; A-LIN, X.; JIAN, W. Determination of Brix and POL in Sugar Cane Juice by Using Near Infrared Spectroscopy Coupled with BP-ANN. Spectroscopy and spectral analysis., 30: 1759-1762. 2010

ZAGATTO, E.A.G.; MATTOS, I.L.; JACINTHO, A.O. Determination Of Sucrose In Sugar-Cane Juice And Molasses By Flow-Injection Spectrophotometry. ANALYTICA CHIMICA ACTA., 204: 259-270. 1988