



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

MIRELLE MÁRCIO SANTOS CABRAL

**ESTUDO DA RELAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS COM A FORMAÇÃO DE
COR NO PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE AÇÚCAR VHP**

Recife

2023

MIRELLE MARCIO SANTOS CABRAL

**ESTUDO DA RELAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS COM A FORMAÇÃO DE
COR NO PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE AÇÚCAR VHP**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

Área de concentração: Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Orientadora: Profa. Dra. Yeda Medeiros Bastos de Almeida.

Coorientadora: Prof. Dr. Celso Silva Caldas.

Profa. Dra. Samara Alvachian Cardoso Andrade.

Recife

2023

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Sandra Maria Neri Santiago, CRB-4 / 1267

C117e Cabral, Mirelle Marcio Santos.
Estudo da relação dos compostos fenólicos com a formação de cor no processo de fabricação de açúcar VHP / Mirelle Marcio Santos Cabral. – 2023.
126 f.: il., fig., tab., abrev. e siglas.

Orientadora: Profa. Dra. Yeda Medeiros Bastos de Almeida.
Coorientador: Prof. Dr. Celso Silva Caldas.
Coorientadora: Profa. Dra. Samara Alvachian Cardoso Andrade.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Recife, 2023.
Inclui referências e apêndice.

1. Engenharia química. 2. Açúcar VHP. 3. Cana-de-açúcar. 4. Compostos fenólicos. 5. Cor. 6. Ácido clorogênico. I. Almeida, Yeda Medeiros Bastos de (Orientadora). II. Caldas, Celso Silva (Coorientador). III. Andrade, Samara Alvachian Cardoso (Coorientadora). IV. Título.

UFPE

660.2 CDD (22. ed.)

BCTG/2023-267

MIRELLE MÁRCIO SANTOS CABRAL

**ESTUDO DA RELAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS COM A FORMAÇÃO DE
COR NO PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE AÇÚCAR VHP**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Química. Área de concentração: Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Aprovado em: 17 / 07 / 2023.

BANCA EXAMINADORA

Participação por videoconferência

Profa. Dra. Andrelina Maria Pinheiro Santos (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Participação por videoconferência

Prof. Dr. Djalma Euzébio Simões Neto (Examinador Externo)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Participação por videoconferência

Profa. Dra. Eliane Bezerra de Moraes Medeiros (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Participação por videoconferência

Profa. Dra. Glória Maria Vinhas (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Participação por videoconferência

Prof. Dr. Nelson Medeiros de Lima Filho (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho a toda minha família, pessoas essenciais em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me deu força e sabedoria para nunca desistir nos momentos difíceis, sempre mantendo a fé.

Aos meus pais, Marcelo e Edeusa, e minhas irmãs, Márcia e Marcella, que sempre me apoiaram e nunca me deixaram nada faltar para que eu pudesse alcançar meus objetivos.

A minha esposa Wagner Juliana que, com muito amor e paciência, sempre esteve ao meu lado, e meus filhos, Mirella e Rodrigo.

A professora Dra. Yeda Medeiros, pela orientação, sempre disposta a ajudar com muita sabedoria.

A professora Dra. Samara Andrade e professor Celso Caldas, pela coorientação e grandes ensinamentos, os quais foram a base para o desenvolvimento deste trabalho.

A todos os professores do departamento de Química do Instituto Federal de Alagoas – Campus Maceió, pela grande contribuição neste trabalho.

A todos que fazem parte das usinas Porto Rico e Santa Maria, pelo acesso e ajuda para o desenvolvimento da pesquisa.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização desse trabalho.

RESUMO

Este trabalho estuda a relação da formação de cor associada a presença de compostos fenólicos encontrados durante o processamento da cana-de-açúcar, desde a matéria-prima *in natura* até à obtenção do açúcar VHP. Todas as amostras coletadas e analisadas nesta pesquisa foram obtidas em parceria com duas usinas produtoras de açúcar VHP do estado de Alagoas. Foi avaliada a cor do caldo de cana-de-açúcar em um planejamento experimental 2³, tendo como variáveis independentes: concentração de impureza vegetal (5 e 10%), variedade de cana (RB92579 e VAT90-212) e tipo de colheita (mecanizada e manual). A maior intensidade de cor (27365 UI) foi encontrada na variedade RB92579 e colheita mecanizada, onde a concentração de impureza vegetal não apresentou influência significativa, dentro dos limites pré-estabelecidos para este estudo. A variedade VAT90-212 colhida manualmente apresentou menor índice de cor. A variedade da cana-de-açúcar foi a variável que obteve maior influência sobre a cor, confirmando que o genótipo RB92579 fornece um caldo mais escuro ao processo de fabricação de açúcar. Foi constatado que a colheita mecanizada promove escurecimento do caldo de cana-de-açúcar. Os polifenóis catequina (CAT), ácido clorogênico (ACL), ácido cafeico (ACF), vanilina (VAN), seringaldeído (SIR), ácido *p*-cumárico (ACU), cumarina (CUM) e rutina (RUT) foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O acompanhamento do processo de fabricação de açúcar VHP foi realizado em seis pontos do processamento da cana-de-açúcar, os quais foram designados da seguinte forma: caldo cru, caldo misto, caldo caleado, caldo clarificado, xarope, massa cozida. Os maiores índices de ACL, SIR e CUM foram obtidos no produto de cristalização da sacarose (massa cozida), da mesma forma que a cor, fenóis totais e o conteúdo total de polifenóis. ACL foi o polifenol predominante nas amostras de caldo clarificado, xarope, massa cozida e açúcar VHP, nesta última com concentrações acima de 50%. A presença de compostos fenólicos proporcionou diferentes índices relacionados à cor durante o processo de produção. Nesse contexto, o ácido clorogênico (ACL) foi o composto que apresentou os resultados mais expressivos, contribuindo de forma significativa na formação de cor nos produtos de processamento da cana-de-açúcar, fato este ainda não reportado na literatura. A cor dos cristais açúcar VHP também teve relação positiva com a concentração dos fenólicos, com maior evidência para ACL.

Palavras-chave: açúcar VHP; cana-de-açúcar; compostos fenólicos; cor; ácido clorogênico.

ABSTRACT

This work studies the relationship between the formation of color associated with the presence of phenolic compounds found during the processing of sugarcane, from raw material in natura to obtaining VHP sugar. All samples collected and analyzed in this research were obtained in partnership with two VHP sugar producing plants in the state of Alagoas. The color of sugarcane juice was evaluated in an experimental design 2³, having as independent variables: concentration of impurity (5 and 10%), sugarcane variety (RB92579 and VAT90-212) and type of harvest (mechanized and manual). The highest color intensity (27365 IU) was found in the variety RB92579 and mechanized harvest, where the concentration of vegetable impurity did not have a significant influence, within the limits established for this study. The VAT90-212 variety harvested manually had the lowest color index. The variety of sugar cane was the variable that had the greatest influence on color, confirming that the RB92579 genotype provides a darker juice for the sugar manufacturing process. It was found that mechanized harvesting promotes browning of sugarcane juice. The polyphenols catechin (CAT), chlorogenic acid (ACL), caffeic acid (ACF), vanillin (VAN), syringaldehyde (SIR), p-coumaric acid (ACU), coumarin (CUM) and rutin (RUT) were quantified by high-performance liquid chromatography (HPLC). Monitoring of the VHP sugar manufacturing process was carried out at six sugarcane processing points, which were designated as follows: raw juice, mixed juice, lime-treated juice, clarified juice, syrup, massecuite, and VHP sugar. The highest concentrations of ACL, SIR and CUM were obtained from the sucrose crystallization product (massecuite), similarly to the parameters of color, total phenols and the total polyphenol content. ACL was the predominant polyphenol in the samples of clarified juice, syrup, massecuite and VHP sugar, with the latter presenting concentrations above 50%. The presence of phenolic compounds provided different indices of color during the production process. In this context, chlorogenic acid (ACL) was the compound that presented the most expressive results, contributing significantly to the formation of color in sugarcane processing products, a fact that has not yet been reported in the literature. The color of the VHP sugar crystals also had a positive relationship with the concentration of phenolics, with greater evidence for ACL.

Key words: VHP sugar; sugar cane; phenolic compounds; color; chlorogenic acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Fluxograma do processo de fabricação de açúcar VHP.....	24
Figura 2 –	Reação de oxidação de fenóis.....	29
Figura 3 –	Estrutura química dos flavonoides.....	31
Figura 4 –	Estrutura química da catequina.....	34
Figura 5 –	Exemplos de estruturas químicas dos derivados de apigenina, luteolina e tricina.....	35
Figura 6 –	Estrutura química do ácido 5-cafeoilquínico.....	38
Figura 7 –	Estruturas químicas do ácido o-cumárico e cumarina.....	39
Figura 8 -	Principais produtos obtidos do processo de fabricação do açúcar VHP.....	48
Figura 9 –	Cromatógrafo Shimadzu (LC-20A).....	53
Figura 10 –	Cromatograma da solução mix a 200 mg/L dos padrões analíticos.....	61
Figura 11 –	Identificação de outliers através dos resíduos de regressão.....	63
Figura 12 –	Gráficos de probabilidade normal.....	65
Figura 13 –	Curvas de calibração.....	67
Figura 14 –	Correlação entre a cor e (a) fenóis totais (b) polifenóis.....	72
Figura 15 –	Superfícies de respostas para (a) fenóis totais (b) cor e (c) seringaldeído: variedade de cana-de-açúcar x tipo de colheita.....	75
Figura 16 –	Superfície de resposta para (a) ácido cafeico e (b) catequina: tipo de colheita x variedade de cana.....	77
Figura 17 –	Superfícies de respostas para (a) ácido p-cumárico e (b) ácido clorogênico: tipo de colheita x variedade da cana e (c) cumarina: tipo de colheita x % impureza vegetal.....	78
Figura 18 –	Correlação entre a cor e os polifenóis (a) catequina (b) ácido cafeico.....	79
Figura 19 –	Relação entre cor e rutina em (a) UA e (b) UB.....	85
Figura 20 –	Relação entre cor e vanilina em (a) UA e (b) UB.....	86
Figura 21 –	Relação entre cor e catequina em (a) UA e (b) UB.....	86
Figura 22 –	Relação entre cor e ácido clorogênico em (a) UA e (b) UB.....	87
Figura 23 –	Relação entre cor e ácido cafeico em (a) UA e (b) UB.....	88
Figura 24 –	Relação entre cor e seringaldeído em (a) UA e (b) UB.....	89
Figura 25 –	Relação entre cor e ácido p-cumárico em (a) UA e (b) UB.....	89
Figura 26 –	Relação entre cor e cumarina em (a) UA e (b) UB.....	90
Figura 27 –	Correlação entre a cor e o °Brix durante os estágios de evaporação.....	92

Figura 28 – Perfil fenólico no processo de evaporação para (a) ácido p-cumárico e (b) cumarina.....	93
Figura 29 – Correlação a cor e (a) °Brix (b) fenóis totais durante o processo de cozimento do açúcar.....	94
Figura 30 – Perfil fenólico no processo de cozimento para o ácido clorogênico.....	95
Figura 31 – Cromatograma do açúcar VHP.....	96
Figura 32 – Correlação entre cor do açúcar VHP e (a) fenóis totais (b) conteúdo total de polifenóis (c) ácido clorogênico (d) vanilina (e) ácido p-cumárico (f) cumarina.....	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Censo varietal de cana de açúcar no estado de Alagoas, safra 2017/2018.	21
Tabela 2 –	Níveis codificados e decodificados das variáveis independentes do planejamento fatorial 2^3	50
Tabela 3 –	Tempos de retenção (TR) obtidos por CLAE para padrões de compostos fenólicos na concentração de 10 mg/L.	60
Tabela 4 –	Teste de Levene para homoscedasticidade.	64
Tabela 5 –	Análise da variância (ANOVA) da regressão.....	66
Tabela 6 –	Teste de repetibilidade para solução mix de concentração teórica de 10 ppm.	69
Tabela 7 –	Teste de repetibilidade para solução mix de concentração teórica de 5 ppm.	69
Tabela 8 –	Limites de detecção e quantificação obtidos para as curvas de calibração dos compostos fenólicos.	70
Tabela 9 –	Respostas das variáveis dependentes do Planejamento Fatorial 2^3	71
Tabela 10 –	Análise de variância do planejamento fatorial 2^3	73
Tabela 11 –	Efeitos das variáveis independentes.	74
Tabela 12 –	°Brix e cor para as etapas de fabricação do açúcar VHP de UA e UB.....	80
Tabela 13 –	Fenóis totais e conteúdo total de polifenóis para as etapas de fabricação do açúcar VHP de UA e UB.	83
Tabela 14 –	Polifenóis identificados nas etapas de fabricação de açúcar VHP na usina A (UA).	84
Tabela 15 –	Polifenóis identificados nas etapas de fabricação de açúcar VHP na usina B (UB).	85
Tabela 16 –	°Brix, cor, fenóis e polifenóis durante os estágios de evaporação.	91
Tabela 17 –	°Brix, cor, fenóis totais e polifenóis durante o cozimento do açúcar.	93
Tabela 18 –	Cor, fenóis totais e polifenóis para o açúcar VHP.	96

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABS	Absorbância
ACF	Ácido cafeico
ACL	Ácido clorogênico
ACU	Ácido <i>p</i> -cumárico
CAT	Catequina
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CTC	Centro de Tecnologia Canavieira
CUM	Cumarina
CV	Coefficiente de variação
DP _B	Desvio padrão da área do branco
EMPAT	Empresa Alagoana de Terminais LTDA
GL	Graus de liberdade
IAC	Instituto Agrônômico
IC	Inclinação da reta
ICUMSA	International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis
IV	Impureza vegetal
HADP	Produtos de Degradação Alcalina da Hexoses
HMF	Hidroximetilfurfural
LC	Cromatografia Líquida
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MG _R	Média quadrática de regressão
MQ _T	Média quadrática total
MS	Espectrofotometria de Massa
PLANALSUCAR	Programa Nacional de Melhoramento da Cana-de-açúcar
PPO	Polifenoloxidase
RIDESA	Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro
RUT	Rutina
SIR	Seringaldeído
SRI	Sugar Research Institute
SQ _R	Soma quadrática da regressão

SQ _T	Soma quadrática total
TC	Tipo de colheita
TR	Tempo de retenção
UV-VIS	Ultravioleta Visível
UI	Unidades ICUMSA
VAN	Vanilina
VC	Variedade de cana
VHP	Very High Polarization
VVHP	Very Very High Polarization
°Brix	Graus Brix

LISTAS DE SÍMBOLOS

a	Coeficiente linear
A	Comprimento interno da cubeta
b	Coeficiente angular
B	Concentração do filtrado em g/mL em função do °Brix
C	Cor na equação polinomial do planejamento experimental
e	Resíduo
F	Coeficiente teste F
J	O resíduo padronizado de Jackknife
k	Número de níveis distintos da variável independente
n	Número de níveis da curva de calibração
p	Nível de confiança
p	Número de parâmetros do modelo
q	Valor normal
r	Coeficiente de correlação
r	Resíduo padronizado
R	Coeficiente de Ryan-Joiner
R^2	Coeficiente de determinação
s	Desvio padrão
x	Concentração dos analitos
z	Valor transformado do teste de Levene
y	Resposta medida (área do pico)
Y	Variável independente planejamento experimental
B	Coeficiente de regressão do planejamento experimental
\bar{x}	Média das áreas de pico
Φ^{-1}	Inverso de uma distribuição normal padrão
°C	Graus Celsius
°Z	Graus Zuker

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
2.1	CANA-DE-AÇÚCAR.....	19
2.1.1	Variedades de cana-de-açúcar	20
2.2	TIPOS DE AÇÚCAR.....	21
2.3	PARÂMETROS DE QUALIDADE DO AÇÚCAR VHP (VERY HIGH POLARIZATION)	22
2.3.1	Pol	22
2.3.2	Umidade	22
2.3.3	Cor	22
2.4	PROCESSO DE FABRICAÇÃO DO AÇÚCAR VHP	22
2.5	PRECURSORES DO ESCURECIMENTO DO AÇÚCAR.....	27
2.6	COMPOSTOS FENÓLICOS.....	29
2.6.1	Flavonoides	30
2.6.1.1	Antocianinas.....	32
2.6.1.2	Flavanas	33
2.6.1.3	Flavonas	34
2.6.1.4	Flavonóis.....	35
2.6.2	Ácidos fenólicos	36
2.6.3	Taninos	39
2.6.4	Ligninas	40
2.6.5	Vanilina e seringaldeído	41
2.6.6	Compostos fenólicos na cana-de-açúcar e seus produtos	42
3	MATERIAIS E MÉTODOS	47
3.1	AMOSTRAS.....	47
3.1.1	Delineamento experimental para avaliação da matéria-prima	47
3.1.2	Etapas do processamento do açúcar VHP	47
3.1.3	Evaporação	48
3.1.4	Cozimento	48
3.1.5	Açúcar VHP	49
3.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	49
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	50

3.4	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	50
3.4.1	pH	50
3.4.2	Sólidos solúveis totais (Brix)	50
3.4.3	Cor ICUMSA	51
3.4.4	Fenóis totais	51
3.5	ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS.....	52
3.5.1	Padrões e reagentes	52
3.5.2	Extração	52
3.5.3	Determinação dos compostos fenólicos	52
3.5.4	Validação do método analítico	54
3.5.4.1	Seletividade.....	54
3.5.4.2	Linearidade.....	54
3.5.4.3	Precisão	58
3.5.4.4	Limites de detecção e quantificação	59
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.1	TEMPOS DE RETENÇÃO	60
4.2	VALIDAÇÃO DO MÉTODO	61
4.2.1	Seletividade	61
4.2.2	Linearidade	61
4.2.3	Precisão	68
4.2.4	Limites de detecção e quantificação	69
4.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL: AVALIAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	70
4.4	ETAPAS DE PROCESSAMENTO DO AÇÚCAR VHP	79
4.4.1	°Brix e Cor ICUMSA	79
4.4.2	Fenóis totais e conteúdo total de polifenóis	82
4.4.3	Quantificação dos compostos fenólicos e sua relação com a cor	83
4.5	EVAPORAÇÃO	90
4.6	COZIMENTO	93
4.7	AÇÚCAR VHP	95
5	CONCLUSÃO	99
6	RECOMENDAÇÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS ...	100
	REFERÊNCIAS	101
	APÊNDICE A – CROMATOGRAMAS DAS SOLUÇÕES PADRÃO (10 mg/L) DOS COMPOSTOS FENÓLICOS	118

1 INTRODUÇÃO

A produção mundial de açúcar se aproxima de 200 milhões de toneladas, onde o Brasil é o maior produtor com aproximadamente 20% desse total (USDA, 2021). O açúcar VHP (*Very High Polarization*) é utilizado em diversos países como matéria-prima para produção do açúcar refinado ou em outros processos de industrialização (MORILLA *et al.*, 2015). Do total de açúcar bruto produzido no mundo, mais de 70% do açúcar é processado a partir da cana-de-açúcar, enquanto o restante é produzido com beterraba sacarina (ZHANG *et al.*, 2021)

O Brasil na safra 2022/23 produziu 37 milhões de toneladas de açúcar, sendo Alagoas o maior produtor da região nordeste com a produção de 1,7 milhões (CONAB, 2023).

A produção de açúcar VHP é praticamente toda destinada ao mercado externo, onde os principais países compradores do açúcar brasileiro no de 2022 foram: China, que comprou US\$ 1,3 bilhão, seguida pela Argélia e Marrocos com aproximadamente 6% cada, Indonésia e Bangladesh, com pouco mais de 5% cada, Canadá e Nigéria, com 4,9%. Juntos, estes países representam metade de todo o volume exportado (CONAB, 2022).

O açúcar VHP de Alagoas é produzido exclusivamente para atender o mercado externo, sendo responsável pela maior parte dos produtos exportados no porto de Maceió. De acordo com Nealdo (2022) esse produto registrou exportações de US\$ 314 milhões em 2022, o equivalente a 71% do total exportado pelo estado.

Nos últimos anos, o estado de Alagoas vem enfrentando dificuldades para garantir a qualidade do açúcar VHP dentro dos padrões internacionais de exportação. O parâmetro de qualidade que mais penaliza as indústrias produtoras é a cor. De acordo com EMPAT (2018) mais de 50% destas empresas têm dificuldade na fabricação de açúcar VHP com cor < 1000 UI (Unidades ICUMSA). Segundo EMPAT (2018), em média, 40% do açúcar VHP produzido em Alagoas apresentam cor fora do padrão, sendo que na safra 2014-2015 73% dos embarques destinados à cota mundial tiveram seus resultados de cor acima de 1000 UI.

Um dos principais fatores para o controle da produção de qualquer tipo de açúcar é a qualidade da matéria-prima. Cana-de-açúcar no estado de maturação completa e com eficiente controle de impurezas proporciona a unidade industrial grandes possibilidades de produção de açúcar no mais alto padrão de qualidade (BARROS *et al.*, 2018). Nas últimas décadas houve um aumento significativo na oferta de genótipos de cana-de-açúcar com excelente produtividade agrícola e industrial. Entretanto, alguns deles trazem consigo compostos que

agregam cor ao caldo, interferindo negativamente no controle de qualidade da fábrica. Um exemplo no Brasil é o genótipo RB92579, desenvolvido pela RIDESA (Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucoenergético), o qual em menos de 20 anos após seu início de cultivo comercial já alcançou a terceira posição de cultivo nos canaviais brasileiros com mais de 487 mil hectares plantados (OLIVEIRA *et al.*, 2021). No entanto, este genótipo oferece um caldo extremamente escuro e com alto teor de fenóis, dificultando a produção de açúcar de menor cor (AZEVEDO *et al.*, 2019).

A cor é um dos principais fatores de qualidade do açúcar, sendo um importante atributo utilizado para determinar o preço na sua comercialização (OLIVEIRA *et al.*, 2007; REIN, 2012). A remoção da cor gerada durante o processamento de açúcar bruto representa um custo elevado para a indústria de refino de açúcar, sendo um dos principais gargalos do processo industrial (FANG *et al.*, 2019). Os componentes químicos responsáveis pelo escurecimento do açúcar são encontrados na própria matéria-prima (cana-de-açúcar) ou originados durante o processo de produção. Dentre os compostos fenólicos presentes no caldo de cana-de-açúcar se destacam os flavonoides e ácidos fenólicos, principalmente os ácidos cafeico, sinápico e clorogênico (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006).

A busca por um processo de remoção de cor mais eficiente e de menor custo para o açúcar VHP é um desafio constante para indústria açucareira, sendo necessário um melhor conhecimento do comportamento dos compostos que agregam cor ao longo das etapas de produção, como os polifenóis. Diante do exposto foi realizada uma investigação sobre a influência dos compostos fenólicos na formação de cor dos produtos de beneficiamento da cana-de-açúcar para a produção de açúcar VHP.

Este trabalho tem por objetivo geral avaliar a relação entre os compostos fenólicos e a formação de cor no processo de fabricação de açúcar VHP, desde a matéria-prima até o produto final.

Como objetivos específicos:

- Validar um método de análise cromatográfica satisfatória para análise de compostos fenólicos nos produtos de em produtos da fabricação de açúcar VHP.
- Avaliar a matéria prima considerando a influência da impureza vegetal, variedades de cana e tipo de colheita sobre a cor, fenóis totais e compostos fenólicos;
- Identificar e avaliar as etapas do processo produtivo do açúcar VHP que possuem maior influência na formação de cor;

- Quantificar os fenóis totais e compostos fenólicos nas principais etapas do processo produtivo do açúcar VHP;
- Avaliar a cor, compostos fenólicos e fenóis totais em diferentes níveis de concentração do caldo, durante os estágios de evaporação;
- Avaliar a cor, compostos fenólicos e fenóis totais durante o processo de cozimento do açúcar;

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo foi realizada uma revisão bibliográfica sobre os principais aspectos relacionados a esta pesquisa. Foram eles: cana-de-açúcar, tipos de açúcar, parâmetros de qualidade do açúcar, processo de fabricação de açúcar VHP, precursores do escurecimento do açúcar e compostos fenólicos.

2.1 CANA-DE-AÇÚCAR

Saccharum officinarum L., comumente conhecida como cana-de-açúcar, é planta cultivada globalmente há centenas de anos (ALI *et al.*, 2019). Um dos fatores importantes para o controle da produção de qualquer tipo de açúcar é a qualidade da matéria-prima. Cana-de-açúcar no estado de maturação completa e com eficiente controle de impurezas proporciona a unidade industrial grandes possibilidades de produção de açúcar no mais alto padrão de qualidade.

De acordo com Castro e Andrade (2007), a cana-de-açúcar é a principal matéria-prima para fabricação de açúcar, pertencente à família das Poaceae e ao gênero *Saccharum*, sendo cultivada desde a antiguidade. Embora as variedades pertençam à espécie *officinarum*, existem quatro espécies adicionais: *S. berberie*; *S. sinense*; *S. spontaneum* e *S. robustum*.

Segundo Payne (1989), o colmo da planta da cana-de-açúcar é constituído por um sistema de duas fases, são elas: sólida e líquida. A fase sólida é comumente chamada de fibra, a qual é composta basicamente de celulose, hemicelulose e lignina. Já a líquida, o caldo, é uma solução aquosa, contendo uma grande variedade de substâncias orgânicas, entre as quais, aproximadamente 90% são sacarose.

Santos *et al.* (2011) afirmam que a composição dos colmos de cana-de-açúcar varia de acordo com diversos fatores dentre os quais: idade cronológica e fisiológica, variedade, estágio de corte e florescimento, sanidade das plantas, condições climáticas, maturação, adubação e fertirrigação e tipo do solo. Para beneficiamento industrial, os colmos são constituídos de fibra (10 a 16%) e caldo (84 a 90%), variando de acordo com seus constituintes.

Basicamente existem dois tipos de colheita da cana-de-açúcar: manual e mecanizada. Leite *et al.* (2018) afirmam que a colheita manual é caracterizada pela necessidade de queima da cana antes da colheita e utilização de trabalho braçal. Já na colheita mecanizada a cana é colhida crua através de máquinas colhedoras, as quais cortam, picam, limpam parcialmente e

as carregam em unidades de transporte. Segundo Bastos *et al.* (2016), o corte mecanizado era realizado em cana queimada, prática realizada com intuito de eliminar palha e facilitar colheita. Contudo, a partir de pressões constantes de entidades ambientais, a forma de colheita da cana-de-açúcar vem sofrendo alterações, prevalecendo, atualmente, a colheita da cana crua, ou seja, sem o uso do fogo para eliminação da palha.

Com o aumento significativo da colheita mecanizada, ocorre conseqüentemente, o aumento de entrada de material vegetal nas fábricas de açúcar, as chamadas impurezas vegetais. Trombeta e Caixeta (2017) mostram que os indicadores agrônômicos para uma usina típica no Brasil apresentaram moagem média de 3 milhões de toneladas, 8,1% de impureza vegetal e 88% de colheita mecanizada. Ao mesmo tempo, novas variedades de cana tomam conta dos canaviais brasileiros, sendo de valiosa importância a análise desses fatores para o controle de qualidade da matéria-prima.

2.1.1 Variedades de cana-de-açúcar

Reis (2009) destaca que um dos componentes tecnológicos fundamentais à sustentação do setor sucroalcooleiro é a disponibilidade de variedades com boas características agrônômicas (resistência a pragas e doenças, alta produtividade, precoces, tolerância à seca alta produção de biomassa, entre outros) e industriais (riqueza em açúcar e boa qualidade de fibras). Essas características desejáveis apenas se manifestam se tais variedades mostrarem-se adaptadas às condições específicas de cultivo e manejo, nas diferentes unidades produtoras.

Os responsáveis pelo suprimento de variedades melhoradas são os programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar. No Brasil, as variedades cultivadas são provenientes basicamente de três programas: o do Instituto Agrônômico (IAC, em São Paulo), o do Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), antiga Copersúcar, e o da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA).

De acordo com Oliveira *et al.* (2021), as inovações tecnológicas desenvolvidas e transferidas pela RIDESA para o setor produtivo vem contribuindo significativamente para a elevação da produtividade e da qualidade agroindustrial das unidades produtoras de açúcar, etanol e bioeletricidade. Dentre as variedades de cana produzidas nos últimos anos, destacam-se as variedades RB92579, RB93509 e RB951541 pelas elevadas produtividades agroindustriais, alcançando mais de 35% da área canavieira do Nordeste nos últimos cinco anos, e expectativa de crescimento de cultivo na região centro-sul do Brasil. Ressalte-se que a

variedade RB92579 impactou a produtividade da cana-de-açúcar na região Nordeste, com rendimentos de até 60% acima das variedades cultivadas anteriormente.

Oliveira *et al.* (2021) complementam que a RIDESA já produziu 95 cultivares desde 1990, que somados com a cultivares liberadas pelo PLANALSUCAR (Programa Nacional de Melhoramento da Cana-de-açúcar, extinto em 1990) somam 114 variedades RB, produzidas em 50 anos de pesquisa em cana-de-açúcar. Atualmente a rede responde por 60% da área total de cultivo com essa planta no Brasil.

A Tabela 1 mostra as oito variedades de cana mais colhidas no estado de Alagoas na safra 2021/202. A variedade RB92579 se destaca como a mais colhida com 46% do total, representando mais de 90 mil hectares de área colhida.

Tabela 1 – Censo varietal de cana-de-açúcar no estado de Alagoas, safra 2021/2022.

	Variedade	Colheita	
		Área	%
1	RB92579	90704	46
2	SP79-1011	17746	9
3	VAT90-212	9859	5
4	RB867515	9800	5
4	RB0442	7888	4
5	RB951541	7677	4
6	RB93509	5900	3
7	RB943047	3900	2
8	RB011549	3800	2

Fonte: Adaptado de Braga Júnior *et al.* (2022).

2.2 TIPOS DE AÇÚCAR

Caldas (2012) afirma que no Brasil, industrialmente são produzidos cinco tipos de açúcar, sendo três escuros (demerara, VHP e VVHP) e dois brancos (cristal e refinado). Nas fábricas é utilizado um fluxograma básico que envolve diversas operações unitárias, acrescido como no caso do açúcar cristal da sulfitação ou de outro sistema de clarificação do caldo, para minimizar o desenvolvimento de cor e acúmulo de impurezas.

2.3 PARÂMETROS DE QUALIDADE DO AÇÚCAR VHP (VERY HIGH POLARIZATION)

Os parâmetros analisados para o açúcar VHP produzido no estado de Alagoas são: pol, umidade, cor, amido, cinzas e dextrana. Os três primeiros, os quais são descritos a seguir, são os principais índices de qualidade para este tipo de açúcar dentro de uma unidade industrial.

2.3.1 Pol

Conforme Oliveira *et al.* (2007), a polarização do açúcar oficialmente expressa em °Z (graus Zucker) define a porcentagem de sacarose no açúcar, cujo valor para açúcar de consumo direto é sempre superior a 99,7°Z.

EMPAT (2018) afirma que para o açúcar tipo exportação (VHP), a pol deve apresentar valores entre 99,10 e 99,40°Z.

2.3.2 Umidade

Icumsa (2005) define umidade como a quantidade de água existente no açúcar, tornando-se um item de grande importância para a qualidade do produto final. Segundo EMPAT (2018), o açúcar VHP é controlado abaixo de 0,15%.

2.3.3 Cor

Para Oliveira *et al.* (2007), a cor é o principal item de caracterização da qualidade do açúcar, mede a maior ou menor capacidade de passagem da luz através de uma solução de açúcar na concentração de 50%, em um comprimento de onda definido (420 nm). Este parâmetro é obtido de uma equação matemática estabelecida pela International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis – ICUMSA, dado em unidades ICUMSA (UI). De acordo com EMPAT (2018), o açúcar VHP deve apresentar cor inferior a 1000 UI.

2.4 PROCESSO DE FABRICAÇÃO DO AÇÚCAR VHP

O caldo extraído da cana-de-açúcar passa por várias etapas de clarificação antes da produção de açúcar ou etanol. Essas etapas envolvem adição de produtos químicos para purificação e clarificação do caldo, principalmente quando este é destinado à produção de açúcar (ESPERANÇA *et al.*, 2021).

O processo de fabricação de açúcar VHP difere basicamente do açúcar cristal em termos da não utilização de alguns processos de tratamento, como a sulfitação do caldo e a flotação do xarope. Tais procedimentos proporcionam ao açúcar cristal um teor de escurecimento menor, além de maior polarização.

Li *et al.* (2017) divide a produção de açúcar bruto de cana-de-açúcar em quatro etapas: (1) esmagamento da cana-de-açúcar para extração do caldo (2) clarificação do caldo com utilização de produtos químicos (por exemplo, cal, dióxido de enxofre, ácido fosfórico e floculante) (3) evaporação do caldo clarificado, formando o xarope (4) e cristalização da sacarose.

A Figura 1 mostra o fluxograma básico do processo de produção de açúcar VHP, o qual se inicia pela moagem da cana-de-açúcar, seguido das etapas de tratamento de caldo (peneiramento, caleação, aquecimento, flasheamento e decantação), evaporação, cozimento, resfriamento, centrifugação, secagem e armazenamento.

Lopes (2011) explica que a cana-de-açúcar, após ser previamente desfibrada através de picadores e desfibradores, é esmagada pelos conjuntos de moendas (também chamados de ternos de moendas), os quais são compostos de três rolos, conhecidos como: rolo superior, rolo de entrada e rolo de saída. Para melhor e maior extração da sacarose, é introduzido água no último terno de moenda, sendo este processo denominado de embebição. O caldo extraído no primeiro terno não recebe água e é chamado de primário, enquanto no segundo terno o caldo é chamado de secundário e assim por diante até o último terno. A mistura dos caldos primário e secundário é chamada de caldo misto.

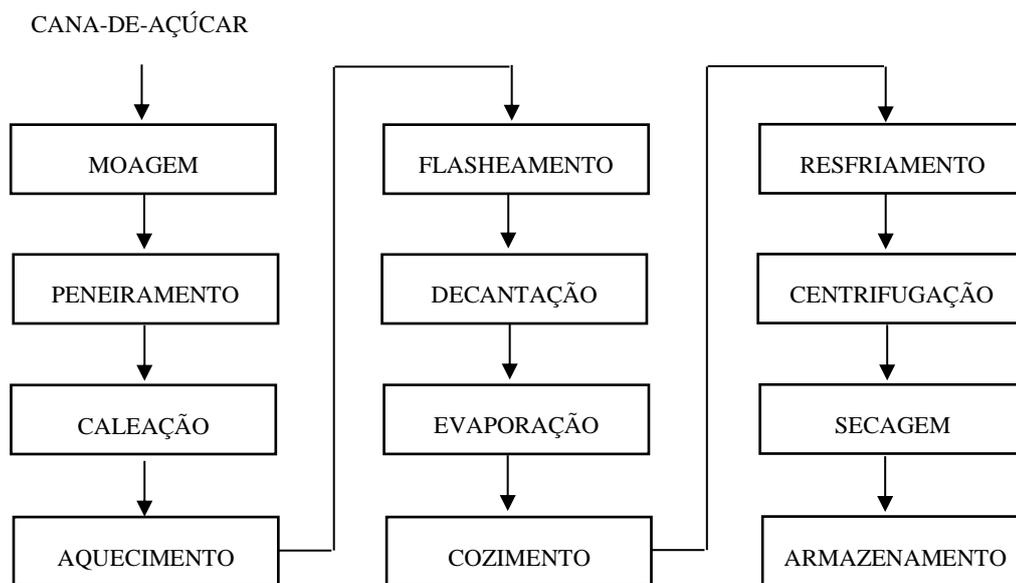
O processo de utilização de difusores consiste predominantemente numa lixiviação, ou seja, ocorre uma lavagem da sacarose contida nas células da cana devidamente abertas pelo desfibrador durante a etapa de preparo da cana. A temperatura nos difusores deve estar entre 70 e 80°C a fim de permeabilizar a parede celular da cana para sacarose (FEDOZZI *et al.*, 2018).

Após extração, o resíduo sólido conhecido como bagaço é direcionado para queima nas caldeiras geradoras de vapor. Na esteira transportadora ocorre o peneiramento do bagaço, no qual é obtido o bagacinho, material que é misturado ao lodo (resíduo do processo de decantação).

O caldo extraído passa por diversos processos que englobam a etapa de tratamento do caldo, tais como: peneiramento, aquecimento, caleação, flasheamento e decantação. Segundo

Albuquerque (2010), o tratamento do caldo tem a finalidade de eliminar as impurezas proporcionando um caldo purificado e límpido, isento de matéria em suspensão, com reação aproximadamente neutra e com cor adequada ao açúcar que irá produzir. O peneiramento é realizado logo após o caldo ser extraído da cana-de-açúcar, proporcionando remoção de material grosseiro em suspensão (bagacilho).

Figura 1 – Fluxograma do processo de fabricação de açúcar VHP.



Fonte: O Autor (2023).

Araújo (2017) define caleação como a operação que consiste em adicionar ao caldo o CaO (óxido de cal), sob a forma de leite de cal, Ca(OH)_2 (hidróxido de cálcio) com função neutralizante, coagulante e precipitante. Sendo esta última a mais importante, pois o cálcio reage com fosfatos (contidos no caldo) produzindo sais insolúveis, os quais vão ser eliminados na etapa de decantação. A dosagem de cal proporciona elevação de pH do caldo de 5,0 - 5,5 para 7,0 - 7,5 em média, promovendo assim, inibição da reação de inversão da sacarose. Entretanto, não se pode exagerar na dosagem, pois com elevados valores de pH poderá ocorrer degradação dos açúcares redutores (frutose e glicose), provocando escurecimento do caldo.

De acordo com Payne (1989), a etapa de aquecimento consiste em elevar a temperatura do caldo para faixa entre 103 e 105°C, com a finalidade de: acelerar as reações químicas, facilitar a decantação por diminuição da densidade e viscosidade do caldo, acelerar a decantação pela formação de partículas de maior tamanho e densidade, facilitar a floculação

das impurezas insolúveis e promover a coagulação de proteínas. São utilizados trocadores de calor tipo casco-tubo, onde o caldo circula internamente nos tubos, enquanto o fluido aquecedor (vapor) circula na parte externa, ou seja, o caldo não entra em contato com o vapor. O conjunto de tubos, chamado feixe tubular, forma a calandra do trocador de calor. A temperatura do caldo não deve ultrapassar 105°C para evitar a fusão das ceras, pois ocorrerá elevação da cor. Por outro lado, a temperatura do caldo não deve ser inferior a 103°C, para garantir que as reações químicas se completem e que ocorra um bom “flasheamento”.

Segundo Albuquerque (2010), o flasheamento tem por princípio a evaporação espontânea por conta da queda brusca de pressão do caldo, através do balão flash, promovendo a eliminação produtos gasosos incondensáveis, principalmente o ar. Neste processo ocorre a eliminação das bolhas de ar contidas no caldo, liberando as partículas em suspensão, as quais estavam agregadas. Araújo (2017) salienta que se o flasheamento for deficiente, por consequência, a decantação será imperfeita.

A última etapa do processo de clarificação do caldo é a decantação. Esta é fundamentada nas diferenças existentes entre as densidades dos componentes da mistura, ou seja, do caldo clarificado e do lodo (também chamado de cachaça). O primeiro é enviado para o processo de evaporação, enquanto o segundo, que consiste no material compactado na parte inferior do decantador, é destinado à etapa de filtração, na qual ocorre a recuperação de parte da sacarose contida neste resíduo.

O caldo clarificado deve apresentar teores mínimos de compostos orgânicos e inorgânicos sem que ocorram remoção, precipitação ou destruição de açúcares. Quando presentes em quantidades elevadas esses compostos podem ficar retidos na superfície dos cristais de açúcar (COSTA *et al.*, 2015).

Lopes (2011) cita que os principais objetivos da decantação são: proporcionar coagulação e precipitação completa do material coloidal; produzir quantidade mínima de lodo e obter o caldo clarificado com baixo teor de turbidez. O caldo de cana contém partículas instáveis que prontamente sofrem aglomeração e sedimentação (TARAFDAR E KAUR, 2021). Santos *et al.* (2011) explica que quando a clarificação é ineficiente, o caldo retém impurezas que vão se acumulando à medida que o caldo é concentrado, incorporando-se ao açúcar, prejudicando a qualidade.

A produção do açúcar propriamente dita se inicia com a evaporação do caldo clarificado, a qual, de acordo com Crivellaro (2016), tem a finalidade de concentrar uma

solução mediante a eliminação do solvente em forma de vapor. No caso da produção de açúcar, acontece o aumento da concentração do caldo de aproximadamente 15 para 60 °Brix, removendo cerca de 75% da água contida no caldo. O produto da evaporação, o caldo concentrado, denominado de xarope, é obtido através de um conjunto de evaporadores do tipo múltiplo efeito. Segundo Payne (1989), múltiplo efeito é definido como sistema em que utiliza vários evaporadores acoplados entre si, de forma que o vapor da ebulição do caldo de um corpo é usado como fonte de calor para o corpo seguinte. À medida que o caldo passa de um efeito para outro, sua concentração vai aumentando, até o último efeito, no qual obtém-se o xarope. A elevada concentração do xarope acontece por conta da redução do ponto de ebulição do caldo, devido ao decaimento de pressão a cada efeito seguinte.

De acordo com Albuquerque (2010), o processo de cozimento tem por objetivo a formação de cristais de açúcar (cristalização) através da concentração do xarope proveniente da evaporação. Para que haja formação e crescimento dos cristais de açúcar, é condição essencial a supersaturação. Esta, acontece quando uma solução contém quantidade de açúcar dissolvido maior do que sua solubilidade e é dividida em três zonas:

- Zona Metaestável: ocorre o crescimento dos cristais existentes, mas não se formam novos cristais.
- Zona Intermediária: ocorre a formação de novos cristais na presença de cristais existentes.
- Zona Lábil: ocorre formação e crescimento de cristais de forma espontânea, sem controle.

De acordo com Lopes (2011), o número de cristalizações sucessivas realizadas varia em função do sistema adotado pela usina. Caso se trabalhe com duas cristalizações, o sistema é denominado duas massas, que é o processo mais adotado no Brasil. Quando se deseja aumentar a recuperação da sacarose existente no mel, adota-se o sistema de três massas, o qual é constituído por três cristalizações.

Castro e Andrade (2007) relatam que ao final do cozimento as massas produzidas estão em uma temperatura média de 60°C, devendo ser resfriadas a fim de se completar o crescimento dos cristais e promover o esgotamento máximo do licor-mãe (mel). Este processo é realizado em tanques com seção reta em “U”, providos de agitação, comumente chamados de cristalizadores abertos. Após resfriado, a massa cozida é processada na etapa de

centrifugação, a qual tem por objetivo separar os cristais de sacarose do mel pela da força centrífuga e por fim, ocorre a secagem para redução de umidade do açúcar produzido. O secador é constituído de um tambor rotativo, no qual sua parte interna deve ser bem projetada para evitar a quebra dos cristais de açúcar. Durante a operação de secagem ocorre a injeção de ar quente e ar frio, na qual o primeiro tem a finalidade de reduzir a umidade do açúcar, enquanto o segundo promove o controle de temperatura na saída do equipamento.

2.5 PRECURSORES DO ESCURECIMENTO DO AÇÚCAR

De acordo com Mersad *et al.* (2003), os corantes (precursores de cor) da indústria açucareira se apresentam de duas formas: os que estão contidos na própria matéria-prima e aqueles que se formam durante o processamento do açúcar. Estes autores distinguem os corantes formados durante o beneficiamento da cana-de-açúcar em função do mecanismo ao qual eles são formados, são eles: melaninas, melanoidinas, caramelos e produtos de degradação alcalina de hexoses (HADP). Já Larrahondo e Ordoñez (2014) afirmam que os principais corantes naturais encontrados na cana-de-açúcar são: clorofila, carotenos, xantofilas e flavonoides

Segundo Wang *et al.* (2011), as melanoidinas são compostos gerados nos estágios finais da reação de Maillard a partir da redução de açúcares e proteínas ou aminoácidos durante o processamento e preservação de alimentos. Os mesmos autores revelam que a reação de Maillard é uma reação de escurecimento não enzimática envolvendo açúcares redutores e os grupos amino de aminoácidos, peptídeos ou proteínas. As melanoidinas são uma mistura de polímeros heterogêneos macromoleculares (SHAHEEN *et al.*, 2021).

Bento (2008) afirma que a formação de melanoidinas é influenciada pela concentração de açúcares, compostos amino, temperatura, pH e tempo de reação. Paton e Cowage (1987) ressaltam que no final do processamento do açúcar (xarope e massa cozida) há um aumento de °Brix, o que vem a concentrar os produtos que se formam pela reação de Maillard, elevando assim a cor do caldo. Herrera *et al.* (2015) afirma que a reação de Maillard é o principal mecanismo de geração de cor no estágio de cristalização.

Pacheco *et al.* (2012) avaliaram o comportamento de inibidores da reação de Maillard para o processamento da cana-de-açúcar em soluções contendo diferentes concentrações de aminoácidos e glicose. As taxas de reação de Maillard foram representadas pela formação de cor e expressas diretamente pela densidade óptica, onde foi comprovado que o ácido

ascórbico (0,05%), a cisteína (0,1%) e o ácido nicotínico (0,05%) possuem efeitos inibitórios na reação de Maillard, reduzindo significativamente o efeito de escurecimento em até 50%, comparado com amostras não tratadas.

Kroh (1994) define caramelização como o processo de degradação térmica da sacarose em elevadas temperaturas (acima de 180°C) sem qualquer catálise (ausência de proteínas e aminoácidos). O mesmo autor relata que os produtos obtidos desta desidratação, chamados de caramelos, são formados basicamente de HMF (hidroximetilfurfural), o qual não apresenta cor visível, mas quando polimerizado, forma compostos de cor de elevada intensidade. Mersad *et al.* (2003) salientam que a única etapa do processamento do açúcar com temperatura elevada para formar caramelos é a evaporação, muito embora o caldo nesta etapa esteja com o pH próximo da neutralidade.

MARASINGHEGE *et al.* (2022) constataram que temperaturas acima de 148°C no primeiro efeito de evaporação provoca perda significativa de sacarose, degradação de aminoácidos, lignina (associada a fibra do caldo) e despolimerização a ácidos hidroxicinâmicos. Este estudo também revelou que elevadas temperaturas promovem aumento de cor, queda de pH e diminuição do coeficiente de transferência de calor.

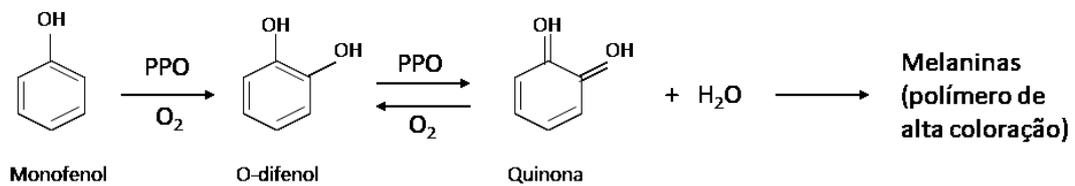
De acordo com De Bruijn *et al.* (1986), produtos da degradação alcalina de hexoses (HADP) são polímeros de ácidos carboxílicos, de cor amarelo acastanhado, resultantes de degradação de monossacarídeos em condições alcalinas através de uma série reações de ionização, reações de enolização e isomerização levando à formação do ânion enediol intermediário.

Coca *et al.* (2004) divide os HADP em dois grupos, de acordo com o número de átomos de carbono: ácidos carboxílicos com seis ou menor número de carbonos e os que possuem mais de seis átomos de carbono. A maior parte dos monossacarídeos é convertida em ácidos carboxílicos com seis ou menor número de carbonos, e são compostos incolores, principalmente ácido láctico, ácido sacarínico, ácido fórmico, ácido acético e ácido oxálico. Mersad *et al.* (2003) citam que os HADP produzidos na etapa de clarificação do processo de produção de açúcar a partir da beterraba são superiores em relação a cana-de-açúcar, enquanto no refino do açúcar a situação é inversa.

Toledo *et al.* (2017) definem melaninas como metabólitos secundários constituídos por polímeros heterogêneos complexos de monômeros fenólicos. Possuem cor intensa e são sintetizados a partir da oxidação enzimática de compostos fenólicos. Paton (1992) explica que

quando a cana-de-açúcar é cortada e exposta ao ar, os fenóis podem sofrer oxidação enzimática pela ação da enzima polifenol oxidase (PPO) resultando na formação de quinona e, em seguida, após condensação, polímeros de elevada coloração (Figura 2). Como essas substâncias se formam a temperaturas entre -18 e 55°C e em valores de pH entre 4,5 e 8,0, as reações de escurecimento enzimático são muito ativas durante o corte da cana e extração do caldo.

Figura 2 – Reação de oxidação de fenóis.



Fonte: Adaptado de Paton (1992).

Caldas (2012) cita que os compostos fenólicos podem sofrer oxidação com ausência de enzimas, como o ácido clorogênico por exemplo. De acordo com Bento (2008), ácidos fenólicos e outros compostos fenólicos também estão presentes na cana-de-açúcar e desempenham um papel importante na formação da cor do açúcar. Os compostos fenólicos apresentam VI (Valor Indicador – variação de cor e pH) elevado e estão envolvidos em reações não enzimáticas e reações com o ferro, formando compostos muito escuros.

2.6 COMPOSTOS FENÓLICOS

Segundo Li *et al.* (2023) os compostos fenólicos, também chamado de polifenóis, são um grande grupo de compostos que consistem em pelo menos um anel aromático com um grupo hidroxila e vários substituintes. Nos vegetais, esses compostos, podem estar em formas livres ou complexadas à açúcares e proteínas. Exemplos: flavonoides, ácidos fenólicos, taninos e tocoferóis (SHAHIDI e NACZK, 2006).

De acordo com Czajkowska–González *et al.* (2021), os compostos fenólicos formam uma variedade de ligações químicas com os componentes da matriz alimentar, incluindo ligações de hidrogênio, ligações iônicas e interações hidrofóbicas.

Soares (2002) classificou os compostos fenólicos da seguinte forma: pouco distribuídos na natureza, polímeros e largamente distribuídos na natureza. Na família dos

poucos distribuídos na natureza estão os fenóis simples, pirocatecol, hidroquinona e o resorcinol. Os polímeros, que não se apresentam em forma livre nos tecidos vegetais, são os taninos e as ligninas. Na família dos compostos largamente distribuídos na natureza estão os fenólicos encontrados geralmente em todo o reino vegetal, mas às vezes podem estar localizados em uma só planta. Estes fenólicos estão divididos ainda em dois grandes grupos: os flavonoides e derivados; e os ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas.

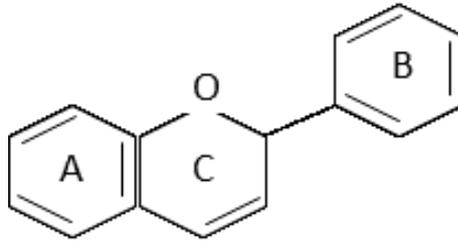
Angelo e Jorge (2007) fizeram uma revisão no que diz respeito aos métodos utilizados para análise e quantificação de materiais fenólicos. Eles destacaram que os principais estudos utilizam ensaios baseados em métodos: espectrofotométricos, eletroquímicos e cromatográficos. Entretanto, não há um método satisfatório para extração de todos ou uma classe específica de fenólicos presentes nos alimentos, muito por conta de alguns fatores, entre eles: solubilidade dos fenólicos, que varia de acordo com a polaridade do solvente utilizado; grau de polimerização dos fenólicos e suas interações com outros constituintes dos alimentos. Outro aspecto importante abordado por esses autores sobre o desenvolvimento de métodos de quantificação de compostos fenólicos é a dificuldade de se encontrar um padrão específico e conveniente, devido à complexidade das substâncias fenólicas presentes nos alimentos e as diferenças de reatividade entre estas substâncias e os reagentes.

2.6.1 Flavonoides

Segundo Lobo *et al.* (2022), os flavonoides são considerados metabólitos secundários sintetizados pelas plantas, pertencentes ao grupo dos compostos fenólicos. Dornas *et al.* (2007) afirmam que esses compostos fenólicos são precursores de vários grupos de substâncias como aminoácidos alifáticos, terpenoides, ácidos graxos dentre outros. Os flavonoides são uma família bem conhecida de polifenóis naturais devido às suas propriedades predominantes no campo fisiológico e medicinal (LIU, 2022).

De acordo com Tohge *et al.* (2013) a estrutura química dos flavonoides consiste em dois anéis aromáticos, denominados A e B, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico (C6 – C3 – C6), denominado de anel C (Figura 3).

Figura 3 – Estrutura química dos flavonoides.



Fonte: Ângelo e Jorge (2007)

Segundo Machado *et al.* (2008), ocorrem algumas modificações na estrutura química dos flavonoides (substituições dos anéis A e B) que dão origem a diversos compostos dentro de cada classe destes polifenóis. Essas alterações podem ser por meio de hidrogenação, hidroxilações, metilações, malonilações, sulfatações e glicosilações.

Lopes *et al.* (2000) descreve as principais classes dos flavonoides, onde os grupos flavonóis e flavonas são incolores e que a classe das antocianinas possui substâncias que variam no seu espectro de coloração do verde ao azul. O Quadro 1 apresenta algumas das principais classes de flavonoides, assim como alguns dos seus principais representantes e características.

Quadro 1 – Principais classes de flavonoides e descrição de suas características básicas.

Classes	Coloração	Exemplos	Comentários
Antocianinas	Azul, vermelha e violeta	Cianidina; Delfinidina; Peonidina	Antocianinas estão predominantemente em frutas e flores e provavelmente foram os primeiros flavonoides a serem isolados – provenientes de pigmentos florais, conforme indicam seus próprios nomes. São usadas como corantes.
Flavanas (mono, bi e triflavans)	Incolor	Catequina; Epicatequina Luteoforol; Procianidina. Theaflavina	Flavanas são encontradas em frutas e chás (verdes ou pretos). Biflavanas são encontradas em frutas, lúpulo, nozes e bebidas como chás e água de coco. O sabor peculiar de algumas bebidas, frutas, chás e vinhos é devido, principalmente, à presença das biflavanas.
Flavanonas	Incolor para um amarelo pálido	Hesperidina; Naringenina.	Flavanonas são encontradas quase que exclusivamente em frutas cítricas.
Flavonas	Amarelo pálido	Apigenina; Luteolina; Diosmetina; Tangeretina; Nobiletina	Flavonas são encontradas quase que exclusivamente em frutas cítricas, mas também em cereais, frutas, ervas e vegetais. Conferem o pigmento amarelo em flores. Os compostos mais comuns são a apigenina e a luteolina.
Flavonóis	Amarelo pálido	Quercetina; Rutina; Miricetina; Kaempferol	Os flavonóis estão presentes em diversas fontes, sendo predominantes em vegetais e frutas. A quercetina é o principal representante da classe.
Isoflavonoides	Incolor	Daidzeína; Genisteína.	Isoflavonóides são encontrados quase que exclusivamente em legumes, particularmente na soja.

Fonte: Adaptado de Peterson & Dwyer (1998).

2.6.1.1 Antocianinas

As antocianinas são compostos polifenólicos que produzem vários tons de rosa, vermelho, roxo e azul em flores, vegetais e frutas. As cores de antocianina são suscetíveis ao pH, luz, temperaturas e íons metálicos. Métodos cromatográficos e espectrométricos têm sido extensivamente usados para extração, isolamento e identificação de antocianinas (ALAPPAT e ALAPPAT, 2020).

Devido às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, as antocianinas são polifenóis largamente estudados em diversos alimentos como frutas, legumes e grãos. Wang

et al. (2020) identificaram doze antocianinas no tomate fresco, já *Strauch et al.* (2019) analisaram a variação dos perfis de antocianina de 27 genótipos de repolho roxo e *Abdel-Aal et al.* (2018) avaliaram as propriedades composicionais e antioxidantes de produtos ricos em antocianinas preparados a partir de trigo roxo.

Thamaphat et al. (2015) afirmam que as cores vermelha, violeta e azul de muitas plantas são derivadas da presença de antocianinas. De acordo com *Abid et al.* (2018), um dos critérios básicos de qualidade para geleia de frutas é a cor, a qual depende principalmente do teor de antocianinas.

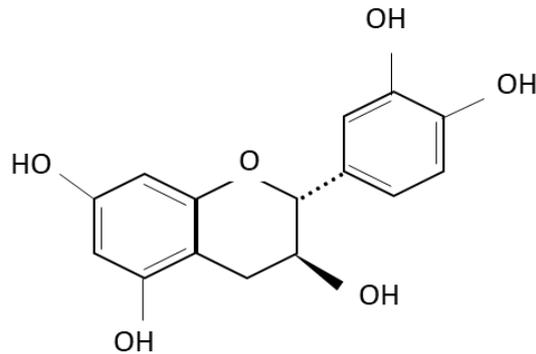
Segundo *Paton* (1992), as antocianinas são o tipo de flavonoide responsável pelo colorido da casca de algumas variedades de cana-de-açúcar, sendo instáveis em soluções neutras ou alcalinas e facilmente decompostas na presença de calor. *Ordoñez* (2009) identificou a presença de antocianinas em oito variedades de cana-de-açúcar cultivadas na Colômbia, em concentrações entre 0,13 e 6,05 mg/100g nas plantas analisadas.

2.6.1.2 Flavanos

De acordo com *Mena et al.* (2014), as flavanas (ou flavanois) constituem uma classe de flavonoides que são derivados de benzopiranos com uma estrutura 2-fenil-3,4-di-hidro-2H-cromen-3-ol. Esses compostos são classificados da seguinte forma: flavan-3-óis, flavan-4-óis e flavan-3,4- dióis.

Neiva et al. (2003) afirmam que o representante mais importante do grupo dos flavan-3-óis é a catequina, a qual exibe inúmeros efeitos biológicos incluindo ação antiviral, antioxidante e antitrombótica. Segundo *Nakano et al.* (2019), as catequinas são abundantes no chá verde e tem atraído atenção por conta de suas propriedades benéficas a saúde humana. As principais catequinas incluem (+)-catequina (Figura 4), (+)-galocatequina (GC), (-)-epicatequina (EC), (-)-epigalocatequina (EGC), (-)-galato de epicatequina (ECg) e (-)-galato de epigalocatequina (EGCg).

Figura 4 – Estrutura química da catequina.



Fonte: Nakano *et al.* (2019)

2.6.1.3 Flavonas

Segundo Wang *et al.* (2019), as flavonas são uma classe de flavonoides muito encontradas em vegetais, plantas e flores. Elas atuam como protetores químicos naturais, as quais absorvem luz em comprimentos de onda mais curtos do que aqueles visíveis ao olho humano, protegendo as células vegetais dos danos causados pela fotoxidação. Para Paton (1992), as principais flavonas encontradas na cana-de-açúcar são as derivadas de: apigenina, luteolina e tricina. Esses flavonoides estão presentes na cana-de-açúcar como glicosídeos, ou seja, eles possuem unidades de açúcar ligadas à sua estrutura, proporcionando estabilidade no processo de clarificação do caldo e etapas posteriores. Além disso, possuem grande variação de cor entre pH 4,0 e 9,0, sendo incolores em meio ácido e amarelos ou verdes em solução alcalina.

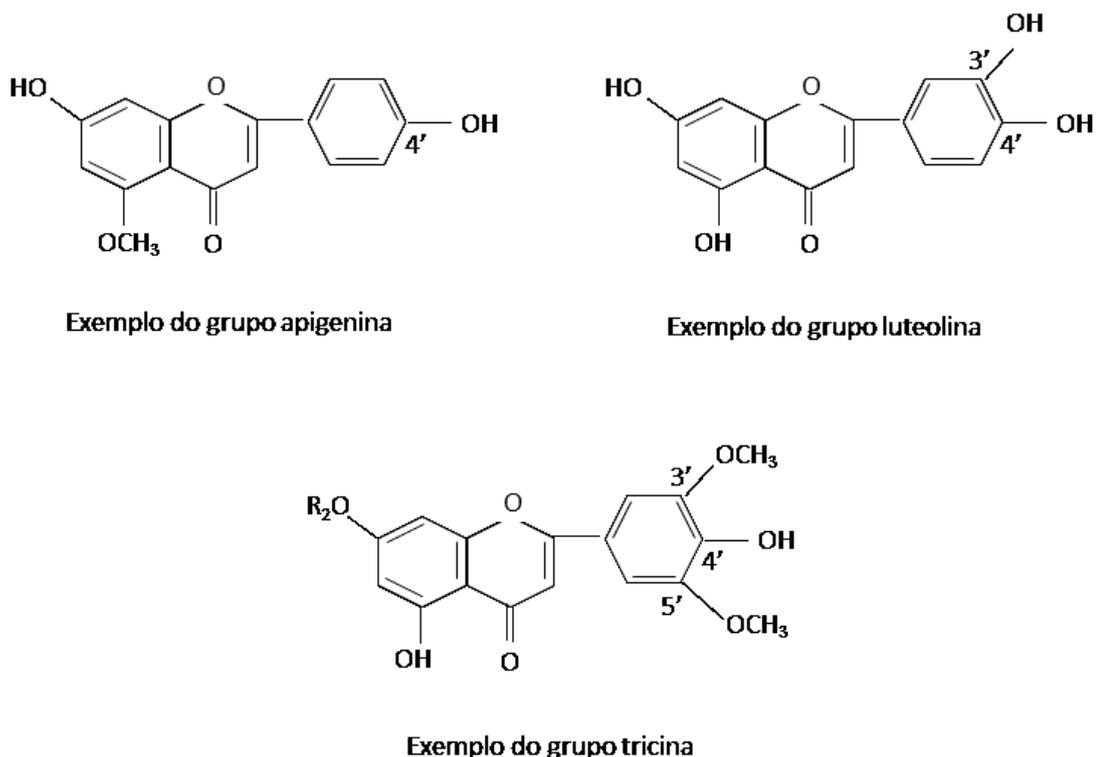
De acordo com Damodaran *et al.* (2010), apigenina e luteolina, livres (agliconas) ou conjugadas (heterosídeos) são as flavonas mais abundantes encontradas nas plantas. Valdameri (2008) afirma que a Apigenina (5,7,4'-triidroflavona) e seus glicosídeos são encontrados frequentemente em grãos de cereais, ervas e vegetais, enquanto que a Luteolina (5,7,3',4'-tetraidroxoflavonona) está presente em cereais e ervas e a luteolina glicolisada é encontrada em folhas de vegetais.

Smith e Paton (1985) coloca o grupo de derivados de tricina como um dos mais importantes pigmentos vegetais encontrados na cana-de-açúcar, onde a aglicona de tricina tem sido detectada em pelo menos 16 dos 20 gêneros da família *Gramineae*. O gênero *Saccharum* (grupo botânico que inclui a cana-de-açúcar) teve vários derivados de tricina (por exemplo: tricín 5 - glucósico) identificados em folhas e material colorido oriundo dessas plantas.

Segundo Larrahondo e Ordoñez (2014), os grupos de apigenina e luteolina são mais suscetíveis à oxidação enzimática em relação aos de tricina. Isto ocorre porque nos derivados de apigenina e luteolina as hidroxilas estão posição 4' ou 3', 4' do anel B, enquanto no grupo da tricina, os metilados se encontram nas posições 3' e 5', como mostra a Figura 5, consequentemente, são mais resistentes à oxidação.

Larrahondo e Ordoñez (2014) também destacam que flavonas resistem a etapa de clarificação do processo fabril açucareiro devido a sua existência em formas aniônicas em elevados valores de pH do caldo, enquanto as antocianinas, sob as mesmas condições se degradam e por consequência, não apresentam influência na formação de cor dos produtos finais.

Figura 5 – Exemplos de estruturas químicas dos derivados de apigenina, luteolina e tricina.



Fonte: Adaptado de Larrahondo e Ordoñez (2014).

2.6.1.4 Flavonóis

De acordo com Barreca *et al.* (2021), flavonóis são os flavonoides mais difundidos no reino vegetal, caracterizados pelo grupo hidroxila na posição 3 do anel C. Esses autores afirmam que os flavonóis possuem uma ampla gama de atividades biológicas e importantes

aplicações terapêuticas devido às suas várias propriedades biológicas, como atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antivirais, hipolipemiantes e anticancerígenas. Os principais representantes desta família são: quercetina, miricetina, rutina e kaempferol (Quadro 1).

A quercetina (3,5,7,3',4'-pentahidroxi-flavona) é considerada por Souza e Giovani (2004) um forte antioxidante devido à sua capacidade de eliminar os radicais livres e ligar íons de metais de transição. De acordo com Doersch e Newell-Rogers (2017), a quercetina é uma das formas mais abundantes de flavonoides, apresentando elevado potencial antioxidante, antialérgico, antiinflamatório, anticâncer, antipropriedades diabéticas, antimicrobianas e cardioprotetoras. Wianowska (2015) afirma que a quercetina é um flavonoide amplamente presente em vegetais, frutas, folhas e grãos.

Kaempferol é um tipo de flavonóide natural encontrado em brócolis, repolho, feijão, tomate, morango e maçã. Chen e Chen (2013) afirmam que o kaempferol exerce extensas atividades biológicas, incluindo atividades anti-oxidação, antiinflamatória, antibacteriana e antitumoral.

Segundo Gupta *et al.* (2020), a miricetina (3,5,7,3',4',5'-hexahidroxi-flavona) é um flavonol natural que pode ser encontrado em diversas variedades de plantas, incluindo nozes, frutas e vegetais. Kim *et al.* (2015) constataram que extratos naturais com alto teor de miricetina podem ser desenvolvidos como fitoquímicos para produtos alimentares funcionais para prevenir a retinopatia diabética. Gu *et al.* (2023) demonstraram que a miricetina possui efeitos farmacológicos significativos no tratamento de câncer de pulmão.

A rutina é um flavonóide encontrado principalmente em plantas, sendo utilizada, segundo Silva *et al.* (2016), na proteção de plantas contra insetos, principalmente lepidópteros, devido aos seus efeitos antinutricionais.

2.6.2 Ácidos fenólicos

Lorigooini *et al.* (2020) relatam que os ácidos fenólicos são o tipo mais comum de compostos fenólicos vegetais e se caracterizam por possuir um grupo funcional de ácido carboxílico.

D'Archivio *et al.* (2007) divide os ácidos fenólicos em duas classes: os derivados de ácido benzoico (ácidos hidroxibenzoicos) e derivados de ácido cinâmico (ácidos hidroxicinâmicos). Os ácidos hidroxibenzoicos, como o ácido gálico e ácido protocatecuico, são encontrados em poucos vegetais consumidos por humanos. Já os ácidos hidroxicinâmicos,

como os ácidos cafeico, cumárico e ferúlico, estão presentes em vários alimentos e bebidas de origem vegetal, como o café, erva mate, frutas, crucíferas e cereais.

Mattila *et al.* (2006) identificaram e quantificaram 10 ácidos fenólicos (cafeico, ferúlico, sinápico, protocatecuico, vanílico, *p*-cumárico, *p*-hidroxibenzóico, siríngico, cinâmico e gálico) em 24 tipos de frutas e 12 bebidas. Entre os frutos, os maiores teores (28 mg / 100 g) foram determinados em ameixa preta, cereja e uma variedade de maçã (Valkea Kuulas). Café (97 mg / 100 g), bem como chás verdes e pretos (30-36 mg / 100 g) foram as melhores fontes entre as bebidas. O ácido cafeico foi predominante nas amostras estudadas, exceto em preparações de chá.

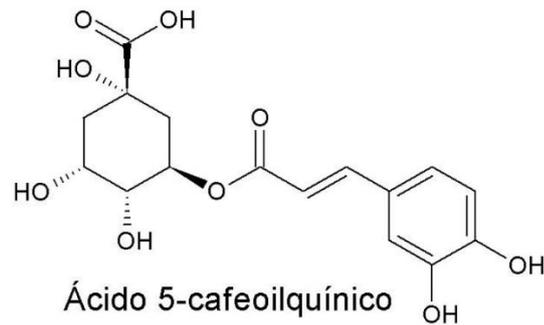
Szwajgier *et al.* (2017) afirmam que devido a uma ampla distribuição em fontes naturais, estabilidade relativamente alta nos alimentos, ótima absorção intestinal e cerebral, os ácidos fenólicos podem ser considerados como compostos promissores para tratamentos de distúrbios neurológicos.

Segundo Soares (2002), os ácidos fenólicos além de se apresentarem sob sua forma natural, podem também se ligar entre si ou com outros compostos. Destas combinações, a mais importante ocorre com o ácido cafeico, o qual, associado a um álcool-ácido cíclico, denominado ácido quínico, origina o ácido clorogênico.

Zheng *et al.* (2023) afirmam que os ácidos fenólicos são excelentes antioxidantes naturais porque os grupos hidroxila fenólicos em suas estruturas podem eliminar os radicais livres de forma eficaz.

De acordo com Bastos *et al.* (2007), os ácidos clorogênicos são ésteres que pertencem à família dos ácidos cinâmicos, que compreendem uma série de ácidos trans-fenil-3-propenóicos que diferem na sua substituição do anel aromático, sendo o ácido 5-cafeolquínico (Figura 6) o mais comum dos ácidos clorogênicos. Hou *et al.* (2017) afirmam que o ácido clorogênico é um éster do ácido cafeico e do ácido quínico, sendo um composto fenólico amplamente encontrado em plantas superiores, como frutas, vegetais e chás pretos.

Figura 6 – Estrutura química do ácido 5-cafeoilquínico.



Fonte: Oliveira e Bastos (2011).

Mohtar et al. (2014) afirmam que o ácido cafeico (ácido 3,4-diidroxicinâmico) é um derivado fenólico isolado de alguns tecidos vegetais, como grãos de café, folhas de chá, membrana celular de frutas e palha de grãos de cereais. Erge e Eren (2021) demonstraram que o ácido cafeico tem potencial para ser um fator de reticulação natural de proteínas, em teste realizados com carne de frango. O ácido cafeico e o ácido clorogênico são os principais ácidos fenólicos no cacau e nos grãos de café (CERRI *et al.*, 2019; KRÓL *et al.*, 2020)

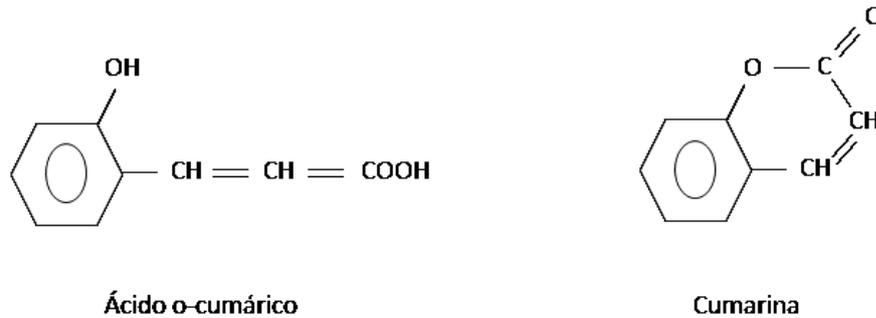
O ácido ferúlico (4-hidroxi-3-metoxicinâmico), segundo Mancuso e Santangelo (2014), é um polifenol natural encontrado ricamente em farelos de cereais, vegetais e ervas medicinais. O ácido ferúlico é um fitoconstituente polifenólico sintetizado a partir do metabolismo dos aminoácidos fenilalanina e tirosina encontrados em frutas e vegetais (SINGH *et al.*, 2022). O teor de ácido ferúlico do grão de trigo é de 0,8 a 2 g/kg seco, o que pode representar até 90% do total de polifenóis. Colonnello *et al.* (2018) afirma que o ácido ferúlico é encontrado em vários vegetais, incluindo a cana-de-açúcar, possuindo propriedades antioxidantes e citoprotetoras.

Segundo Clifford (2000), o ácido cumárico é um ácido hidroxicinâmico e um micronutriente alimentar abundante presente em uma ampla variedade de plantas comestíveis, incluindo cereais, frutas e vegetais. O ácido cumárico se apresenta nas formas (isômeros) *o*-cumárico, *m*-cumárico e *p*-cumárico, os quais se diferem pela posição do grupo hidroxila no anel aromático.

Soares (2002) define as cumarinas como uma classe de metabólitos secundários derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido *o*-cumárico, como mostrado na Figura 7. Kuster e Rocha (2010) explicam que as cumarinas além de serem amplamente distribuídas nos vegetais, onde cerca de 1300 variedades já foram isoladas de

fontes naturais, elas também podem ser encontradas em fungos e bactérias. Além disso, essa família dos fenóis possui propriedades farmacológicas, bioquímicas e aplicações terapêuticas.

Figura 7 – Estruturas químicas do ácido *o*-cumárico e cumarina.



Fonte: Adaptado de Soares (2002).

2.6.3 Taninos

Segundo Ferrero-del-Teso *et al.*, (2022), os taninos são compostos polifenólicos de alto peso molecular presentes em madeira, bebidas e frutas e se dividem em duas grandes famílias: taninos condensados e taninos hidrolisáveis.

De acordo com Radebe *et al.* (2012), os taninos condensados (também conhecidos como poliflavonoides ou proantocianidinas) são baseados em unidades de flavonoides, que sofrem reações de condensação e polimerização para formar oligômeros com vários graus de polimerização. Já os taninos hidrolisáveis diferem dos taninos condensados, pois são derivados do ácido gálico e geralmente são esterificados em um núcleo de carboidrato, principalmente glicose.

Madritch e Lindroth (2015) asseguram que os taninos podem fornecer benefícios às plantas por meio de vias independentes e interativas de defesa de herbívoros e ciclagem de Nitrogênio.

Qudsieh *et al.* (2002) avaliaram a variação do teor de tanino na cana-de-açúcar colhida em diferentes estágios de maturação. Os resultados demonstraram que ocorreu uma significativa redução ($p < 0,01$) do teor de tanino do 3º (0,24 %) até o 10º mês (0,025 %) de maturação. Isso demonstra que quanto mais precoce for a colheita da cana-de-açúcar (o que não é recomendado), maior será o conteúdo de tanino contido no caldo.

2.6.4 Ligninas

De acordo com Feldman (2016), a lignina é um biopolímero de grande rigidez e um dos principais constituintes das plantas lenhosas, onde desempenha o papel de agente de revestimento e é comparável neste aspecto ao cimento em concreto armado de aço. A estrutura química de diferentes ligninas naturais varia dependendo de sua fonte. Este autor classifica a lignina em três grupos principais: lignina de madeira macia, lignina de madeira dura e lignina de grama com base na estrutura química de unidades monoméricas.

Segundo Miranda *et al.* (2006), a lignina é constituída por um sistema aromático composto de unidades de fenilpropano que irão dar origem aos fenóis, ácidos e aldeídos aromáticos. A lignina é um composto fenólico que não se apresenta na forma livre nos vegetais, ela é encontrada na forma de polímero, sendo que sua hidrólise alcalina libera uma grande variedade de derivados do ácido benzóico e do ácido cinâmico.

A lignina apresenta características estruturais distintas, dependendo do tipo de plantas, tecidos, tipo de célula, estágios de crescimento e condições ambientais. Atributos esses que a diferem dos outros componentes da parede celular vegetal, como celulose e hemiceluloses, que possuem estruturas bem definidas (RENCORET *et al.*, 2018; RENCORET *et al.*, 2023).

Para Mota *et al.* (2016) a lignina é uma fonte secundária subexplorada da indústria de celulose e papel e biorrefinarias, sendo usado para produção de energia na fábrica ou como material de baixo valor para dispersantes ou ligantes formulários. No entanto, algumas alternativas vêm sendo estudadas para melhor aproveitamento deste material, como por exemplo, o processo integrado de reação e separação para a produção de compostos fenólicos monoméricos de alto valor agregado (vanilina e seringaldeído). A lignina é uma importante fonte de compostos fenólicos e aromáticos e sua conversão em vanilina é uma forma eficaz de utilizar a lignina em alto valor (CASIMIRO *et al.*, 2019).

A composição de lignina no bagaço e palha de cana-de-açúcar é amplamente encontrada na literatura, a partir de diversas metodologias. Estudos realizados por Rocha *et al.* (2011), Silva *et al.* (2011), Canilha *et al.* (2011), Pereira *et al.* (2015), Gambarato (2014) e Oliveira (2015) mostram que o conteúdo de lignina no bagaço encontra-se na faixa de 13,2 a 26,7%, enquanto para a palha esse percentual varia entre 11,4 e 30,0%.

2.6.5 Vanilina e seringaldeído

Segundo Oliveira (2015), vanilina e seringaldeído são aldeídos aromáticos obtidos do processo de oxidação da lignina em meio alcalino. De acordo com Mota *et al.* (2016), vanilina e seringaldeído são precursores do 3,4,5-trimetoxibenzaldeído, o qual é utilizado como matéria-prima na indústria farmacêutica.

Rendimentos de 33 kg seringaldeído e 22 kg de vanilina por tonelada de lignina foram alcançados por Pinto *et al.* (2013), os quais avaliaram a oxidação da lignina a partir de madeira da espécie *Eucalyptus globulus*. Aquino *et al.* (2006) afirmam que seringaldeído e vanilina são os compostos predominantes em bebidas alcoólicas envelhecidas em barris de madeira, devido à hidrólise da lignina.

Sridhar (2005) afirma que a vanilina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído) é um importante agente aromatizante utilizado na indústria alimentar, principalmente como aroma de baunilha. A vanilina pode ser obtida por via natural, através de extração das sementes de baunilha, no entanto, isto é um processo de custo elevado e de baixa eficácia em comparação a via sintética.

Vanilina e seus derivados apresentam aplicações nos mais diversos ramos, entre eles: indústria alimentícia, medicamentos e defensivos agrícolas. Yadav *et al.* (2018) demonstraram que derivados de vanilina possuem potencial antimicrobiano significativo contra a bactéria *Escherichia coli*. Prabawati *et al.* (2018) constataram a eficácia na síntese do composto 4-(4-hidroxifenil-3-metoxi)-4-hidroxi-2-butanona (derivado de vanilina) e utilização do mesmo no combate a moscas de frutas. Xu *et al.* (2023) afirmam que a vanilina desempenha um papel importante não apenas em alimentos e aromatizantes, mas também como na síntese de outros produtos valiosos, como os derivados da descarboxilação oxidativa da produção de guaiacol à base de petróleo.

De acordo com Ibrahim *et al.* (2012), o seringaldeído (3,5-dimetoxi-4-hidroxienzalaldeído) é um aldeído fenólico de grande importância porque possui valiosas propriedades bioativas, sendo utilizado na indústria farmacêutica, alimentícia, cosmética, têxtil, de papel e celulose e até mesmo em aplicações de controle biológico.

2.6.6 Compostos fenólicos na cana-de-açúcar e seus produtos

De acordo com Lima *et al.* (2016), a cor do caldo de cana é originada principalmente dos compostos fenólicos que podem influenciar na cor do produto. A cor no processo de produção de açúcar é causada principalmente por compostos fenólicos encontrados na cana-de-açúcar, bem como pigmentos de caramelo e amônias carboniladas produzidas durante o processo (IBRAHIM *et al.*, 2023). Diante do exposto, a seguir são descritos os principais estudos relacionados aos compostos fenólicos e a cor da cana-de-açúcar e seus produtos de processamento.

Payet *et al.* (2005) quantificou polifenóis presentes em amostras de 7 tipos de açúcar mascavo. Foram mais de 65 compostos fenólicos analisados, sendo que nenhum flavonoide foi identificado. Os principais compostos identificados foram os ácidos fenólicos, dentre os quais se destacaram: vanilina e os ácidos ferúlico, *p*-cumárico, siríngico e benzoico. O ácido siríngico apresentou maiores níveis de concentração em praticamente todas as amostras, variando de 7,13 a 161,0 mg/kg de açúcar. Dentre as amostras estudadas, as maiores concentrações encontradas para os ácidos ferúlico e *p*-cumárico foram 16,1 e 33,2 mg/kg de açúcar, respectivamente.

Simioni *et al.* (2006) estudaram o efeito da variedade e época de colheita da cana-de-açúcar sobre o teor de fenóis totais, constatando haver correlações positivas em seis variedades estudadas entre idade e compostos fenólicos. Também neste trabalho foi desenvolvido um estudo que relacionou a concentração de compostos fenólicos com a cor dos açúcares cristal e VHP. Para o açúcar cristal, a cor variou de 95 a 180 UI e os fenóis de 33 a 65 ppm, enquanto no açúcar VHP a cor foi de 270 a 1240 UI e a concentração dos compostos fenólicos variaram de 78 a 270 ppm. Entretanto, a concentração de ácido clorogênico foi insignificante. No decorrer do processo de fabricação do açúcar, ficou evidenciado que os teores de derivados de ácido hidroxibenzoico (ácidos protocatecuico, *p*-hidroxibenzoico, vanílico, siríngico e benzoico) aumentaram, provavelmente devido a degradação dos derivados de ácido hidroxicinâmico, como indicado pela presença de ácido benzóico a partir da etapa de cristalização. O maior e menor teores de vanilina foram encontrados no mel final (melaço) e caldo clarificado, respectivamente. Observou-se que o processo de açúcar resultou em um aumento de teores de compostos fenólicos em seus produtos.

Duarte-Almeida (2006) identificou alguns compostos fenólicos contidos na cana-de-açúcar e seus produtos, utilizando a Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A partir do caldo da variedade SP813250 foram detectados nove derivados de flavonas, sendo a

maioria proveniente de tricina, apigenina e luteolina. Já os ácidos fenólicos encontrados são da família dos ácidos cinâmicos (derivados dos ácidos clorogênico, cafeico e cumárico). Neste estudo foram apresentadas duas novas substâncias: uma flavona, tricina-7-O- β -(6''-*p*-metoxicinamato)-glucosídeo; e uma lignana, 3-hidroxi-1-[4,5-dihidroxi-3-metoxifenil]-2-[4-(3-hidroxi-1-(E)-propenil)-2,6-dimetoxifenoxi]-propil- β -D-glucopiranosídeo.

Ordoñez (2009) realizou um estudo sobre a implantação de técnicas rápidas de extração e quantificação de flavonoides e fenóis em folhas, raízes e gemas de diferentes variedades de cana-de-açúcar, com base em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e espectrofotometria (UV/VIS). Com relação ao teor total de flavonoides, a maior média foi encontrada nas folhas (32,1 mg/kg), seguida das gemas (14,2 mg/kg) e raízes (5,7 mg/kg). Concentrações de rutina, naringina, quercetina, luteolina e apigenina foram mais elevadas nas folhas, com destaque para a primeira, encontrada em níveis muito mais altos do que as outras.

Duarte-Almeida *et al.* (2011) quantificaram os principais flavonoides e ácidos fenólicos em três variedades de cana-de-açúcar (RB855486, SP813250 e SP801842), bem como durante o seu respectivo processamento, como o caldo misto, xarope, melão e açúcar VHP. Foi observado que as variedades de cana-de-açúcar *in natura* possuem perfis que se distinguem dos seus produtos, quanto à concentração de flavonoides e ácidos cinâmicos. O perfil dos fenólicos das variedades de cana-de-açúcar foi composto predominantemente por ácidos cinâmicos (cafeico, clorogênico, *p*-cumárico e ferúlico), com destaque para o ácido clorogênico, o qual foi a substância encontrada em maior quantidade, enquanto os flavonoides, se apresentaram em menor proporção.

Duarte-Almeida *et al.* (2011) identificaram outros ácidos na cana-de-açúcar em quantidade significativa, como o cafeico e *p*-cumárico. Os derivados de luteolina foram os flavonoides com maior expressão nas variedades analisadas, representando cerca de 44% do total de flavonoides detectados. Um detalhe importante foi a quantificação dos ácidos cafeico e ferúlico, o primeiro presente apenas em colmos e o último em produtos do processamento da cana-de-açúcar. Foram encontradas concentrações próximas de 1,5 mg/100g de ácido clorogênico na cana-de-açúcar *in natura*, enquanto no caldo misto (caldo extraído das moendas ou difusores) a concentração não ultrapassou 0,5 mg/100g.

Segundo Bucheli e Robinson (1994), o ácido clorogênico é um *o*-difenoil presente na cana, é um ótimo substrato para atividade da enzima PPO, provocando assim, a reação mostrada na Figura 2, ou seja, após extração do caldo da cana-de-açúcar houve uma diminuição nos níveis de ácido clorogênico.

Nguyen e Doherty (2011) investigaram a degradação, em pH 3, 4 e 5, do ácido cafeico (ácido 3,4-di-hidroxicinâmico), o qual está presente no caldo de cana-de-açúcar, usando tanto o peróxido de hidrogênio como o reagente de Fenton. Os resultados mostram que num período de 30 min, 85,8% de ácido cafeico foi degradado com a adição de 200 ppm de Fe^{+2} e 400 ppm de H_2O_2 em pH 5. Em pH mais baixo, 3 e 4, a degradação apresentou 61,7 e 66,4%, respectivamente.

Valli *et al.* (2012) constataram que a concentração de compostos fenólicos do melão proveniente da cana-de-açúcar é seis vezes superior ao melão oriundo da beterraba. Foi constatado que o ácido siríngico é o principal componente fenólico do melão de cana-de-açúcar, enquanto vanilina, ácido ferúlico e luteolina/Kampferol foram as principais espécies encontradas no melão de beterraba.

Caldas (2012) avaliou a cor do açúcar branco (cristal e refinado) durante armazenamento pelo período de 123 dias, constatando um progressivo escurecimento ao longo do tempo, tendo como precursores os compostos fenólicos. Ao identificar e quantificar os constituintes polifenólicos, através de cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massa (LC-MS), foi comprovado que os ácidos fenólicos eram os principais componentes das extrações, com predomínio dos ácidos ferúlico e p-cumárico. Este último, presente em maior quantidade, apresentando concentrações médias de 8,26 e 9,15 mg/kg nos açúcares cristal e refinado, respectivamente. O açúcar refinado apresentou elevação de cor de 15 UI durante o armazenamento, promovendo uma elevação no percentual de escurecimento de 20,92% em relação ao primeiro dia. Já o do açúcar cristal teve crescimento mais modesto (13,89%), apesar do aumento de pouco mais de 30 UI na coloração.

Thamaphat *et al.* (2015) determinaram o teor de antocianina em diversos tipos de açúcar (refinado, branco, mascavo e bruto) espectroscopia de ressonância de spin eletrônico (ESR). Nenhum sinal ESR foi observado para açúcar refinado e açúcar branco, enquanto o açúcar bruto e o açúcar mascavo exibiram um sinal ESR de aproximadamente 164 mT ($g = 4,27$). Os espectros ESR de antocianina padrão, açúcar bruto e açúcar mascavo exibiu sinais de Fe (III), Mn (II) e radicais livres. Além disso, a intensidade da cor no açúcar aumentou com o aumento das concentrações de ferro devido às reações entre antocianina e ferro. Esta descoberta indicou que o conteúdo de antocianina em açúcares de cana (refinado, branco, mascavo e bruto) são correlacionados com sinais ESR.

Mandro *et al.* (2015) avaliaram a degradação da rutina em caldo de cana-de-açúcar pela ação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Foi avaliada a intensidade da taxa de

absorbância da rutina e cor do caldo de cana-de-açúcar em três diferentes quantidades de H_2O_2 , constatando-se que tanto a taxa de absorbância como a cor estão interligados com a concentração de H_2O_2 na solução, ou seja, quanto maior a dosagem de H_2O_2 maior será a degradação e menor será a cor. Tais resultados demonstram que a rutina tem participação direta na coloração do caldo de cana-de-açúcar.

Manarim e Aguiar (2016) avaliaram a remoção de pigmentos (clorofila, compostos fenólicos e flavonoides) de cana-de-açúcar (variedade RB855453) empregando coluna cromatográfica de adsorção, utilizando a resina SD-2 DowTM OptiporeTM como adsorvente. Foi obtido uma eficiência de extração de 96% em etanol, e a análise resultou em concentrações de fenólicos, flavonóides e clorofila ao longo das frações eluídas e adsorção da resina, juntamente com os eluentes. A separação foi obtida com sucesso para todos os compostos, onde uma diminuição na polaridade das moléculas de pigmentos ocorreu durante a execução cromatográfica.

Sartori *et al.* (2017) utilizaram o mecanismo de Criegee para avaliar as melhores condições operacionais de pH e temperatura na degradação de compostos fenólicos (em termos de ácido gálico) do caldo de cana-de-açúcar por ozonização. Os ensaios foram realizados pelo período de 4 horas com uma taxa de dosagem de $3,82 \text{ mg O}_3 \text{ min}^{-1}$. A maior degradação de ácido gálico foi obtida sob condições de reação de pH igual a 7,82 e 50°C . Nestas condições ficou evidenciado que não houve degradação da sacarose, que é um parâmetro importante para o rendimento industrial.

Fonseca *et al.* (2017) investigaram a decomposição de uma mistura de quatro ácidos fenólicos (*p*-cumárico, cafeico, siríngico e clorogênico) e uma flavona (quercetina) em água e solução aquosa de sacarose, através do método de ozonização. Ficou constatado que o consumo médio de ozônio foi semelhante para a remoção dos ácidos clorogênico, cafeico e *p*-cumárico em água e solução de sacarose, e um pouco maior para quercetina. Houve consumo significativo de ozônio (18,7 ppm) para alcançar níveis de 90% de remoção em solução aquosa de sacarose para os ácidos clorogênico, cafeico e *p*-cumárico. Entretanto, concentração de ácido siríngico não pôde ser medida com precisão em solução de sacarose, devido à presença de espécies intermediárias resultante da degradação de compostos fenólicos, quase ao mesmo tempo que o referido ácido. Por outro lado, a degradação da quercetina aumentou principalmente quando os compostos fenólicos foram quase completamente oxidados, ou seja, em dosagens de ozônio superiores a 20 ppm. Ficou evidenciado que a remoção de compostos fenólicos foi claramente prejudicada durante a

ozonização na presença de sacarose e que o impacto dos produtos intermediários de degradação na formação de cor ou toxicidade deve ser investigada com mais profundidade.

Ogando *et al.* (2019) utilizaram a eletrocoagulação como substituto do processo de clarificação do caldo da cana-de-açúcar por sulfitação, sendo avaliados os seguintes parâmetros: cor ICUMSA, turbidez e teor de compostos fenólicos. Os ensaios foram divididos de acordo com a tensão aplicada: 35, 45, 55 e 65 V. A tensão mais alta nos tratamentos alcançaram maior redução da cor, turbidez e compostos fenólicos totais. No entanto, nenhum dos tratamentos impactou no teor de fenólicos simples analisados. As concentrações de ácidos benzoicos (gálico, *p*-hidroxibenzoico, vanílico e sirínico), ácidos hidroxicinâmicos (cafeico, *p*-cumárico e ferúlico) e flavonas (naringenina e quercetina) não foram afetados pela eletrocoagulação, e conseqüentemente, não apresentaram correlação com a cor ICUMSA.

Sartori *et al.* (2019) avaliaram as reações envolvidas na degradação de compostos fenólicos (rutina e ácido cafeico) no caldo de cana-de-açúcar por ozonização. Foi constatado que a degradação de rutina é mais rápida do que a do ácido cafeico, porque após 30 minutos (consumo de 44,3 mg O³ min⁻¹) nenhum pico de rutina pôde ser detectado por análises de HPLC/PDA. Para o ácido cafeico, nenhum pico foi detectado após 60 minutos (consumo de 88,6 mg O³ min⁻¹).

Song *et al.* (2019) utilizaram uma diatomita modificada com quitosana magnética (MCMD) como um novo tipo de agente clarificante para açúcar, com o objetivo de adsorver ácido gálico e ácido cafeico. As capacidades máximas de adsorção alcançadas para ácido gálico e ácido cafeico por MCMD foram de 31,949 mg g⁻¹ e 27,640 mg g⁻¹, respectivamente. Os resultados desse estudo mostraram que o MCMD teve potencial significado para o estudo do mecanismo de descoloração da clarificação de açúcar.

Rodrigues *et al.* (2021) fizeram uma análise fenólica abrangente do caldo de cana-de-açúcar *in natura* de três diferentes safras. Também foi avaliado o efeito do aquecimento ôhmico e tratamento de ultra-som sobre o conteúdo fenólico e a cor do caldo. Entre os 32 compostos fenólicos identificados, um total de 17 foram quantificados, compreendendo em ordem decrescente de abundância, flavonas (38–49 mg/L), diligóis (22–29 mg/L) e ácidos fenólicos (17–30 mg/L). Os principais grupos fenólicos afetados nas diferentes safras foram os flavonas e os ácido fenólico. Foi constatado que a variabilidade dos compostos fenólicos parece estar relacionada principalmente ao menor volume de chuvas nos meses anteriores à colheita.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As análises necessárias para realização da pesquisa foram realizadas no laboratório de Química Analítica pertencente à Coordenadoria de Química do Instituto Federal de Alagoas – Campos Maceió e nos laboratórios das usinas parceiras deste trabalho.

3.1 AMOSTRAS

As amostras foram coletadas em duas unidades industriais do estado de Alagoas: a primeira, Usina Porto Rico, denominada de Usina A (UA) localizada na região da Zona da Mata, apresentando aproximadamente 30% de sua colheita de forma mecanizada; a segunda, Usina Santa Maria, denominada de Usina B (UB) localizada na região Norte do estado, a qual é caracterizada pelo terreno bastante acidentado e colheita de cana-de-açúcar realizada 100% de forma manual. O período de coleta ocorreu durante as safras 2019/2020 e 2020/2021. A coleta das amostras foi realizada de acordo com a divisão das etapas do trabalho e seu respectivo local, da seguinte forma: delineamento experimental para avaliação da matéria-prima (realizada só em UA), etapas do processamento do açúcar VHP (UA e UB), evaporação (UA), cozimento (UA) e açúcar VHP (UA e UB).

3.1.1 Delineamento experimental para avaliação da matéria-prima

Cana-de-açúcar colhida de forma mecanizada e manual, nas variedades RB 92579 e VAT90-212, foram coletadas de caminhões de transporte pela sonda de amostragem. Tais variedades foram escolhidas porque foram predominantes no processo produtivo, representando juntas cerca de 55% da cana-de-açúcar utilizada no período de moagem.

3.1.2 Etapas do processamento do açúcar VHP

As amostras foram nomeadas de acordo com o produto obtido nas respectivas etapas do processo (Figura 8):

- Caldo cru: cana-de-açúcar coletada na sonda de amostragem. A extração do caldo foi realizada de acordo com (ABNT, 2019);
- Caldo misto: caldo do primeiro e segundo terno de moenda submetido ao peneiramento;
- Caldo caleado: caldo obtido após processo de caleação;

- Caldo clarificado: caldo obtido no decantador;
- Xarope: caldo concentrado à saída da evaporação.
- Massa cozida: material composto de cristais de sacarose e mel, obtido após cozimento do xarope.

A coleta foi realizada em um dia de cada mês durante as safras 2019/2020 e 2020/2021. Neste dia foram tomadas amostras de 6, 9 e 12 horas da manhã, fazendo assim um pool em cada ponto citado acima, em seguida congeladas (-15°C) para posteriormente serem analisadas quanto à cor, fenóis totais e os compostos fenólicos.

Figura 8 - Principais produtos obtidos do processo de fabricação do açúcar VHP.



Fonte: O Autor (2023).

3.1.3 Evaporação

Para avaliação do processo de evaporação, foram coletadas amostras nos seguintes pontos: caldo clarificado, que alimenta o processo de evaporação; caldo à saída do 1ºefeito; caldo à saída do 2ºefeito; caldo à saída do 3ºefeito e o caldo à saída do 4ºefeito, o qual é denominado de xarope. Em todas as amostras foram analisadas cor, fenóis totais e os compostos fenólicos.

3.1.4 Cozimento

O processo de cozimento foi avaliado a partir de uma operação em batelada (cozedor de 400 HL de capacidade), a qual teve início com a injeção de, aproximadamente, 250 HL de

massa pré-cozida oriundo de um corte de um outro cozedor. Este material, chamado de “pé de cozimento”, foi o primeiro ponto a ser coletado. Em seguida, com alimentação de xarope ao cozedor, foi coletada uma alíquota, chamada de massa 1, ao nível de 300 HL. Da mesma forma, foram coletados em 350 HL (massa 2) e 400 HL (massa 3), esta última sendo a massa que representa a finalização do cozimento, ou seja, a coleta ocorre quando acontece o descarregamento do cozedor para os cristalizadores. Em todas as amostras foram analisados cor, fenóis totais e os compostos fenólicos.

3.1.5 Açúcar VHP

O açúcar VHP foi coletado em seis colorações diferentes, dentro das mesmas condições do processo de produção. Amostras de açúcar VHP foram obtidas da seguinte forma: 100 g de açúcar VHP foram coletados a cada 2 horas durante um período de 6 horas, ao final foi realizado um mix de 400g com o montante.

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As amostras para realização do delineamento experimental foram coletadas apenas em UA porque UB não possui colheita mecanizada.

Foi utilizada a metodologia de superfície de resposta com o objetivo de avaliar o efeito do tipo de colheita, % de impureza vegetal e variedade da cana (variáveis independentes) sobre as respostas: cor, fenóis totais e compostos fenólicos da matéria-prima (cana-de-açúcar). Para colheita mecanizada as amostras correspondem a cana crua, enquanto para colheita manual a cana é queimada. Os ensaios experimentais foram realizados de acordo com o planejamento fatorial 2^3 , totalizando 8 ensaios, e estes realizados com três repetições. Os dados obtidos foram ajustados ao seguinte polinômio (Equação 1):

$$Y\varphi(C, F, P) \equiv \beta_0 + \beta_1TC + \beta_2IV + \beta_3VC + \beta_{12}TCIV + \beta_{13}TCVC + \beta_{23}IVVC \quad (1)$$

Em que β_n são os coeficientes de regressão, Y é a resposta em questão, C é a cor (UI), F é Fenóis (%) e P é Polifenóis (%). TC, IV e VC são as variáveis codificadas (Tipo de Colheita; % Impureza Vegetal e Variedade de Cana). A Tabela 2 apresenta as variáveis independentes codificadas e decodificadas.

Tabela 2 – Níveis codificados e decodificados das variáveis independentes do planejamento fatorial 2³.

Ensaio	Variedade	Impureza (%)	Colheita
1	VAT90-212 (-1)	5 (-1)	Mecanizada (-1)
2	RB92579 (1)	5 (-1)	Mecanizada (-1)
3	VAT90-212 (-1)	10 (1)	Mecanizada (-1)
4	RB92579 (1)	10 (1)	Mecanizada (-1)
5	VAT90-212 (-1)	5 (-1)	Manual (1)
6	RB92579 (1)	5 (-1)	Manual (1)
7	VAT90-212 (-1)	10 (1)	Manual (1)
8	RB92579 (1)	10 (1)	Manual (1)

Fonte: O Autor (2023).

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram avaliados pela ANOVA utilizando o teste de Duncan para comparação ao nível de 5% de significância, sendo utilizado o software Statistica 7.0.

3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A seguir é descrita a metodologia utilizada nas análises físico-químicas realizadas nas amostras do processamento do açúcar VHP.

3.4.1 pH

Para medição de pH foi utilizado pHmetro de bancada digital PHTER PHS-3B, com controle de temperatura e previamente ajustado nas soluções padrão pH 4,0 e pH 7,0.

3.4.2 Sólidos solúveis totais (Brix)

A determinação dos sólidos solúveis totais (°Brix) foi feita através de refratômetro digital portátil, marca HANNA HI 96801, com compensação automática de temperatura e faixa de medição de 0 a 85°Brix.

3.4.3 Cor ICUMSA

A intensidade de cor ICUMSA (*International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis*) foi obtida utilizando uma adaptação dos métodos GS 2/3-9 e GS 1/3-7 (ICUMSA, 2005; ICUMSA, 2011). Para caldos, xarope e massa faz-se a leitura do Brix das amostras para posterior diluição, promovendo a correção para 5 °Brix. O material diluído passa por uma filtração à vácuo, utilizando pré-filtro AP25 e membrana filtrante (porosidade 0,45 µm), em que o filtrado tem o pH corrigido para 7±0,1. Por fim, faz-se uma nova medição de brix para posterior leitura no espectrofotômetro, o qual é configurado em comprimento de onda de 420 nm e aferido em cubeta de 1 cm em zero de absorbância e 100% de transmitância com água destilada. A cor é expressa em unidades ICUMSA e determinada através da Equação 2.

$$\text{Cor (UI)} = \frac{\text{ABS}}{\text{A} \cdot \text{B}} \times 100 \quad (2)$$

Onde: ABS: Absorbância da solução.

A: Comprimento interno da cubeta.

B: Concentração do filtrado em g/mL em função do °Brix.

Para o açúcar VHP, foram diluídos 20 g de amostra em balão de 100 mL com adição de 10 mL da solução tampão de MOPS (ácido 4-morfolino propano sulfônico), depois ocorre a filtração, medição de brix e leitura espectrofotométrica da mesma forma descrita para caldos, xarope e massa. A cor é obtida utilizando a Equação 2. Cada ensaio foi realizado em duplicata e os resultados expressos em UI.

3.4.4 Fenóis totais

Os fenóis totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, de acordo com Fonseca *et. al.* (2017), com algumas modificações. A curva de calibração foi preparada utilizando soluções de ácido gálico nas concentrações entre 2 e 10 mg/L. Na quantificação dos fenóis, 2 g de amostra foram solubilizadas e transferidas para um balão volumétrico de 50 mL, completando-o com água destilada. Uma alíquota de 2 mL da amostra diluída foi misturada com 0,4 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e 0,4mL da solução de hidróxido de sódio (7,0% v/v). Após 60 minutos de repouso foi realizada a leitura com espectrofotômetro ajustado para 760 nm, utilizando água destilada para o branco, o qual é preparado da mesma

forma da amostra. Cada ensaio foi realizado em duplicata, sendo os resultados para caldos, xarope e massa expressos em ppm/°Brix, enquanto para as amostras de açúcar os resultados foram expressos em mg/kg.

3.5 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

Nesta seção é descrita a metodologia utilizada nas análises cromatográficas para um cromatógrafo Shimadzu.

3.5.1 Padrões e reagentes

Foram utilizados os seguintes padrões para a análise cromatográfica: ácido gálico, catecol, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, vanilina, siringaldeído, ácido *p*-cumárico, cumarina, rutina, miricetina e quercetina. Tais padrões foram obtidos da Sigma-Aldrich Brasil LTDA de acordo com a disponibilidade analítica. Os solventes (grau HPLC) utilizados foram: álcool metílico (J. T. Baker) e ácido fórmico (Dinâmica). Para preparação das soluções foi utilizada água ultra-pura obtida de um sistema Milli-Q.

3.5.2 Extração

A extração foi realizada de acordo com Caldas (2012) com algumas modificações. Amostras líquidas (caldo e xarope) foram previamente centrifugadas (2000 rpm) e filtradas em papel filtro (diâmetro de 7 cm). Em seguida ocorreu a solubilização de 0,50 g das amostras (caldo, xarope, massa e açúcar) com 5 mL de ciclohexano em banho ultrassom à 35°C, sendo os fenólicos extraídos com alíquotas de 15 mL de metanol:água (70:30 v/v) divididas em três seções. Fez-se a separação em balão de decantação, sendo o solvente do extrato evaporado sob vácuo em rotaevaporador até volume aproximado de 2 mL. Por fim, fez-se uma nova filtragem em membrana de polietileno de 0,45 µm (Mili-pore) e o extrato colocado em vial de 1,5 mL para injeção.

3.5.3 Determinação dos compostos fenólicos

Concentrações de ácido gálico, catecol, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, vanilina, siringaldeído, ácido *p*-cumárico, cumarina, rutina, miricetina e quercetina foram determinadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em cromatógrafo

Shimadzu (LC-20A) (Figura 9) com os seguintes componentes: amostrador automático (SIL-20A), detector UV/VIS (SPD-20A) e coluna C18 Shim-pack (4,6 x 250mm). Foi utilizado o software LC-Solution 1.0 para processamento dos dados. Todas as análises cromatográficas foram realizadas no Instituto Federal de Alagoas, Campus Maceió.

Figura 9 – Cromatógrafo Shimadzu (LC-20A).



Fonte: O Autor (2023).

As condições experimentais foram configuradas da seguinte forma: fluxo de 0,6 mL/min, tempo de análise de 80 min, volume de injeção de 20 μ L, temperatura do forno de 33 °C e comprimento de onda de 290 nm, sendo a fase móvel constituída dos solventes A (solução de ácido fórmico 0,1%) e B (metanol). As amostras e padrões analíticos foram eluídos de acordo com o gradiente de variação: de 0 a 15 minutos (7-25% B); 15 a 38 minutos (25-50% B); 38 a 58 minutos (50-85% B); 58 a 62 minutos (85-25% B); 62 a 80 minutos (25-7% B). A identidade dos analitos foram confirmadas pelo tempo de retenção dos picos das amostras em comparação com o cromatograma dos padrões analíticos. Cada ensaio foi realizado em duplicata e os resultados expressos em ppm/°Brix.

Para determinação do tempo de retenção foi preparada uma solução padrão a 10 mg/L para cada composto fenólico, as quais foram injetadas separadamente e identificadas através dos picos cromatográficos obtidos pela resposta do detector em função do tempo de eluição.

Com a identificação do tempo de retenção de cada composto, foi preparada uma solução mix de 200 mg/L da seguinte forma: dissolução de 1 mg de cada padrão analítico em banho ultrassom, utilizando solução metanol:água (70:30 v/v) como solvente, e transferência

para balão volumétrico de 5 mL, totalizando uma solução mix de 200 mg/L para cada polifenol.

3.5.4 Validação do método analítico

Segundo Inmetro (2016) a validação tem como objetivo confirmar que os métodos são apropriados para o uso pretendido, devendo ser suficientemente abrangente para atender às necessidades de uma determinada aplicação ou área de aplicação, assegurando assim a confiabilidade dos resultados obtidos. Com base no documento DOQ-CGCRE-008 (INMETRO, 2016), os parâmetros de validação utilizados neste trabalho foram: seletividade; linearidade e sensibilidade; precisão (repetibilidade); limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ). O nível de confiança utilizado para os testes de hipóteses foi de 95%.

3.5.4.1 Seletividade

A seletividade foi avaliada comparando as análises das injeções da fase móvel e da solução mix (ácido gálico, catecol, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, vanilina, siringaldeído, ácido *p*-cumárico, cumarina, rutina, miricetina e quercetina) a 200 mg/L, verificando a presença de interferentes e separação dos picos.

3.5.4.2 Linearidade

A linearidade foi obtida a partir da análise dos dados das curvas de calibração das soluções mix contendo os doze polifenóis citados anteriormente. Para tal, foram preparadas 10 soluções mix de 1 a 10 mg/L a partir da coleta de alíquotas da solução mix de 200 mg/L. Cada nível de concentração foi injetado em triplicata, ocorridos em dias diferentes, sendo cada ponto da curva determinado pela média das áreas dos picos. Os parâmetros de regressão foram obtidos de acordo com o método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO), no qual foi proposto o modelo linear descrito na Equação 3.

$$y = bx + a \quad (3)$$

Sendo: y : resposta medida (área do pico)

x : concentração dos analitos

b : coeficiente angular

a : coeficiente linear

Os coeficientes a e b são obtidos de acordo com as Equações 4 e 5.

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n y_i - b \sum_{i=1}^n x_i}{n} = \bar{y} - b\bar{x} \quad (4)$$

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (5)$$

Onde: x_i : valores individuais de cada nível de concentração
 y_i : área do pico para cada nível de concentração
 \bar{x} : média de x_i
 \bar{y} : média de y_i
 n : número de níveis da curva de calibração

O resíduo (e_i) é obtido da diferença entre o valor observado (y_i) e o valor estimado (\hat{y}_i), de acordo com a Equação 6.

$$e_i = y_i - \hat{y}_i \quad (6)$$

O coeficiente de determinação (R^2) é quantificado pela Equação 7.

$$R^2 = \frac{SQ_R}{SQ_T} = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (7)$$

Onde: SQ_R : soma quadrática da regressão
 SQ_T : soma quadrática total

Quanto mais próximo de um (1) estiver o valor de R^2 , menor será o resíduo e, conseqüentemente, melhor terá sido o ajuste do modelo às respostas observadas.

A verificação da presença de *outliers* (valores aberrantes) foi realizada com base nos resíduos padronizados de Jackknife, como descrito por Souza e Junqueira (2005), os quais identificam os *outliers* como pontos fora do intervalo $\pm t_{(1-\alpha/2; n-2)} \cdot s_{e_i}$, onde α é o nível de significância, n é o número de ensaios e s_{e_i} é o desvio padrão dos resíduos. O resíduo

padronizado de Jacknife (J_e) é calculado para cada ponto da curva de calibração de acordo com a Equação (8). Valores de J_e superiores a t crítico são considerados *outliers* e devem ser eliminados.

$$J_e = r_i \sqrt{\frac{n-p-1}{n-p-r_i}} \quad (8)$$

Sendo: p : número de parâmetros do modelo

$$r_i = \frac{e_i}{s_{e_i}} \quad \text{é o resíduo padronizado}$$

Para verificar a efetividade da regressão linear foi realizado a verificação das seguintes hipóteses estatísticas: (i) os erros seguem uma distribuição normal (normalidade); (ii) a variância dos erros é constante ao longo de toda a faixa estudada (homoscedasticidade).

Conforme o proposto por Souza (2007), a normalidade dos resíduos foi avaliada a partir do teste de Ryan-Joiner, o qual baseia-se na relação linear entre a estatística de ordem da distribuição normal de uma amostra de tamanho n e a amostra da população em estudo após ser ordenada. Um gráfico foi construído entre os valores dos quantis teóricos de uma distribuição normal e os valores das áreas dos picos para cada nível de concentração. Os quantis normais (q_i) são obtidos pela Equação (9).

$$q_i = \phi^{-1} \left(\frac{i-3/8}{n+1/4} \right), \quad i = 1, 2, 3 \dots, n \quad (9)$$

Sendo: q_i : valor normal

ϕ^{-1} : inverso de uma distribuição normal padrão

A estatística do teste de Ryan-Joiner é o coeficiente de correlação da reta ou coeficiente de Ryan-Joiner (R_J), onde a hipótese nula (normalidade dos dados) é rejeitada se $R_J < R_c$ sendo R_c o valor crítico do teste. R_J e R_c são calculados de acordo com as Equações (10) e (11).

$$R_j = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})(q_i - \bar{q})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (q_i - \bar{q})^2}} \quad (10)$$

$$R_c = 1,0063 - \frac{0,1288}{\sqrt{n}} - \frac{0,6118}{n} + \frac{1,3505}{n^2} \quad \text{para } \alpha = 0,05 \quad (11)$$

Sendo \bar{q} é a média de q_i

A homoscedasticidade foi avaliada através do teste de Levene (LEVENE, 1960 *apud* ALMEIDA *et al.*, 2008), o qual consiste em fazer uma transformação dos dados originais e aplicar aos dados transformados no teste da ANOVA (análise de variância). O valor experimental de Levene obtido (F_L) é comparado com o valor crítico (F_c) tabelado sob um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). A hipótese nula é aceita quando $F_L < F_c$, indicando que a diferença entre as variâncias não tem significado estatístico ($p > 0,05$). Em contrapartida, a hipótese alternativa indica que as variâncias são estatisticamente diferentes. O valor transformado z_{ij} é calculado pela Equação (12).

$$z_{ij} = \left| y_{ij} - \bar{y}_i \right|, \quad i = 1, \dots, k \quad e \quad j = 1, \dots, n_i \quad (12)$$

Onde: z_{ij} : valor após transformação

y_{ij} : j-ésima resposta medida do i-ésimo nível de concentração

\bar{y}_i : média das respostas do i-ésimo nível de concentração

Realizando o teste da ANOVA, o valor de F é calculado relacionando as médias quadráticas entre os níveis (MQ_{EN}) e dentro dos níveis (MQ_{DN}), como descrito pela Equação (13).

$$F_L = \frac{MQ_{EN}}{MQ_{DN}} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i (\bar{z}_i - \bar{z})^2 / (k-1)}{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (z_{ij} - \bar{z}_i)^2 / \sum_{i=1}^k (n_i - 1)} \quad (13)$$

Onde:

$$\bar{z}_i = \sum_{j=1}^{n_i} \frac{z_{ij}}{n_i}$$

$$\bar{z} = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} z_{ij}}{\sum_{i=1}^k n_i}$$

k : número de níveis distintos da variável independente
 n_i : número de repetições em cada nível

A significância estatística da regressão foi realizada baseada no teste F, como descrito por Barros Neto *et al.* (2010), onde a razão entre as médias quadráticas da regressão (MQ_R) e resíduos (MQ_r) segue uma distribuição F. Para avaliação deste teste tem como hipótese nula que a regressão linear não é significativa (não há relação entre x e y) contra a hipótese alternativa que a regressão linear é significativa (há relação entre x e y). A hipótese nula é rejeitada quando o valor de F calculado for maior que o valor crítico $F_{(1-\alpha;1;n-2)}$. O valor de F é calculado pela Equação (14).

$$F = \frac{MQ_R}{MQ_r} = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y})^2 / (p-1)}{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2 / \sum_{i=1}^k (n_i - p)} \quad (14)$$

Onde p é número de parâmetros do modelo

3.5.4.3 Precisão

A precisão foi avaliada pela repetibilidade, como descrito por Silva (2012). Foram preparadas três soluções mix de 5 ppm e outras três de 10 ppm, contendo todos os polifenóis, onde as soluções foram injetadas no mesmo dia, no mesmo equipamento e pelo mesmo analista. A repetibilidade foi medida através da análise do coeficiente de variação (CV) das áreas dos picos cromatográficos de três réplicas consecutivas em dois níveis de concentração (5 e 10 ppm). O coeficiente de variação representa o desvio-padrão expresso como porcentagem da média e é determinado de acordo com a Equação (15).

$$CV = 100 \frac{S_A}{x} \quad (15)$$

Onde: s_A : desvio padrão das áreas de pico
 \bar{x} : média das áreas de pico

3.5.4.4 Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram quantificados de acordo com Anvisa (2017), considerando o desvio padrão do ruído do branco em razão ao coeficiente angular (inclinação da reta) obtidos pela linearidade. LD e LQ foram determinados pelas Equações (16) e (17), respectivamente.

$$LD = 3,3 \frac{DP_B}{IC} \quad (16)$$

$$LD = 10 \frac{DP_B}{IC} \quad (17)$$

Onde: DP_B : desvio padrão da área do branco
 IC : inclinação da reta

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos das análises descritas na seção anterior. Primeiro é mostrado o tempo de retenção e a validação do método cromatográfico, em seguida é apresentado a quantificação dos compostos fenólicos e sua relação com a cor.

4.1 TEMPOS DE RETENÇÃO

Os tempos de retenção para os compostos fenólicos são apresentados na Tabela 3. Os cromatogramas das soluções padrão (10 mg/L) individuais com os respectivos tempos de retenção são mostrados no Apêndice A.

Tabela 3 – Tempos de retenção (TR) obtidos por CLAE para padrões de compostos fenólicos na concentração de 10 mg/L.

Composto	TR (min)
Ácido gálico	12,189
Catecol	18,202
Catequina	25,884
Ácido clorogênico	28,852
Ácido cafeico	30,644
Vanilina	32.392
Seringaldeído	36.584
Ácido <i>p</i> -cumárico	41.235
Cumarina	45.638
Rutina	49.389
Miricetina	50.660
Quercetina	53.191

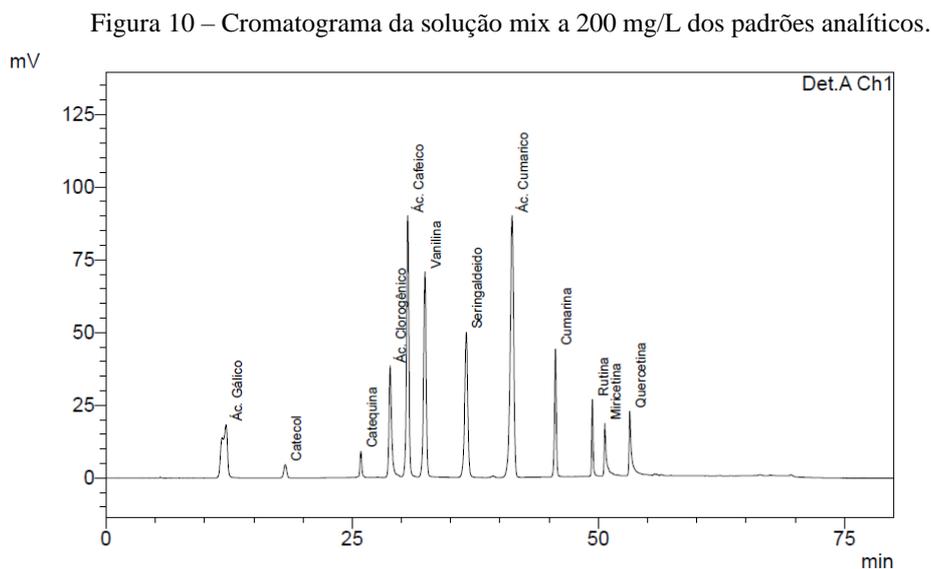
Fonte: O Autor (2023).

4.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

A seguir são apresentados os dados dos parâmetros de validação: seletividade; linearidade e sensibilidade; precisão (repetibilidade); limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

4.2.1 Seletividade

Após diversos testes e inúmeras variações de condições instrumentais (temperatura do forno, comprimento de onda e o gradiente da fase móvel), a seletividade foi alcançada com satisfatória capacidade de separação dos analitos e ausência de interferentes. A Figura 10 mostra o cromatograma da solução mix (200 mg/L) dos padrões analíticos com separação completa e efetiva dos picos cromatográficos.



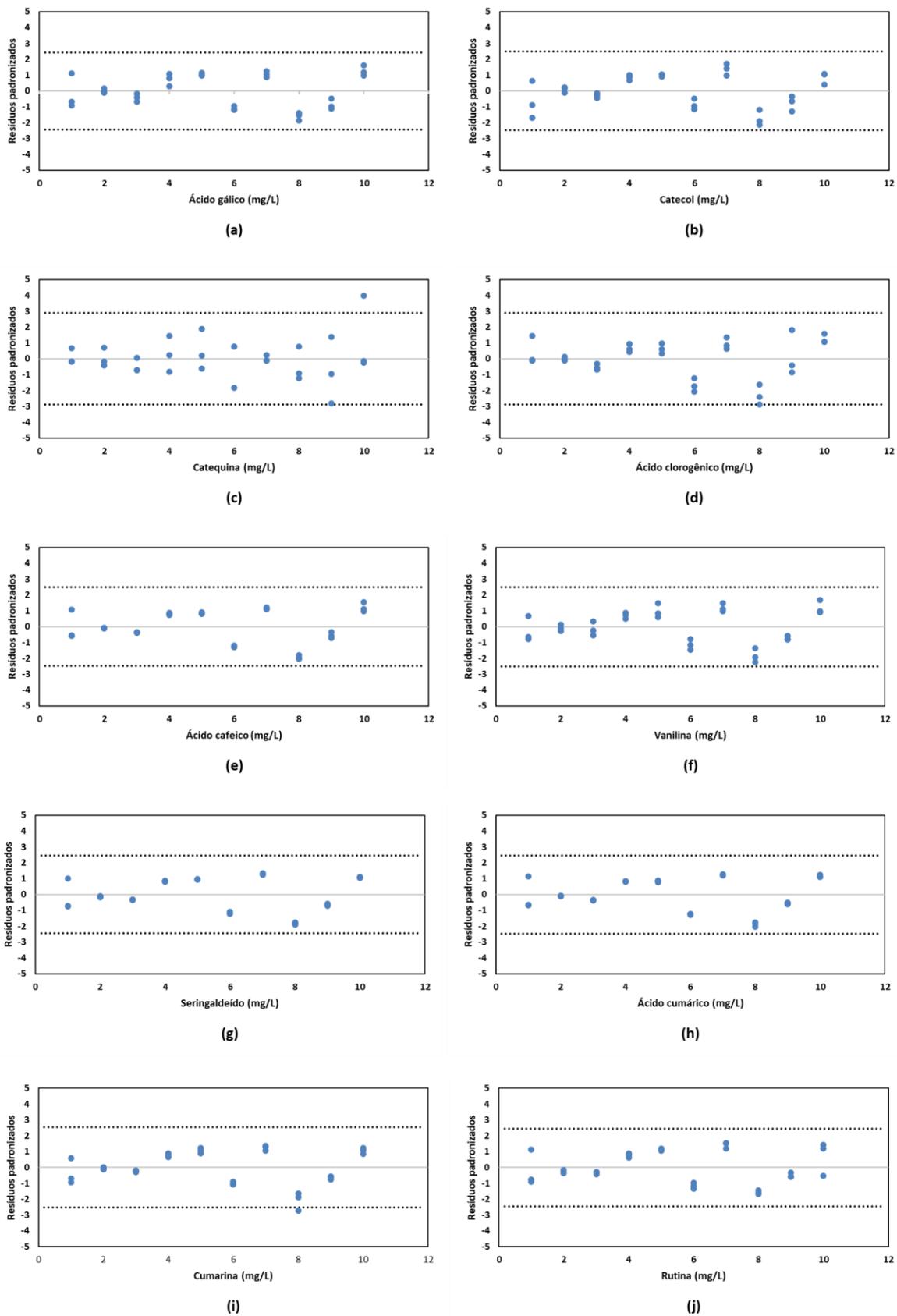
Fonte: O Autor (2023).

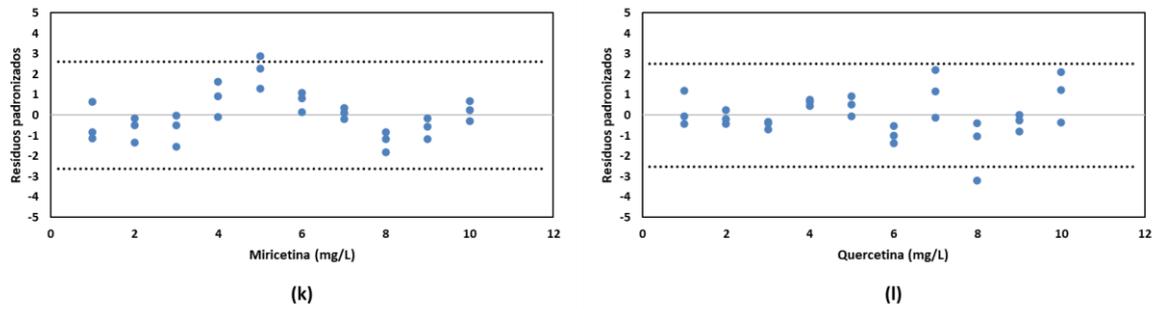
4.2.2 Linearidade

A Figura 11 mostra a representação gráfica do teste de resíduos padronizados de Jacknife, pelo qual foi possível identificar um *outlier* para os resíduos de regressão das curvas dos seguintes compostos: catequina (Figura 11c), cumarina (Figura 11i), miricetina (Figura 11k) e quercetina (Figura 11l). Cada *outlier* identificado foi devidamente excluído, sendo aplicado o teste sucessivamente até que não houvesse mais nenhum valor extremo. Para a curva da quercetina foram necessários a exclusão de mais dois *outliers*, totalizando 10% da

quantidade original de resultados, valor este bem inferior aos 22,2% de exclusão máxima colocada por Horwitz (1995).

Figura 11 – Identificação de outliers através dos resíduos de regressão.





Fonte: O Autor (2023).

A Figura 12 mostra os gráficos obtidos através do teste de Ryan-Joiner, confirmando que os resíduos seguem uma distribuição normal (normalidade) para todos os compostos fenólicos. A normalidade foi evidenciada pela superioridade dos coeficientes de correlação de Ryan-Joiner frente aos coeficientes críticos ($R_J > R_c$).

A Tabela 4 apresenta os resultados referentes aos testes de Levene, confirmando a homogeneidade da variância dos resíduos (homoscedasticidade) ao longo dos níveis de concentração. A estatística do teste de Levene não foi significativa ($p > 0,05$) com $F_L < F_c$ para todas as curvas, comprovando assim, a homoscedasticidade.

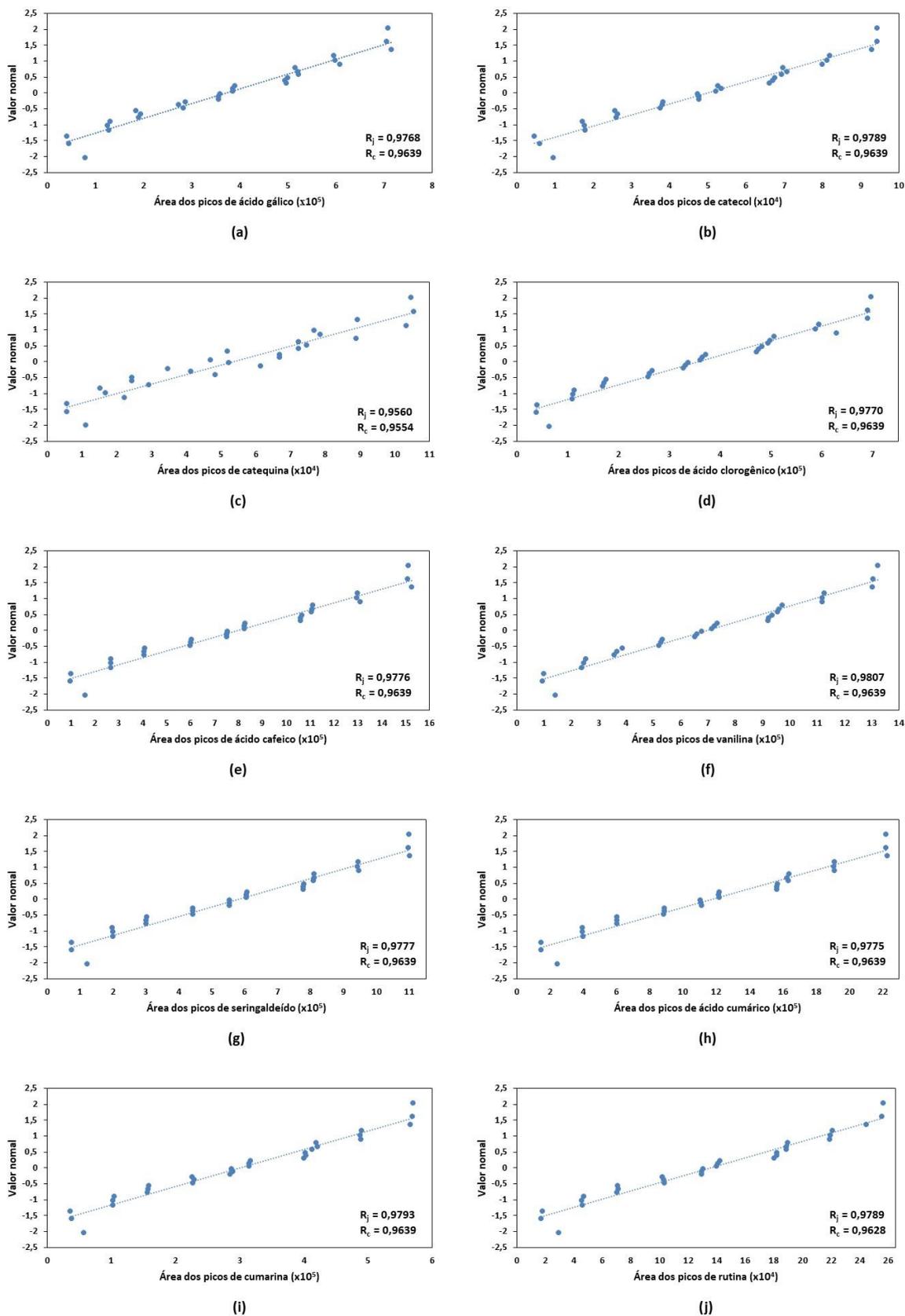
Tabela 4 – Teste de Levene para homoscedasticidade.

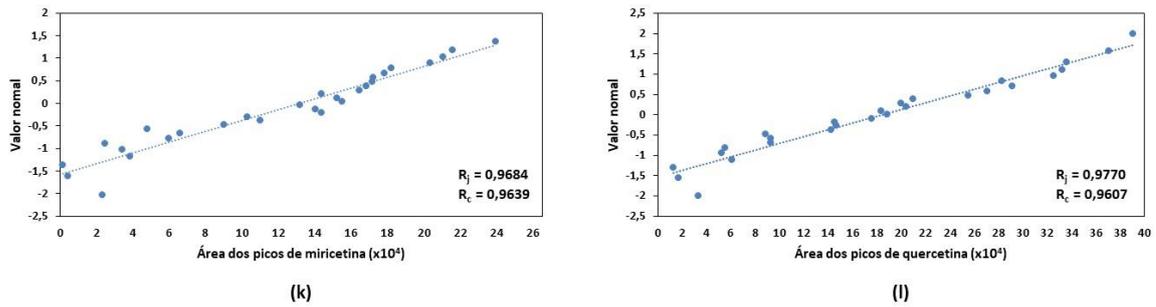
Compostos	Entre níveis			Dentro dos níveis			F_L	F_c	p
	GL	SQ	MQ	GL	SQ	MQ			
Ácido gálico	9	$4,99.10^7$	$5,55.10^6$	19	$7,24.10^7$	$3,81.10^6$	1,45	2,42	0,233
Catecol	9	$1,12.10^6$	$1,25.10^5$	19	$1,36.10^6$	$7,16.10^4$	1,74	2,42	0,146
Catequina	9	$1,49.10^8$	$1,65.10^7$	19	$1,39.10^8$	$7,34.10^6$	2,25	2,42	0,065
Ácido clorogênico	9	$6,82.10^7$	$7,57.10^6$	20	$1,18.10^8$	$5,89.10^6$	1,28	2,39	0,304
Ácido cafeico	9	$3,80.10^7$	$4,20.10^6$	20	$3,81.10^7$	$1,90.10^6$	2,21	2,39	0,067
Vanilina	9	$3,99.10^8$	$4,43.10^7$	20	$4,51.10^8$	$2,25.10^7$	1,96	2,39	0,099
Siringaldeído	9	$6,70.10^6$	$7,46.10^5$	20	$7,61.10^6$	$3,80.10^5$	1,96	2,39	0,100
Ácido <i>p</i> -cumárico	9	$2,59.10^7$	$2,88.10^6$	20	$2,58.10^7$	$1,29.10^6$	2,23	2,39	0,064
Cumarina	9	$1,41.10^7$	$1,57.10^6$	19	$1,44.10^7$	$7,61.10^5$	2,06	2,42	0,088
Rutina	9	$2,58.10^6$	$2,87.10^5$	19	$3,17.10^6$	$1,67.10^5$	1,72	2,42	0,193
Miricetina	9	$1,04.10^8$	$1,16.10^7$	19	$2,22.10^8$	$1,11.10^7$	1,04	2,42	0,438
Quercetina	9	$2,96.10^8$	$3,28.10^7$	17	$2,89.10^8$	$1,52.10^7$	2,15	2,49	0,075

Fonte: O Autor (2023).

GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; MQ: quadrado médio; F_L : F de Levene; F_c : F crítico.

Figura 12 – Gráficos de probabilidade normal.





Fonte: O autor (2023).

R_j = coeficiente de correlação de Ryan-Joiner, R_c = coeficiente de correlação crítico.

Como as hipóteses estatísticas de normalidade e homoscedasticidade foram comprovadas, foi possível utilização do MMQO, sem ponderações, para obtenção dos parâmetros de regressão.

Os resultados da análise da variância (ANOVA) da regressão é apresentada na Tabela 5, baseada no teste F (F-Snedecor). Todas as curvas apresentaram alta significância da regressão ($F \gg F_c$ e $p < 0,001$). Dessa forma a hipótese nula foi rejeitada, demonstrando assim, existir uma relação linear entre as variáveis x e y .

Tabela 5 – Análise da variância (ANOVA) da regressão.

Compostos	Regressão			Resíduo			F	F_c	P
	GL	SQ	MQ	GL	SQ	MQ			
Ácido gálico	1	$1,11 \cdot 10^{12}$	$1,11 \cdot 10^{12}$	27	$9,74 \cdot 10^9$	$3,60 \cdot 10^8$	3098,66	4,21	$2,11 \cdot 10^{-29}$
Catecol	1	$2,00 \cdot 10^{10}$	$2,15 \cdot 10^{10}$	27	$1,40 \cdot 10^8$	$5,24 \cdot 10^6$	3772,86	4,21	$1,50 \cdot 10^{-30}$
Catequina	1	$2,60 \cdot 10^{10}$	$2,60 \cdot 10^{10}$	27	$8,19 \cdot 10^8$	$3,00 \cdot 10^7$	858,55	4,21	$5,30 \cdot 10^{-22}$
Ácido clorogênico	1	$1,20 \cdot 10^{12}$	$1,20 \cdot 10^{12}$	28	$9,60 \cdot 10^9$	$3,40 \cdot 10^8$	3546,65	4,19	$4,90 \cdot 10^{-31}$
Ácido cafeico	1	$5,60 \cdot 10^{12}$	$5,60 \cdot 10^{12}$	28	$3,90 \cdot 10^{10}$	$1,40 \cdot 10^9$	3977,62	4,19	$1,00 \cdot 10^{-31}$
Vanilina	1	$4,10 \cdot 10^{12}$	$4,10 \cdot 10^{12}$	28	$3,10 \cdot 10^{10}$	$1,10 \cdot 10^9$	3713,68	4,19	$2,60 \cdot 10^{-31}$
Siringaldeído	1	$2,90 \cdot 10^{12}$	$2,90 \cdot 10^{12}$	28	$2,00 \cdot 10^{10}$	$7,30 \cdot 10^8$	3993,86	4,19	$9,40 \cdot 10^{-32}$
Ácido <i>p</i> -cumárico	1	$1,20 \cdot 10^{13}$	$1,20 \cdot 10^{13}$	28	$8,40 \cdot 10^{10}$	$3,00 \cdot 10^9$	3997,06	4,19	$9,30 \cdot 10^{-32}$
Cumarina	1	$7,20 \cdot 10^{11}$	$7,20 \cdot 10^{11}$	27	$5,30 \cdot 10^9$	$2,00 \cdot 10^8$	3671,80	4,21	$2,20 \cdot 10^{-30}$
Rutina	1	$1,40 \cdot 10^{11}$	$1,40 \cdot 10^{11}$	27	$1,10 \cdot 10^9$	$3,90 \cdot 10^7$	3678,88	4,21	$2,10 \cdot 10^{-30}$
Miricetina	1	$1,60 \cdot 10^{11}$	$1,60 \cdot 10^{11}$	26	$3,10 \cdot 10^9$	$1,20 \cdot 10^8$	1350,40	4,22	$6,10 \cdot 10^{-24}$
Quercetina	1	$3,30 \cdot 10^{11}$	$3,30 \cdot 10^{11}$	25	$2,00 \cdot 10^9$	$8,10 \cdot 10^7$	4124,65	4,24	$2,80 \cdot 10^{-29}$

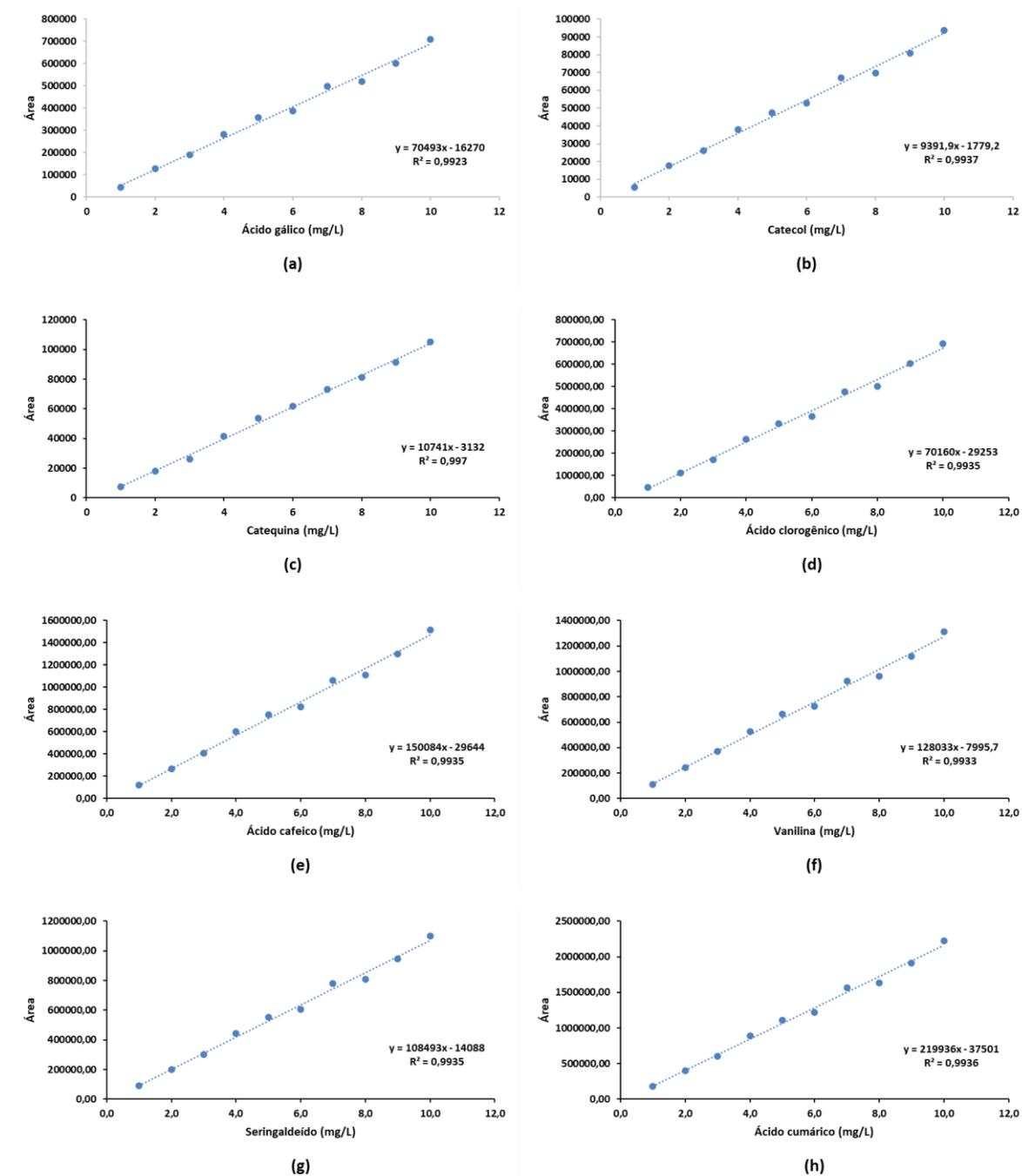
Fonte: O Autor (2023).

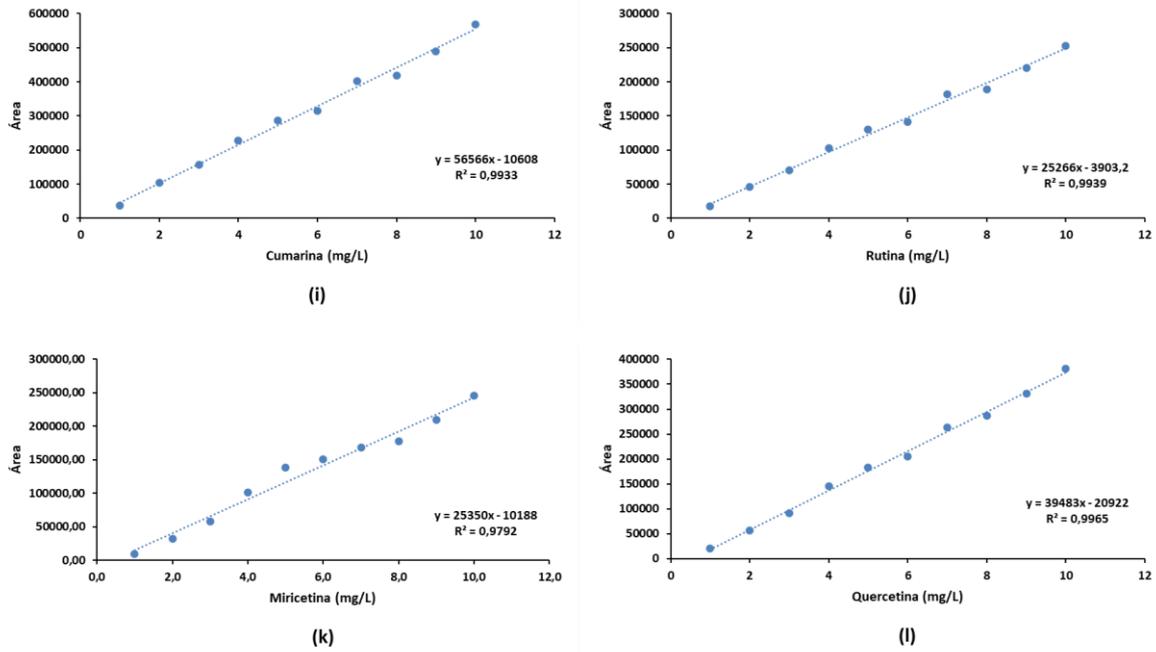
GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; MQ: quadrado médio; F: F calculado; F_c : F crítico.

A Figura 13 mostra as curvas de calibração obtidas para os compostos fenólicos em estudo, bem como os seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) e suas respectivas equações. Observa-se que todos os compostos apresentaram perfil linear na faixa de

concentração estipulada (1 a 10 mg/L) com elevados coeficientes de determinação. Para cada curva de calibração foi obtida a sensibilidade analítica, a qual é expressa pela inclinação da curva analítica (coeficiente angular da equação da reta).

Figura 13 – Curvas de calibração.





Fonte: O Autor (2023).

4.2.3 Precisão

A precisão por repetibilidade foi confirmada a partir dos dados mostrados nas Tabelas 6 e 7. Observa-se que 66,67% dos resultados apresentaram $CV < 1,0\%$, enquanto apenas a curva da catequina a 10 ppm obteve $CV > 5,0$. O método pode ser considerado preciso em termos de repetibilidade porque nenhum valor de coeficiente de variação excedeu ao limite de 7,3% estipulado pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2012).

Tabela 6 – Teste de repetibilidade para solução mix de concentração teórica de 10 ppm.

Compostos	Área			Média	DP	CV (%)
	A1	A2	A3			
Ácido gálico	716857	706988	710513	711453	5001	0,70
Catecol	95051	94394	94394	94613	380	0,40
Catequina	114375	104600	103204	107393	6086	5,67
Ácido clorogênico	722161	686379	692693	700411	19098	2,73
Ácido cafeico	1517722	1510218	1514720	1514220	3777	0,25
Vanilina	1300502	1305623	1312025	1306050	5773	0,44
Siringaldeído	1101220	1099050	1099050	1099773	1253	0,11
Ácido <i>p</i> -cumárico	2223441	2223441	2225640	2224174	1270	0,06
Cumarina	569759	569194	569194	569382	327	0,06
Rutina	252549	256339	257349	255412	2531	0,99
Miricetina	241284	248129	253452	247622	6100	2,46
Quercetina	376672	387332	394439	386148	8943	2,32

Fonte: O Autor (2023).

A1: área 1; A2: área 2; A3: área 3; DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação.

Tabela 7 – Teste de repetibilidade para solução mix de concentração teórica de 5 ppm.

Compostos	Área			Média	DP	CV (%)
	A1	A2	A3			
Ácido gálico	355228	354523	357343	355698	1467	0,41
Catecol	46777	47434	46683	46965	409	0,87
Catequina	53903	51540	49606	51683	2152	4,16
Ácido clorogênico	326458	330668	336982	331369	5297	1,60
Ácido cafeico	750793	750793	756796	752794	3466	0,46
Vanilina	656496	661617	669299	662470	6444	0,97
Siringaldeído	553330	553330	552245	552969	626	0,11
Ácido <i>p</i> -cumárico	1108366	1110565	1108366	1109099	1270	0,11
Cumarina	284667	288060	288060	286929	1960	0,68
Rutina	128240	126471	127482	127398	887	0,70
Miricetina	140138	129744	129491	133124	6075	4,56
Quercetina	178467	185574	185574	183205	4103	2,24

Fonte: O autor (2023).

A1: área 1; A2: área 2; A3: área 3; DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação.

4.2.4 Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram determinados a partir de três réplicas da área de cada composto fenólico no branco, sendo apresentados na Tabela 8. Observa-se em todos os casos que o limite de quantificação foi inferior ao menor nível de concentração utilizado nas curvas de calibração.

Tabela 8 – Limites de detecção e quantificação obtidos para as curvas de calibração dos compostos fenólicos.

Composto	Área do branco				IC	LD	LQ
	A1	A2	A3	DP			
Ácido gálico	70	298	154	115,3	70493	0,005	0,016
Catecol	28	429	139	207,0	9391	0,073	0,220
Catequina	60	197	337	138,5	10741	0,042	0,129
Ácido clorogênico	984	209	285	427,2	70160	0,020	0,061
Ácido cafeico	234	121	105	70,3	150084	0,002	0,005
Vanilina	773	200	259	315,2	128033	0,008	0,025
Seringaldeído	451	391	194	134,5	108493	0,004	0,012
Ácido <i>p</i> -cumárico	10	15	26	8,18	219936	0,0001	0,0004
Cumarina	304	218	258	43,0	56566	0,0025	0,008
Rutina	267	348	352	47,9	25266	0,006	0,019
Miricetina	404	285	250	80,7	25350	0,010	0,032
Quercetina	497	389	242	127,9	39483	0,011	0,032

Fonte: O autor (2023).

A1: área 1; A2: área 2; A3: área 3; DP: desvio padrão; IC: inclinação da curva de calibração; LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação.

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL: AVALIAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Verifica-se na Tabela 9 as respostas das variáveis dependentes do planejamento fatorial 2³: cor, fenóis totais e polifenóis. Foram identificados seis polifenóis a partir do cromatograma dos padrões analíticos (Figura 10): catequina (CAT), ácido clorogênico (ACL), ácido cafeico (ACF), seringaldeído (SIR), ácido *p*-cumárico (ACU) e cumarina (CUM).

Observa-se na Tabela 9 que o ensaio 4 (variedade RB92579, colheita mecanizada e 10% de impureza vegetal) apresentou maior intensidade de cor (27365 UI) e fenóis totais (6309 ppm/°Brix). O ensaio 7 (variedade VAT90-212, colheita manual e 10% de impureza vegetal) teve os menores índices de cor (15277 UI) e fenóis totais (2930 ppm/°Brix). A diferença entre a maior e menor coloração dos respectivos ensaios foi de quase 80%, valor inferior aos 318% encontrado por Barker e Davis (2005), os quais avaliaram a cor de mais de trinta genótipos de cana-de-açúcar. Esta variação percentual possivelmente é devido a diversas variedades de cana-de-açúcar serem processados ao mesmo tempo nas unidades industriais, ou seja, sem controle pode ocasionar variações significativas na cor do caldo, o que provoca controle de qualidade do produto final ineficiente.

Tabela 9 – Respostas das variáveis dependentes do Planejamento Fatorial 2³.

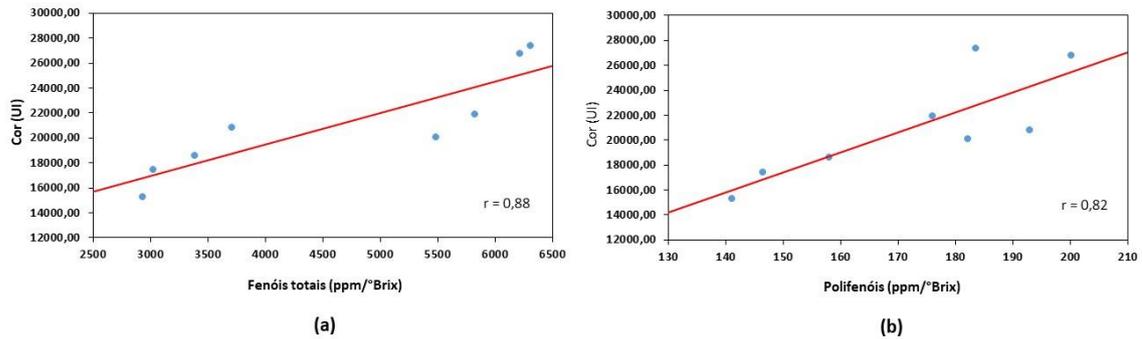
Ensaio	Cor (UI)	Fenóis Totais (ppm/°brix)	Polifenóis (ppm/°Brix)						Total
			CAT	ACL	ACF	SIR	ACU	CUM	
1	20827 ± 373 ^c	3713 ± 353 ^c	44,2 ± 1,2 ^c	25,6 ± 0,2 ^f	34,5 ± 1,3 ^b	23,3 ± 2,5 ^b	19,1 ± 0,8 ^c	46,0 ± 1,7 ^a	192,9 ± 2,3 ^{ab}
2	26759 ± 77 ^a	6215 ± 608 ^a	57,5 ± 11,2 ^a	27,5 ± 6,2 ^{cd}	41,2 ± 6,2 ^a	34,6 ± 2,1 ^a	14,8 ± 4,1 ^{ef}	24,4 ± 1,0 ^c	200,2 ± 5,2 ^a
3	18589 ± 168 ^e	3389 ± 51 ^{cd}	33,0 ± 1,2 ^d	26,7 ± 0,2 ^{def}	33,6 ± 1,1 ^b	18,8 ± 0,6 ^c	17,6 ± 1,0 ^{cd}	28,3 ± 3,5 ^b	158,0 ± 7,4 ^d
4	27365 ± 165 ^a	6309 ± 48 ^a	51,9 ± 5,2 ^b	27,3 ± 0,2 ^{cd}	35,3 ± 0,5 ^b	31,8 ± 0,6 ^a	16,1 ± 0,2 ^{de}	20,9 ± 1,0 ^{de}	183,5 ± 5,5 ^{bc}
5	17445 ± 471 ^f	3022 ± 98 ^d	34,7 ± 2,1 ^d	27,6 ± 0,5 ^{cd}	22,5 ± 0,8 ^d	22,6 ± 0,1 ^b	19,5 ± 1,9 ^c	19,4 ± 1,4 ^e	146,4 ± 5,2 ^e
6	20065 ± 301 ^d	5489 ± 318 ^b	33,9 ± 1,2 ^d	31,8 ± 1,7 ^b	26,7 ± 0,2 ^c	33,9 ± 0,3 ^a	31,9 ± 1,7 ^a	23,8 ± 2,2 ^{cd}	182,1 ± 4,0 ^{bc}
7	15277 ± 361 ^g	2931 ± 121 ^d	34,1 ± 2,0 ^d	28,9 ± 0,6 ^c	21,6 ± 1,5 ^d	25,1 ± 0,6 ^b	13,3 ± 1,4 ^f	18,1 ± 1,7 ^e	141,1 ± 7,4 ^e
8	21907 ± 480 ^b	5823 ± 159 ^{ab}	33,4 ± 9,3 ^d	35,0 ± 4,1 ^a	26,1 ± 5,3 ^c	33,1 ± 1,8 ^a	27,4 ± 6,4 ^b	20,9 ± 0,9 ^{de}	176,0 ± 1,7 ^c

Fonte: O Autor (2023).

Valores com letras sobrescritas iguais na vertical não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Duncan. CAT: catequina; ACL: ácido clorogênico; ACF: ácido cafeico; SIR: seringaldeído; ACU: ácido *p*-cumárico; CUM: cumarina.

A correlação entre a formação de cor e concentração de fenóis totais foi $r = 0,88$ (Figura 14a), positiva e significativa ($p < 0,05$), ou seja, demonstra existir uma relevância importante dos compostos fenólicos como precursores de cor no caldo de cana-de-açúcar. Tomando como base os índices maior e menor de cor e fenóis (Tabela 9), estes tiveram o mesmo comportamento, ou seja, o ensaio 4 apresentou os maiores valores para ambos e o ensaio 7 os menores, comprovando assim a boa correlação entre a cor e os fenóis. Resultado similar de correlação entre cor e conteúdo de fenólicos ($r = 0,87$) foi obtido por Bucheli e Robinson (1994), o qual avaliaram o caldo de nove variedades de cana-de-açúcar da Austrália (81C236, Q87, H56-752, 81C337, 81C497, Q96, 81C542, 81C558 e 81C509). Simioni et al. (2006) demonstraram que em seis variedades de cana-de-açúcar (RB855536, RB845210, RB835054, RB53754, RB85113 e SP80-1816) houve um aumento significativo dos compostos fenólicos com a idade da planta, principalmente no intervalo de treze a quinze meses, observando-se uma diferença significativa do conteúdo fenólico entre as variedades.

Figura 14 - Correlação entre a cor e (a) fenóis totais (b) polifenóis.



Fonte: O Autor (2023).

Da mesma forma que os fenóis totais, o conteúdo total de polifenóis apresentou correlação positiva e significativa ($p < 0,05$) com a cor ($r = 0,82$) (Figura 14b). Este fato pode ser observado na Tabela 9, em relação à variedade de cana, RB92579 (ensaios 2, 4, 6 e 8) foi superior em 16% e 25% (polifenóis e cor, respectivamente) em relação à VAT90-212 (ensaios 1, 3, 5 e 7). O mesmo comportamento teve em relação ao tipo de colheita, na qual a colheita mecanizada (ensaios 1, 2, 3 e 4) teve 13% e 20% (polifenóis e cor, respectivamente) de superioridade para manual (ensaios 5, 6, 7 e 8).

Tabela 10 – Análise de variância do planejamento fatorial 2³.

Variáveis	Cor (UI)		Fenois totais (ppm/°brix)		Polifenóis (ppm/brix)											
					CAT		ACL		ACF		SIR		ACU		CUM	
	QM	p	QM	p	QM	p	QM	p	QM	P	QM	p	QM	p	QM	p
(1) Variedade da cana de açúcar (L)	215247965	0,00	43585286	0,00	357,2	0,00	61,2	0,00	109,2	0,00	716,5	0,00	161,8	0,00	177,6	0,00
(2) Impureza vegetal (L)	1435475	0,01	58	0,98	119,2	0,01	10,4	0,00	25,8	0,00	12,4	0,05	44,1	0,00	243,3	0,00
(3) Tipo de colheita (L)	133191056	0,00	2091759	0,00	956,1	0,00	98,8	0,00	853,5	0,00	14,4	0,04	225,2	0,00	527,9	0,00
1x2	17613798	0,00	265998	0,15	12,7	0,28	0,1	0,68	8,1	0,02	0,8	0,58	7,8	0,04	58,66	0,00
1x3	11170000	0,00	1390	0,91	424,7	0,00	22,0	0,00	0,05	0,84	9,5	0,08	390,0	0,00	491,1	0,00
2x3	639008	0,06	83857	0,41	92,4	0,01	4,8	0,03	11,2	0,01	30,6	0,01	42,1	0,00	108,3	0,00
Falta de ajuste	509331	0,09	19	0,99	11,3	0,30	3,7	0,04	10,2	0,01	9,0	0,09	0,4	0,59	94,1	0,00
Erro puro	163649		121882		10,2		0,82		1,2		2,8		1,6		3,5	
R ²	0,992		0,959		0,918		0,921		0,927		0,934		0,971		0,914	

Fonte: O Autor (2023).

CAT: catequina; ACL: ácido clorogênico; ACF: ácido cafeico; SIR: seringaldeído; ACU: ácido *p*-cumárico; CUM: cumarina.

Tabela 11 – Efeitos das variáveis independentes.

Variáveis	Cor (UI)		Fenois totais (ppm/brix)		Polifenóis (ppm/brix)											
					CAT		ACL		ACF		SIR		ACU		CUM	
	Efeito	p	Efeito	p	Efeito	p	Efeito	p	Efeito	P	Efeito	P	Efeito	p	Efeito	p
Média	21029	0,00	4611	0,00	40,3	0,00	28,8	0,00	30,2	0,00	27,9	0,00	19,9	0,00	25,2	0,00
(1) Variedade da cana de açúcar (L)	5989	0,00	2695	0,00	7,7	0,00	3,1	0,00	4,2	0,00	10,9	0,00	5,1	0,00	-5,4	0,00
(2) Impureza vegetal (L)	-489	0,01	3,1	0,98	-4,4	0,00	1,3	0,00	-2,1	0,00	-1,4	0,06	-2,7	0,00	-6,3	0,00
(3) Tipo de colheita (L)	-4711	0,00	-590	0,00	-12,6	0,00	4,1	0,00	-11,9	0,00	1,5	0,04	6,1	0,00	-9,3	0,00
1x2	1713	0,00	210	0,15	1,45	0,28	0,1	0,68	-1,1	0,02	-0,4	0,58	1,1	0,04	3,1	0,00
1x3	-1364	0,00	-15,2	0,91	-8,41	0,00	1,9	0,00	0,1	0,84	-1,2	0,08	8,0	0,00	9,0	0,00
2x3	326	0,06	118,2	0,41	3,92	0,01	0,9	0,02	1,3	0,01	2,2	0,00	-2,6	0,00	4,2	0,00

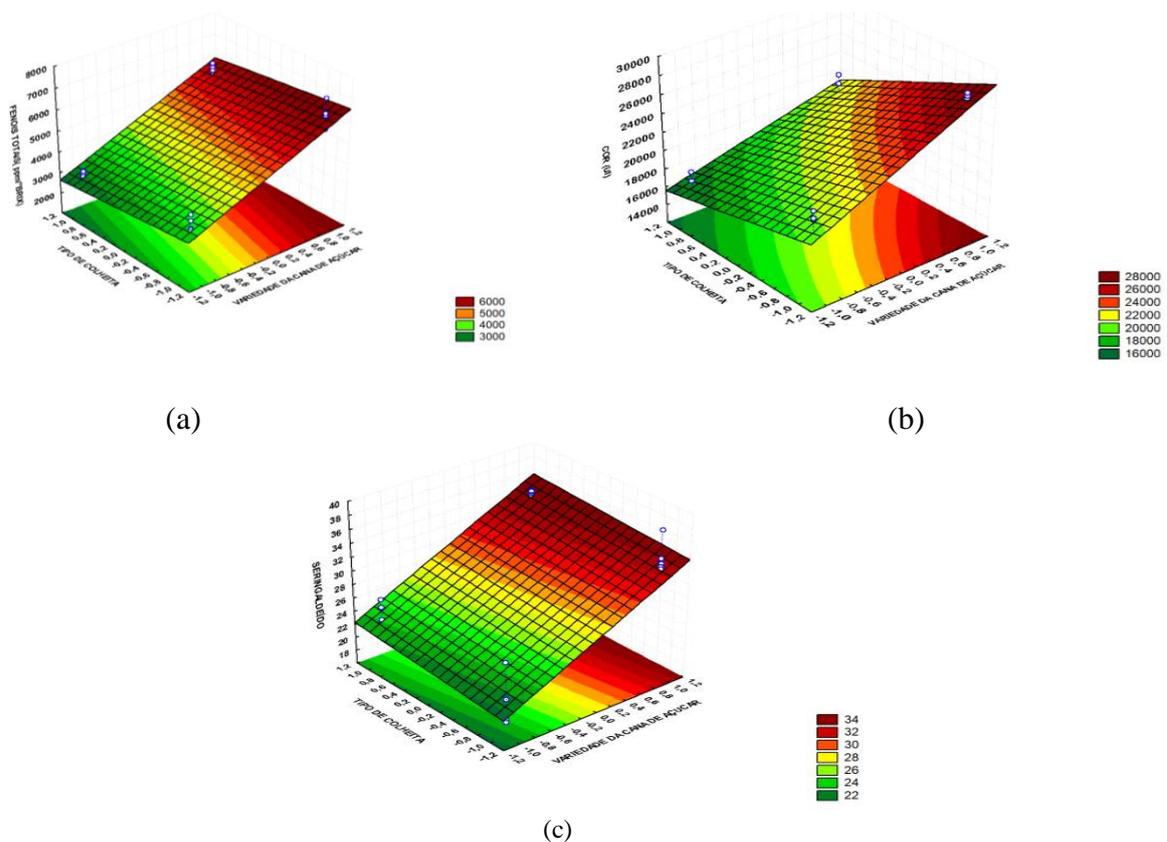
Fonte: O autor (2023).

CAT: catequina; ACL: ácido clorogênico; ACF: ácido cafeico; SIR: seringaldeído; ACU: ácido *p*-cumárico; CUM: cumarina.

O fator variedade da cana teve maior influência significativa ($p < 0,05$) tanto sobre a cor como nos fenóis totais (Tabela 11). Na Figura 15a e b verifica-se que o caldo oriundo do genótipo RB92579 possui elevada coloração e maior índice de fenóis totais, respectivamente. Em seguida, a variável que teve maior influência ($p < 0,05$) foi o tipo de colheita (Tabela 11), tanto para a cor como para os fenóis totais. A colheita mecanizada promove elevação de cor em torno de 25% em relação à colheita manual (Figura 15b). Por outro lado, o conteúdo de impureza vegetal, dentro da faixa estudada, teve pouca influência nestes parâmetros (cor e fenóis totais) (Tabela 11), o que pode ser explicado pela não diferença significativa ($p > 0,05$) entre os ensaios 2 (variedade RB92579, colheita mecanizada e 5% de impureza vegetal) e 4 (variedade RB92579, colheita mecanizada e 10% de impureza vegetal) (Tabela 9), os quais só diferem pelo percentual de impureza vegetal.

Ao analisar a Figura 15, constata-se que SIR teve o mesmo comportamento da cor e dos fenóis, maior influência da variedade de cana vindo em seguida o tipo de colheita, diferindo apenas neste último em que os maiores índices de SIR foram alcançados com colheita manual (Figura 15c).

Figura 15 - Superfícies de respostas para (a) fenóis totais (b) cor e (c) seringaldeido: variedade de cana-de-açúcar x tipo de colheita.



Fonte: O Autor (2023).

CAT foi o único dos compostos fenólicos que apresentou concentrações acima de 50 ppm/°Brix, nos ensaios 2 (variedade RB92579, colheita mecanizada e 5% de impureza vegetal) e 4 (variedade RB92579, colheita mecanizada e 10% de impureza vegetal), coincidindo com os maiores índices de cor e fenóis totais (Tabela 9).

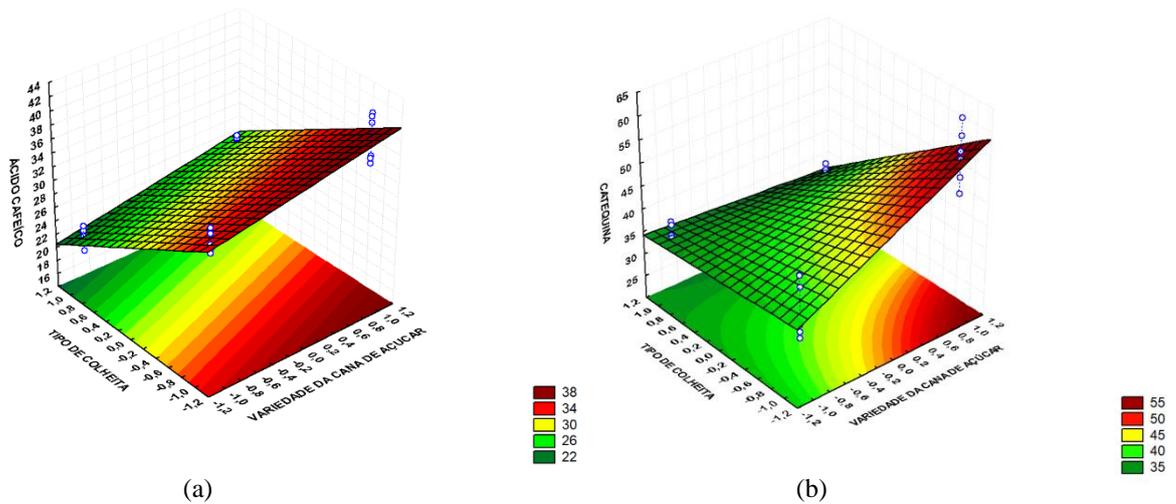
Observa-se que a cor, fenóis totais e os polifenóis CAT, SIR e ACU tiveram um bom ajuste dos dados ao modelo proposto, ou seja, a falta de ajuste não significativa ($p > 0,05$) (Tabela 10).

Na Tabela 11 constata-se que CAT e ACF tiveram comportamentos semelhantes, nos quais a variável que teve maior influência em ambos foi o tipo de colheita (mecanizada) seguida pela variedade da cana-de-açúcar (RB92579) (Figura 16a e b). Na Figura 16b percebe-se que a concentração de CAT teve pouca variação na colheita manual, independente da variedade de cana, o que pode ser confirmado nos ensaios 5, 6, 7 e 8 (Tabela 9) não possuírem diferença significativa ($p > 0,05$). Entretanto, na colheita mecanizada houve um aumento de 41,7% de CAT quando ocorre a passagem da variedade VAT-90212 para RB92579 (Figura 16b).

Quanto ao ACF, Tabela 9, ao obter as médias dos ensaios ímpares (1, 3, 5 e 7), variedade VAT90-212, e os ensaios pares (2, 4, 6 e 8), variedade RB92579, independentemente do tipo de colheita, têm-se 28,06 e 32,33 ppm/°Brix respectivamente, o que reforça a influência da variedade de cana, ou seja, com o genótipo RB92579 se tem maiores índices de ACF.

Nos quatro primeiros ensaios (Tabela 9), com cana mecanizada, os valores da CAT e ACF são bem maiores (exceto o ensaio 3 para CAT) do que os últimos quatro ensaios com cana manual, ou seja, a queima da cana-de-açúcar provoca a redução destes polifenóis. Como a mecanização canavieira está cada vez mais presente nos sistemas de produção do Brasil (BACCARIN *et al.*, 2020), CAT e ACF configuram como importantes compostos fenólicos na composição da cana-de-açúcar. O ACF já tinha sido relatado com destaque por Duarte-Almeida *et al.* (2006) e Fonseca *et al.* (2017) como um dos principais polifenóis identificados no caldo de cana-de-açúcar.

Figura 16 – Superfície de resposta para (a) ácido cafeico e (b) catequina: tipo de colheita x variedade de cana.



Fonte: O Autor (2023).

Diferente de CAT e ACF, observa-se que ACL e ACU foram mais acentuados no caldo de cana oriundo de colheita manual (Tabela 9), a qual necessita da queima da cana antes do corte. A colheita manual (ensaios 5, 6, 7 e 8) teve um aumento de aproximadamente 15% e 36% para ACL e ACU, respectivamente, em relação à colheita mecanizada (ensaios 1, 2, 3 e 4) (Figuras 17a e b). Em ambos os casos foi constatado que a variedade RB92579 possui os maiores índices para estes ácidos.

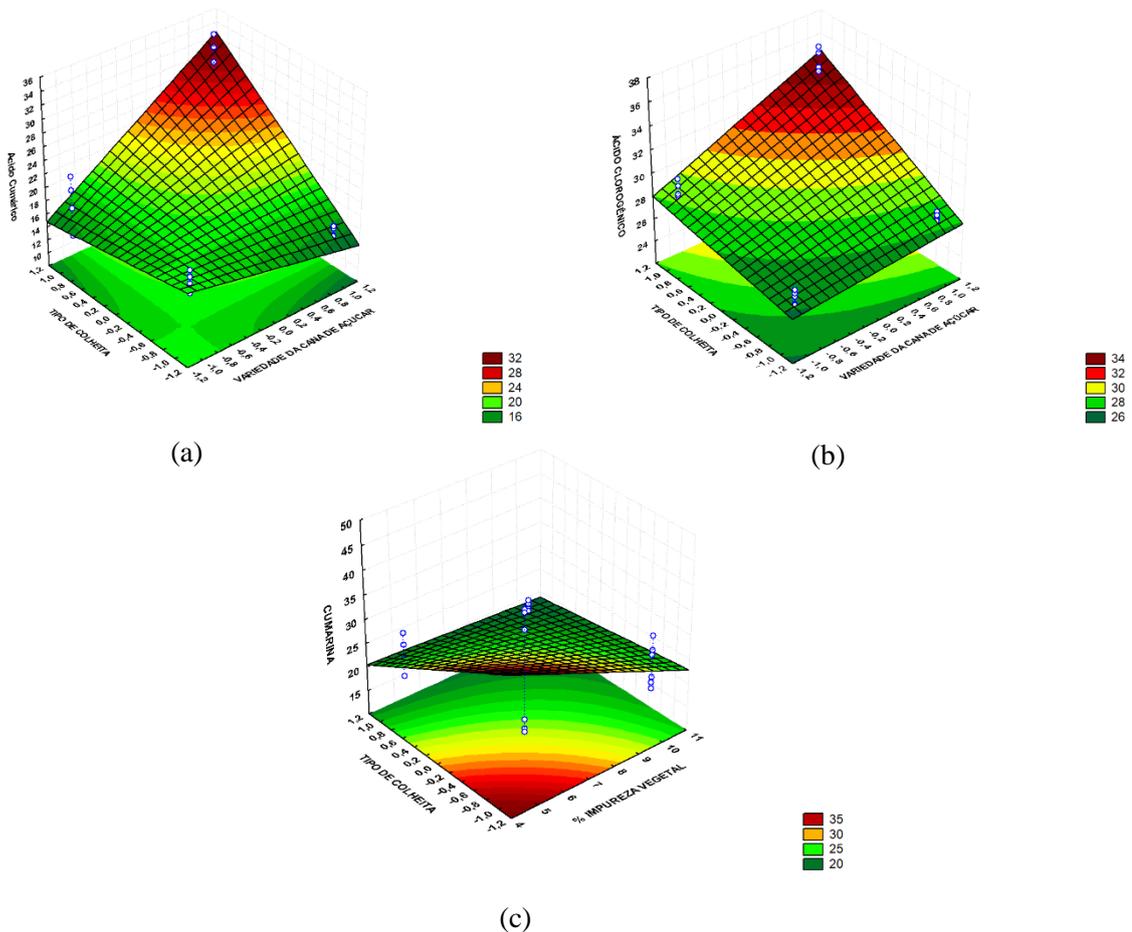
Ainda com relação ao ACL, verifica-se na Figura 17b que a colheita manual apresentou aumento deste ácido em relação à colheita mecanizada de 8,1% e 21,7% para as variedades VAT90212 e RB92579, respectivamente.

Duarte Almeida *et al.* (2011) encontraram elevados índices de ACL para três variedades de cana-de-açúcar (RB855486, SP813250 e SP801842), resultados estes similares ao da presente pesquisa com relação à variedade RB92579. Entretanto, Kong *et al.* (2015) encontraram na variedade chinesa 54-474 conteúdo não expressivo de ACL.

Quanto ao ACU, este teve maior influência da interação entre variedade de cana e tipo de colheita como pode ser observado na Tabela 11 e Figura 17a, apresentando maiores índices para RB92579 com colheita manual. Verifica-se que o teor de ACU na variedade VAT90-212 praticamente não teve variação, independentemente do tipo de colheita, comportamento oposto para a variedade RB92579, que teve elevação significativa ($p < 0,05$) ao passar da colheita mecanizada para manual, o que pode ser percebido na Tabela 9 ao somarmos os ensaios 2 e 4, ambos colheita mecanizada (30,95 ppm/°Brix) contra os ensaios 6 e 8 de colheita manual (59,34 ppm/°Brix). A superioridade do teor de ACU em cana queimada

frente a cana crua também foi evidenciada por Nguyen e Doherty (2011), os quais não identificaram a variedade de cana estudada.

Figura 17 – Superfícies de respostas para (a) ácido *p*-cumárico e (b) ácido clorogênico: tipo de colheita x variedade da cana e (c) cumarina: tipo de colheita x % impureza vegetal.

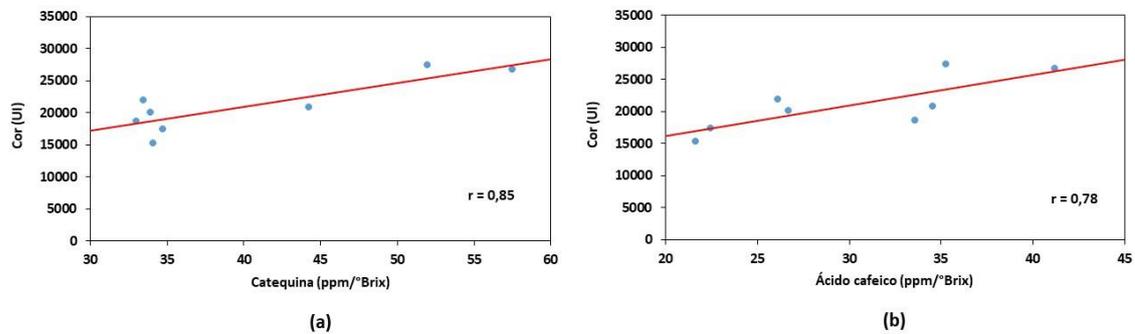


Fonte: O Autor (2023).

Ao analisar os efeitos na Tabela 11 constata-se que a impureza vegetal pouca influência teve na cor, fenóis totais e polifenóis (exceto CUM). Este fato pode ser observado na Figura 17c, na qual a redução do teor de impureza vegetal favoreceu o aumento da CUM. Esta teve influência maior do tipo de colheita (mecanizada), mostrando a cana crua favorece a presença deste polifenol. CUM foi o único composto fenólico que obteve suas maiores concentrações no genótipo VAT90-212, principalmente através de colheita mecanizada (Tabela 9).

Quanto a relação entre a cor e os polifenóis, este estudo obteve boas correlações para CAT ($r = 0,85$) e ACF ($r = 0,78$) (Figura 18a e b), demonstrando que quanto maior o índice desses polifenóis maior será a cor do caldo da cana-de-açúcar. Paton (1992) afirmou que a coloração do caldo está diretamente relacionada com a concentração de ACL, ressaltando que foram 18 variedades de cana, todas diferentes das variedades pesquisadas e pH do caldo igual a 9, resultados estes opostos a esta pesquisa onde a correlação do ACL com a cor foi $r = 0$. Provavelmente esse resultado foi devido as variedades de cana utilizadas e pH, este foi de 7 na presente pesquisa, o recomendado pela ICUMSA.

Figura 18 - Correlação entre a cor e os polifenóis (a) catequina (b) ácido cafeico.



Fonte: O Autor (2023).

4.4 ETAPAS DE PROCESSAMENTO DO AÇÚCAR VHP

Para representar de forma transparente e objetiva o comportamento da cor e os compostos fenólicos, foram escolhidos seis produtos do processo de fabricação de açúcar VHP para acompanhamento. Foram eles: caldo cru, caldo misto, caldo caleado, caldo clarificado, xarope e massa cozida. Em todas as amostras foram obtidos o °Brix, a cor ICUMSA, os fenóis totais (Folin-Ciocalteu) e os polifenóis (CLAE).

4.4.1 °Brix e Cor ICUMSA

A Tabela 12 apresenta os resultados referente ao °Brix, e cor ICUMSA para as etapas de fabricação de açúcar VHP nas usinas A (UA) e B (UB). Tais dados foram obtidos a partir da média em três repetições de diferentes datas de coleta de amostras.

Para efeito de comparação, as usinas participantes desta pesquisa utilizam basicamente o mesmo tipo de tratamento de caldo: peneiramento através de peneira rotativa; dosagem de

leite de cal ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) para ajuste de pH (caleação); aquecimento do caldo em torno de 105 °C em trocadores de calor casco-tubo; dosagem de polímero de alto peso molecular para auxiliar a decantação.

O caldo cru representa a matéria-prima *in natura* do processo, a qual foi obtida a partir de amostras individuais de cana-de-açúcar, coletadas antes de seu processamento (sonda de amostragem). Dentre os produtos analisados, o caldo cru apresentou os menores índices de cor (Tabela 12). Segundo Azevedo *et al.* (2019) este fato pode ser explicado devido a individualização das amostras, as quais dependem de fatores relacionados com as características da cana-de-açúcar, tais como: genótipo, condições climáticas, maturação e tipo de colheita.

Nas duas usinas avaliadas observa-se que a cor do caldo misto (caldo extraído da cana-de-açúcar através de moendas) foi superior ao caldo cru ($p < 0,05$) (Tabela 12), isso devido a extração do caldo ocorrer com utilização simultânea de diversas variedades de cana-de-açúcar. Entretanto, nas duas situações houve decaimento significativo ($p < 0,05$) do teor de sólidos solúveis (°Brix), que segundo com Lopes (2011), é provocado pelo processo de embebição realizado nas moendas.

Tabela 12 – °Brix e cor para as etapas de fabricação do açúcar VHP de UA e UB.

Etapas	°Brix		Cor (UI)	
	UA	UB	UA	UB
Caldo cru	20,7 ± 1,3 ^b	21,4 ± 1,1 ^c	20978 ± 1728 ^c	19692 ± 1448 ^c
Caldo misto	14,0 ± 0,4 ^c	13,4 ± 0,2 ^d	26433 ± 2118 ^a	28233 ± 1189 ^{ab}
Caldo caleado	13,7 ± 0,1 ^c	13,5 ± 0,3 ^d	26578 ± 3422 ^a	26773 ± 2444 ^b
Caldo clarificado	14,7 ± 0,3 ^c	14,5 ± 0,4 ^d	24140 ± 2296 ^b	18834 ± 1075 ^c
Xarope	61,4 ± 3,2 ^a	53,7 ± 1,7 ^b	23641 ± 1318 ^b	20855 ± 1458 ^c
Massa cozida	93,5 ± 0,4 ^a	94,0 ± 0,3 ^a	26660 ± 956 ^a	30624 ± 1489 ^a

Fonte: O Autor (2023).

Valores com letras sobrescritas iguais na vertical não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Duncan. UA: usina A; UB: usina B.

O escurecimento do caldo misto ocorre devido a oxidação enzimática de compostos fenólicos por ação das enzimas polifenoloxidase (PPO) resultando na formação de quinonas e, em seguida, após condensação, polímeros de elevada coloração (LI, 2008). Esta reação ocorre a partir do rompimento dos tecidos vegetais da cana-de-açúcar nas moendas e é catalisada pela presença de metais como o ferro.

Na Tabela 12 observa-se para UA e UB que o caldo caleado (caldo obtido após adição de cal) promove variação insignificante ($p > 0,05$) na cor e °Brix em relação ao caldo misto. O principal parâmetro a ser controlado nesse caldo é o pH, o qual não deve ultrapassar 8,0 para evitar a formação de cor pela reação de Maillard e não ser inferior a 6,0 para evitar inversão da sacarose (BENTO, 2009).

O caldo clarificado, livre de impurezas, apresentou médias de cor de 24140 e 18834 UI para UA e UB, respectivamente (Tabela 12). Estes valores foram superiores aos encontrados por Barbosa *et al.* (2008), os quais avaliaram a cor do caldo clarificado a partir de 43 genótipos de cana-de-açúcar no processamento de açúcar cristal, apresentando valores entre 2000 e 15000 UI. Salientando que o presente trabalho avaliou apenas o processo de fabricação do açúcar VHP, o qual requer um tratamento mais brando comparado ao açúcar cristal. Barbosa *et al.* (2008) também destacam que as variedades RB855113 e RB99386 apresentaram caldo com baixa coloração (menor que 4000 UI), enquanto a RB92579 obteve média de 11363 UI, 33% superior à média geral, ficando no grupo de genótipos que apresentaram maiores intensidades de cor.

A Tabela 12 mostra que a descoloração promovida pela clarificação do caldo (diferença entre a cor dos caldos caleado e clarificado) em UB foi de 29,6%, muito superior aos 9,2% obtidos em UA. Este parâmetro é muito importante para o controle de qualidade porque a cor do açúcar produzido tem influência direta com cor do caldo clarificado.

O aumento ou diminuição do percentual de descoloração do caldo clarificado é influenciado por alguns fatores, dentre eles a qualidade da matéria-prima e a operação do tratamento de caldo. UA utiliza colheita mecanizada e como visto no subitem anterior, o tipo de colheita e variedade de cana-de-açúcar possuem influência significativa na elevação de cor, ou seja, quanto maior a inserção da variedade RB92579 crua (colheita mecanizada) ao processamento, maior será a cor do caldo da cana-de-açúcar *in natura*, e conseqüentemente, maior será a cor do caldo clarificado.

Outro detalhe que pode influenciar na clarificação do caldo é a deficiência de alguma etapa no tratamento ou operação de equipamentos, como por exemplo, o decantador (ou clarificador). Em UA é utilizado o clarificador rápido tipo SRI (Sugar Research Institute), o qual trabalha com um sistema de controle totalmente automatizado e possui tempo de residência de aproximadamente 40 min. Este tipo de clarificador é muito sensível a qualquer variação do processo, como por exemplo, temperatura e pH. Na maioria das usinas do estado de Alagoas, como no caso de UB, utiliza-se clarificadores de bandejas, os quais possuem

tempo de residência superior ao SRI, em torno de 3 horas. Bourzutschky (2005) afirma que a estabilidade na temperatura e pH, menor tempo de residência nos clarificadores e adição correta de produtos químicos são fatores que favorecem a não formação de cor durante a clarificação do caldo.

O xarope (produto obtido da operação de evaporação do caldo clarificado) apresentou, em ambas as usinas, elevado índice de sólidos solúveis totais (°Brix) por conta da eliminação de grande parte da água contida no caldo (Tabela 12). O °Brix do xarope de UA foi superior ao de UB, tal diferença pode ser justificada por alguma falha operacional em UB, como por exemplo: pressão de vapor baixa, alta vazão de caldo ou vazamento em algum evaporador. De acordo com Mersad *et al.* (2003), um fator que pode elevar a cor do xarope na operação de evaporação seria em caso de caramelização (processo de degradação térmica da sacarose) do caldo, ainda no 1° efeito, devido a elevadas temperaturas (acima de 180°C). Shah (2014) cita alguns fatores importantes para minimizar a formação de cor durante a evaporação, são eles: temperatura, circulação do caldo, tempo de residência e níveis de concentração. Campiol *et al.* (2019) conseguiu reduzir a cor do xarope de açúcar VHP em 82% utilizando solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (35%, v/v) em condições pH 7,5 e temperatura 50°C.

A cristalização é a etapa onde ocorre a formação e crescimento dos cristais de sacarose e seu produto é chamado de massa cozida. Constata-se que a massa cozida possui concentração elevada de sólidos e alta intensidade de cor (Tabela 12). UB apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre o °Brix do xarope e massa cozida, ao passo que UA não. A maior elevação de cor da massa cozida (em relação ao xarope) foi obtida em UB, com 46,6% contra 12,7% de UA. Booyesen e Davis (2019) afirmam que a cristalização é o processo mais crítico para o controle de cor na fábrica de cana-de-açúcar, porque dependerá da qualidade do xarope a ser processado e de controle de parâmetros operacionais, como: circulação da massa, temperatura e tempo de residência.

4.4.2 Fenóis totais e conteúdo total de polifenóis

Na Tabela 13 observa-se que o teor de fenóis totais em UA não variou significativamente ($p > 0,05$) entre o caldo cru e caldo clarificado. Entretanto houve aumento significativo ($p < 0,05$) nos produtos de maior concentração de açúcar (xarope e massa cozida). Em UB a maior concentração de fenóis totais foi encontrada na massa cozida (5686 ppm/°Brix), proporcionando um crescimento de 113% em relação ao xarope. Não

considerando a relação com a concentração de sólidos ($^{\circ}$ Brix), o teor de fenóis totais do caldo cru e xarope em UA seriam 685 e 2446 mg/L, respectivamente, valores estes próximos aos 728 mg/L e 1988 mg/L encontrados por Eggleston (2018).

O conteúdo total de polifenóis foi crescente em praticamente todo processo produtivo, com destaque para a elevação de 33,1 e 25,6% do caldo caleado para o caldo clarificado em UA e UB, respectivamente (Tabela 13).

Registra-se em todas as etapas que a quantidade de fenóis totais foi maior que o total de polifenóis, variando de 5,2 a 13,6%, ficando evidente que existe uma quantidade significativa de compostos fenólicos nos produtos analisados (Tabela 13). Além disso, o método de Folin-Ciocalteu mede todos os compostos (fenólicos ou não) que oxidam em condições de teste, superestimando os resultados (PAYET *et al.*, 2006).

Tabela 13 – Fenóis totais e conteúdo total de polifenóis para as etapas de fabricação do açúcar VHP de UA e UB.

Etapas	Fenóis totais (ppm/ $^{\circ}$ Brix)		Polifenóis CLAE (ppm/ $^{\circ}$ Brix)	
	UA	UB	UA	UB
Caldo cru	3311 \pm 192 ^c	2999 \pm 141 ^{bc}	172,5 \pm 6,8 ^e	199,2 \pm 22,7 ^e
Caldo misto	3417 \pm 353 ^c	3193 \pm 174 ^b	238,4 \pm 20,6 ^d	266,0 \pm 16,0 ^d
Caldo caleado	3130 \pm 387 ^c	2793 \pm 118 ^{cd}	297,6 \pm 14,5 ^c	308,6 \pm 11,6 ^c
Caldo clarificado	3150 \pm 216 ^c	2841 \pm 103 ^{cd}	396,1 \pm 30,2 ^b	387,6 \pm 35,4 ^a
Xarope	3984 \pm 189 ^b	2664 \pm 458 ^d	406,3 \pm 20,7 ^b	327,6 \pm 24,7 ^{bc}
Massa cozida	4572 \pm 920 ^a	5686 \pm 434 ^a	438,2 \pm 109,0 ^a	351,9 \pm 44,6 ^{ab}

Fonte: O Autor (2023).

Valores com letras sobrescritas iguais na vertical não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Duncan.

UA: usina A; UB: usina B.

4.4.3 Quantificação dos compostos fenólicos e sua relação com a cor

Foram identificados oito polifenóis a partir do cromatograma dos padrões analíticos (Figura 10): catequina (CAT), ácido clorogênico (ACL), ácido cafeico (ACF), vanilina (VAN), seringaldeído (SIR), ácido *p*-cumárico (ACU), cumarina (CUM) e rutina (RUT). As Tabelas 14 e 15 apresentam as concentrações dos compostos fenólicos ao longo das etapas de fabricação de açúcar VHP. Os cromatogramas de cada produto analisado são mostrados no Apêndice B.

De acordo com as Tabelas 14 e 15, VAN e RUT não foram identificados nas etapas anteriores a clarificação do caldo (caldo cru, caldo misto e caldo caleado). Observa-se que a operação de evaporação provocou uma queda significativa ($p < 0,05$) no teor de RUT em ambas as usinas, seguida da etapa de cozimento com outro decaimento significativo ($p < 0,05$) para UA e elevação insignificante ($p > 0,05$) para UB, demonstrando comportamento avesso ao escurecimento da massa cozida (Figura 19). O decaimento de RUT ($p < 0,05$) após obtenção do xarope (UA e UB) pode ser atribuído, de acordo com Ravber *et al.* (2016), a decomposição hidrotérmica (temperatura acima de 120°C) provocada pelo estágio de evaporação.

Tabela 14 - Polifenóis identificados nas etapas de fabricação de açúcar VHP na usina A (UA).

Etapas	Polifenóis (ppm/°Brix)								
	CAT	ACL	ACF	VAN	SIR	ACU	CUM	RUT	Total
Caldo cru	50,6 ± 9,6 ^a	27,4 ± 1,7 ^d	29,2 ± 1,4 ^c	0,0 ± 0,0 ^c	28,4 ± 0,7 ^b	13,4 ± 0,4 ^c	23,6 ± 2,7 ^b	0,0 ± 0,0 ^d	172,5 ± 6,8 ^e
Caldo misto	54,0 ± 5,9 ^a	45,3 ± 2,0 ^c	36,3 ± 2,4 ^b	0,0 ± 0,0 ^c	34,9 ± 2,8 ^{ab}	31,2 ± 10,1 ^b	36,8 ± 2,6 ^b	0,0 ± 0,0 ^d	238,4 ± 20,6 ^d
Caldo caleado	55,0 ± 8,4 ^a	47,1 ± 6,0 ^c	40,4 ± 2,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	34,4 ± 4,5 ^{ab}	55,7 ± 9,3 ^a	65,0 ± 11,6 ^a	0,0 ± 0,0 ^d	297,6 ± 14,5 ^c
Caldo clarificado	40,8 ± 0,7 ^b	135,4 ± 40,4 ^b	18,1 ± 1,2 ^d	12,2 ± 1,3 ^a	39,1 ± 3,5 ^a	54,9 ± 4,6 ^a	63,2 ± 2,9 ^a	32,5 ± 7,6 ^a	396,1 ± 30,2 ^b
Xarope	33,2 ± 6,2 ^c	164,3 ± 27,9 ^b	21,2 ± 2,3 ^d	10,9 ± 0,5 ^b	29,2 ± 12,2 ^b	57,6 ± 4,3 ^a	61,5 ± 5,6 ^a	28,4 ± 3,6 ^b	406,3 ± 20,7 ^b
Massa cozida	28,9 ± 6,7 ^c	201,6 ± 72,0 ^a	16,7 ± 0,9 ^e	11,3 ± 1,7 ^{ab}	40,2 ± 9,0 ^a	54,5 ± 7,0 ^a	65,1 ± 13,1 ^a	20,0 ± 1,2 ^c	438,2 ± 109,0 ^a

Fonte: O Autor (2023).

Valores com letras sobrescritas iguais na vertical não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Duncan. CAT: catequina; ACL: ácido clorogênico; ACF: ácido cafeico; VAN: vanilina; SIR: seringaldeído; ACU: ácido *p*-cumárico; CUM: cumarina; RUT: rutina.

Tabela 15 - Polifenóis identificados nas etapas de fabricação de açúcar VHP na usina B (UB).

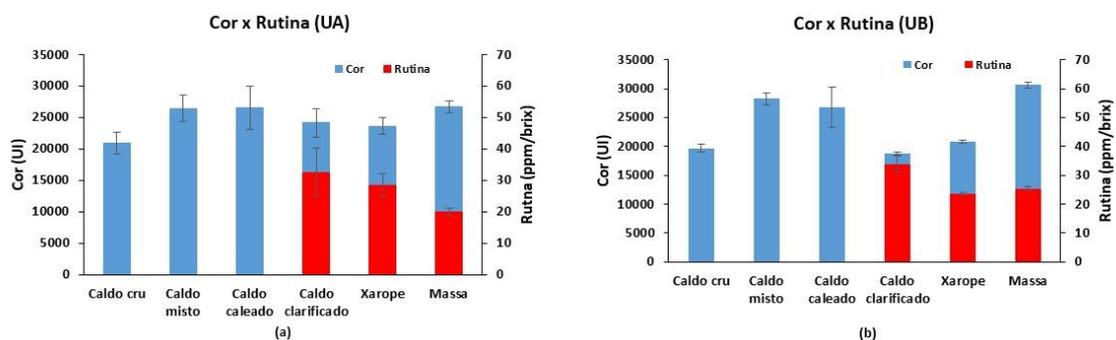
Etapas	Polifenóis (ppm/°Brix)								
	CAT	ACL	ACF	VAN	SIR	ACU	CUM	RUT	Total
Caldo cru	50,4 ± 5,1 ^b	30,2 ± 5,8 ^d	32,1 ± 2,0 ^b	0,0 ± 0,0 ^c	18,3 ± 1,9 ^d	33,7 ± 3,7 ^c	34,4 ± 4,4 ^c	0,0 ± 0,0 ^d	199,2 ± 22,7 ^e
Caldo misto	61,6 ± 5,2 ^a	58,9 ± 1,3 ^c	31,5 ± 3,5 ^b	0,0 ± 0,0 ^c	29,3 ± 2,3 ^a	39,9 ± 9,2 ^c	44,8 ± 4,5 ^b	0,0 ± 0,0 ^d	266,0 ± 16,0 ^d
Caldo caaleado	60,1 ± 6,8 ^a	52,6 ± 4,5 ^c	36,6 ± 2,1 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	26,7 ± 3,2 ^b	71,6 ± 1,9 ^a	60,8 ± 4,1 ^a	0,0 ± 0,0 ^d	308,6 ± 11,6 ^c
Caldo clarificado	42,5 ± 4,2 ^c	130,5 ± 24,6 ^b	22,9 ± 2,3 ^c	14,9 ± 1,4 ^a	19,7 ± 1,4 ^c	74,2 ± 4,6 ^a	48,8 ± 2,7 ^b	33,8 ± 5,4 ^a	387,6 ± 35,4 ^a
Xarope	26,1 ± 2,7 ^d	123,6 ± 21,7 ^b	24,0 ± 1,5 ^c	11,4 ± 1,2 ^c	13,1 ± 1,0 ^e	63,1 ± 7,9 ^b	42,6 ± 7,4 ^b	23,5 ± 6,5 ^b	327,6 ± 24,7 ^{bc}
Massa cozida	23,9 ± 3,7 ^e	157,4 ± 33,6 ^a	21,6 ± 2,5 ^c	13,6 ± 2,0 ^b	12,7 ± 2,4 ^e	67,8 ± 12,2 ^{ab}	49,5 ± 1,6 ^b	25,4 ± 2,9 ^b	351,9 ± 44,6 ^{ab}

Fonte: O Autor (2023).

Valores com letras sobrescritas iguais na vertical não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Duncan. CAT: catequina; ACL: ácido clorogênico; ACF: ácido cafeico; VAN: vanilina; SIR: seringaldeído; ACU: ácido *p*-cumárico; CUM: cumarina; RUT: rutina.

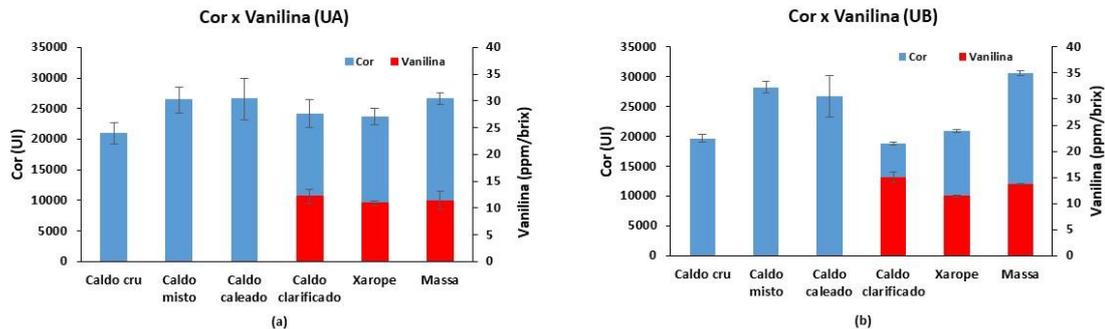
VAN foi identificada a partir da clarificação do caldo (caldo clarificado) em ambas as usinas, provavelmente devido à decomposição da lignina presente no bagacilho contido no caldo misto, a qual, segundo Mota *et al.* (2016), é favorecida em condições alcalinas e de aquecimento. A variação de concentração de VAN foi semelhante em UA e UB, havendo decaimento significativo ($p < 0,05$) no processo de evaporação, seguido de crescimento com a cristalização da sacarose (Tabelas 14 e 15). Este último de forma significativa apenas em UB, a qual acompanhou a elevação de cor da massa cozida (Figura 20).

Figura 19 - Relação entre cor e rutina em (a) UA e (b) UB.



Fonte: O Autor (2023).

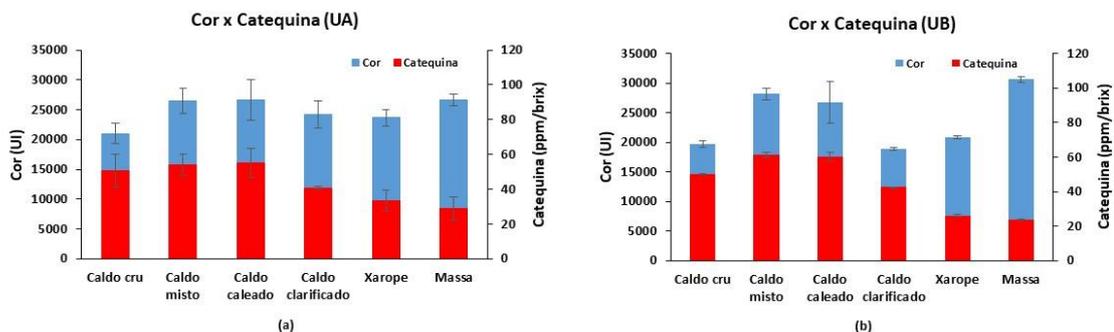
Figura 20 - Relação entre cor e vanilina em (a) UA e (b) UB.



Fonte: O Autor (2023).

A concentração de CAT em UB apresentou elevação significativa ($p < 0,05$) no caldo misto em relação ao caldo cru, diferente de UA que teve crescimento insignificante ($p > 0,05$) (Tabelas 14 e 15). A partir da clarificação do caldo houve seguidos decaimentos no teor de CAT em ambas as usinas, até a massa cozida, onde foram identificados os menores conteúdo deste polifenol. Comportamento este o inverso da cor, a qual obteve seus maiores crescimentos nas últimas etapas do processo (Figura 21).

Figura 21 - Relação entre cor e catequina em (a) UA e (b) UB.

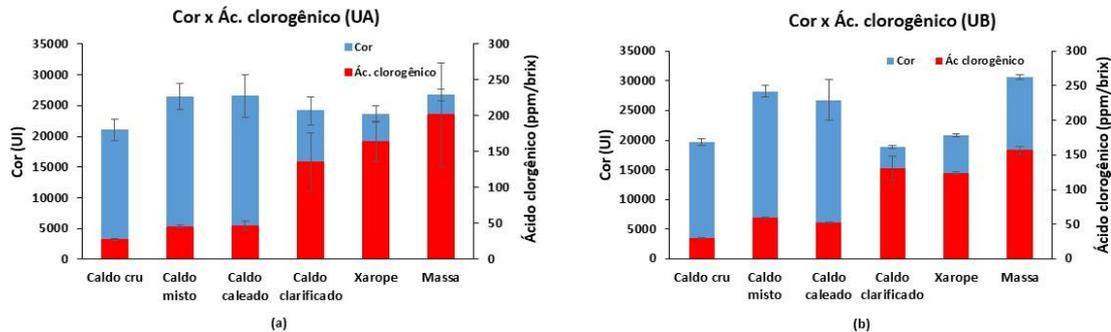


Fonte: O Autor (2023).

A Figura 22 mostra que o perfil fenólico de ACL foi semelhante nas usinas A e B em todas as etapas de produção. A elevação da cor no caldo misto foi acompanhada de crescimento significativo ($p < 0,05$) de ACL em relação ao caldo cru, seguido variação insignificante ($p > 0,05$) na obtenção caldo caaleado. Em ambas as situações foi notório e significativo ($p < 0,05$) a elevação de ACL após obtenção do caldo clarificado, com crescimento de 187 e 148 % para UA e UB, respectivamente (Tabelas 14 e 15). Este

crescimento pode ser observado também pela distância entre o terceiro e quarto ponto de observação dos perfis fenólicos de UA e UB (Figura 22).

Figura 22 - Relação entre cor e ácido clorogênico em (a) UA e (b) UB.



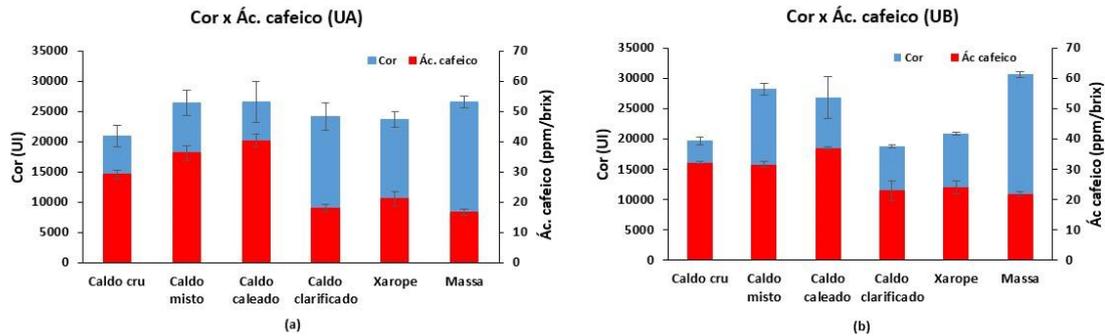
Fonte: O Autor (2023).

ACL foi predominante nas últimas etapas de produção, em UA por exemplo, representou 40% do total de compostos fenólicos quantificados no xarope (Tabela 14), sendo este valor superior aos 19% encontrado por Duarte-Almeida *et al.* (2011), o qual quantificou flavonoides e ácidos cinâmicos no processo de fabricação do açúcar VHP, mas não determinou a cor.

Em ambas as usinas o processo de cozimento promoveu elevação de cor e ACL (Figura 22). Apesar dos maiores índices de ACL, UA cresceu 22,7% nesta etapa do processo, contra 27,3% de UB (Tabelas 14 e 15), valores estes que se equiparam com maior escurecimento da massa cozida promovida por UB (Figura 22b). A partir desses fatos fica nítido que ACL fenólico possui relação positiva e significativa no escurecimento dos produtos do beneficiamento da cana-de-açúcar.

A variação de ACF obtida nas duas usinas foram semelhantes, com destaque para elevação no caldo caaleado ($p < 0,05$) em relação ao caldo misto e acentuada queda no caldo clarificado ($p < 0,05$) (Tabelas 14 e 15). A clarificação do caldo promoveu degradação de ácido cafeico de 55 e 37% em UA e UB, respectivamente, comparado com a etapa anterior (caleação). Não houve evolução significativa nos índices de ácido cafeico (UA e UB) após a clarificação do caldo, mesmo com o crescimento significativo na coloração do xarope e da massa cozida (Figura 23). Dessa forma, fica evidente que este composto fenólico não possui influência sobre a cor nos produtos da fase final do processo de fabricação do açúcar VHP.

Figura 23 - Relação entre cor e ácido cafeico em (a) UA e (b) UB.

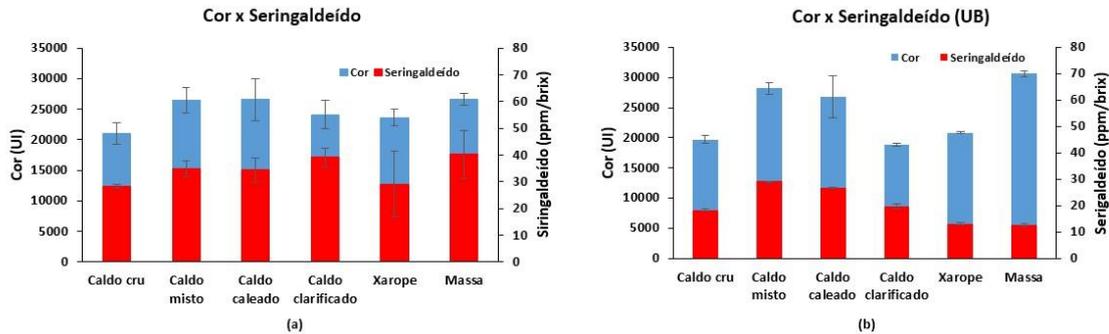


Fonte: O Autor (2023).

Na obtenção do caldo clarificado ficou evidente o contraste entre a expressiva elevação do teor de ACL e a abrupta redução de ACF, independente da usina (Tabelas 14 e 15). Este fato pode ser explicado pela natureza de formação do ACL. O ácido clorogênico mais comum e o único comercialmente disponível é o ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA), sendo este formado pela esterificação do ácido cafeico (ácido 3,4-dihidroxicinâmico) com o ácido quínico (ácido carboxílico 1L-1(OH),3,4/5-tetrahidroxíciclohexano) (CLIFFORD, 1999; CLIFFORD, 2000). A hipótese de que esta reação ocorreu na etapa de clarificação ganha força por alguns motivos: o caldo de cana-de-açúcar possui ácido quínico (GLASSOP et al., 2007); o pH próximo da neutralidade e a temperatura elevada (105 °C) favorecem a reação (ALSALME et al., 2018); e o cálcio, adicionado ao caldo na forma de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ na etapa de caleação, é comprovadamente um ótimo catalisador (DEMIRBAS, 2007; GUPTA et al., 2017). Logo, é sensato afirmar que a etapa de clarificação do caldo promoveu a degradação de ácido cafeico por conta da formação de ácido clorogênico.

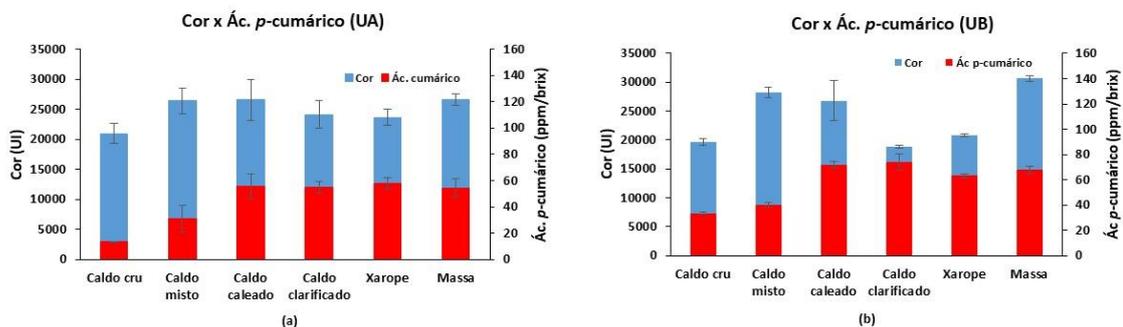
Diferente do comportamento dos outros compostos, os perfis fenólicos de SIR foram completamente distintos: UA apresentou tendência de crescimento de SIR ao longo das etapas de produção, em sintonia com a variação de cor (Figura 24a); já UB demonstrou comportamento inverso, com maior propensão ao decaimento de SIR (Figura 24b). Observa-se conteúdo de SIR em UA foi superior a UB em todos os produtos analisados (Tabelas 14 e 15). Essa discrepância de comportamentos indica que cada unidade industrial pode apresentar seu perfil específico de SIR, devido a fatores operacionais e/ou da própria característica da matéria-prima.

Figura 24 - Relação entre cor e seringaldeído em (a) UA e (b) UB.



Fonte: O Autor (2023).

Em todas as etapas do processamento do açúcar VHP avaliadas neste trabalho o teor de ACU em UB foi superior ao de UA (Figura 25). Essa superioridade é justificada devido a matéria-prima utilizada, na qual o conteúdo de ACU no caldo cru em UB foi 2,5 vezes em relação a UA (Tabelas 14 e 15). Em ambos os perfis ocorrem crescimento significativo ($p < 0,05$) e semelhante de concentração de ACU no caldo caleado (em comparação ao caldo misto), sendo este aumento de 78,5 e 79,9% para UA e UB, respectivamente. Observa-se que após a etapa de caleação não houve modificações significativas de ACU até a última etapa (massa cozida), mesmo com variações de cor, como mostra os últimos quatro pontos na Figura 25.

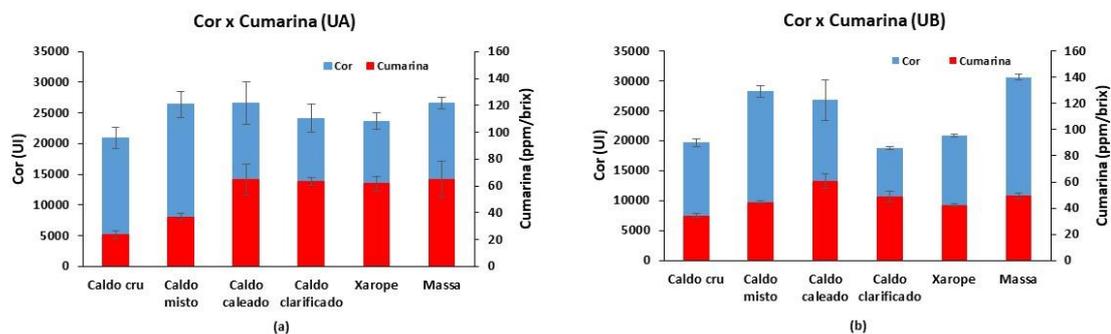
Figura 25 - Relação entre cor e ácido *p*-cumárico em (a) UA e (b) UB.

Fonte: O Autor (2023).

A Figura 26a mostra que o perfil fenólico de CUM em UA foi semelhante aos perfis de ACU (Figura 25), onde ocorreu crescimento significativo no caldo caleado (em relação ao caldo misto) e depois estabilização até o final do processo. Entretanto, em UB o

comportamento foi diferente, onde redução de cor promovida pela clarificação do caldo foi acompanhada de um decréscimo de 19,7% ($p < 0,05$) do teor de CUM (Figura 26b). Ainda na Figura 26b observa-se que mesmo com a elevação de cor, a variação de CUM no xarope (em relação ao caldo clarificado) e massa cozida (em relação ao xarope) foi insignificante ($p > 0,05$).

Figura 26 - Relação entre cor e cumarina em (a) UA e (b) UB.



Fonte: O Autor (2023).

ACU e CUM foram os compostos que apresentaram maiores conteúdos, após ACL, nos produtos das últimas etapas do processo (caldo clarificado, xarope e massa), mas com resultados distintos entre as usinas (Figuras 25 e 26). Enquanto em UA a quantidade de cumarina foi mais expressiva, nas etapas acima citadas, representando cerca de 15% do conteúdo fenólico, ACU foi mais expressivo em UB, apresentando teores em torno de 19% no caldo clarificado, xarope e massa cozida (Tabelas 14 e 15). Payet *et al.* (2006) não identificaram CUM nas etapas de fabricação de açúcar, entretanto, encontraram elevadas concentrações de ACU no caldo clarificado e xarope, representando 54 e 39% dos compostos fenólicos determinados nesses produtos, respectivamente.

4.5 EVAPORAÇÃO

Foi avaliada a operação de evaporação em UA, a qual é composta de quatro efeitos distribuídos em sete evaporadores. Não houve possibilidade de avaliar o processo de evaporação de UB, pois ela não possui pontos específicos para coleta de amostras.

A partir do produto de cada estágio de evaporação foram analisados os seguintes parâmetros: °Brix, cor, fenóis totais e compostos fenólicos. Os resultados são apresentados na Tabela 16, onde se observa que o caldo clarificado, proveniente do decantador, alimenta os

evaporadores com aproximadamente 21000 UI de cor, após o primeiro efeito ocorre uma moderada elevação, permanecendo praticamente uniforme no segundo e terceiro efeito e por fim, chega ao nível de 22500 UI, aproximadamente. Mesmo com o escurecimento do xarope obtido no último estágio de evaporação, observa-se que esse crescimento foi insignificante estatisticamente ($p > 0,05$).

De acordo com a Tabela 16 constata-se que mesmo com maiores níveis de concentrações de açúcar, de 24 a 45 °Brix, os caldos obtidos nas saídas do primeiro até o terceiro efeito permanecem com intensidade de cor estáveis, havendo crescimento significativo ($p < 0,05$) somente no último estágio do processo, quando se obtém o xarope, com concentração acima de 60 °Brix. De acordo com Paton (1992), à medida que o °Brix aumenta durante a evaporação, ocorre uma coloração intensa devido à formação de melanoidinas, a partir da reação Maillard entre aminoácidos e açúcares redutores. Na Figura 27 observa-se a relação linear entre a formação de cor e o °Brix ao longo do processo de evaporação, tendo um coeficiente de correlação significativo ($p < 0,05$) e elevado ($r = 0,92$).

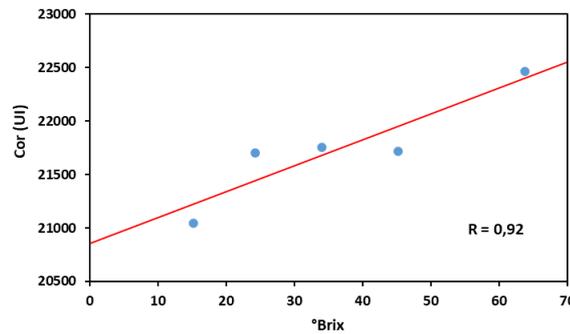
Tabela 16 - °Brix, cor, fenóis e polifenóis durante os estágios de evaporação.

Etapas	°Brix	Cor (UI)	Fenóis totais (ppm/°Brix)	Polifenóis (ppm/°Brix)								
				CAT	ACL	ACF	VAN	SIR	ACU	CUM	RUT	Total
Caldo clarificado	15,2 ± 0,0 ^e	21045 ± 102 ^a	2845 ± 57,4 ^b	41,4 ± 0,1 ^a	192,5 ± 1,8 ^a	18,0 ± 0,1 ^b	10,3 ± 0,1 ^{ab}	38,2 ± 0,3 ^a	48,4 ± 0,1 ^a	65,5 ± 0,3 ^a	21,9 ± 0,4 ^{ab}	436,3 ± 1,6 ^a
1° efeito	24,3 ± 0,1 ^d	21704 ± 218 ^a	2312 ± 97,0 ^c	37,8 ± 2,8 ^a	129,0 ± 27,0 ^b	23,8 ± 2,3 ^a	10,9 ± 1,3 ^a	18,9 ± 2,4 ^b	36,7 ± 7,2 ^b	40,6 ± 8,5 ^c	24,0 ± 3,6 ^a	321,6 ± 55,6 ^b
2° efeito	34,0 ± 0,0 ^c	21753 ± 229 ^a	2134 ± 10,7 ^c	25,3 ± 0,4 ^b	117,9 ± 2,7 ^b	18,2 ± 0,5 ^b	8,3 ± 0,1 ^b	14,1 ± 0,3 ^c	31,9 ± 0,5 ^b	36,3 ± 0,7 ^c	17,3 ± 0,2 ^b	269,1 ± 5,4 ^b
3° efeito	45,2 ± 0,1 ^b	21718 ± 879 ^a	2930 ± 98,8 ^b	24,9 ± 0,2 ^b	161,3 ± 0,6 ^{ab}	19,8 ± 0,0 ^b	9,0 ± 0,0 ^{ab}	15,8 ± 0,1 ^{bc}	42,6 ± 0,9 ^{ab}	49,0 ± 0,5 ^{bc}	19,7 ± 0,2 ^{ab}	342,1 ± 0,5 ^{ab}
4° efeito (Xarope)	63,9 ± 0,1 ^a	22464 ± 390 ^a	4021 ± 124 ^a	29,0 ± 2,2 ^b	202,0 ± 16,2 ^a	24,4 ± 1,5 ^a	10,5 ± 0,7 ^{ab}	19,3 ± 1,3 ^b	52,4 ± 3,9 ^a	61,2 ± 4,5 ^{ab}	24,6 ± 1,6 ^a	423,4 ± 32,0 ^a

Fonte: O Autor (2023).

Valores com letras sobrescritas iguais na vertical não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Duncan.

Figura 27 - Correlação entre a cor e o °Brix durante os estágios de evaporação.

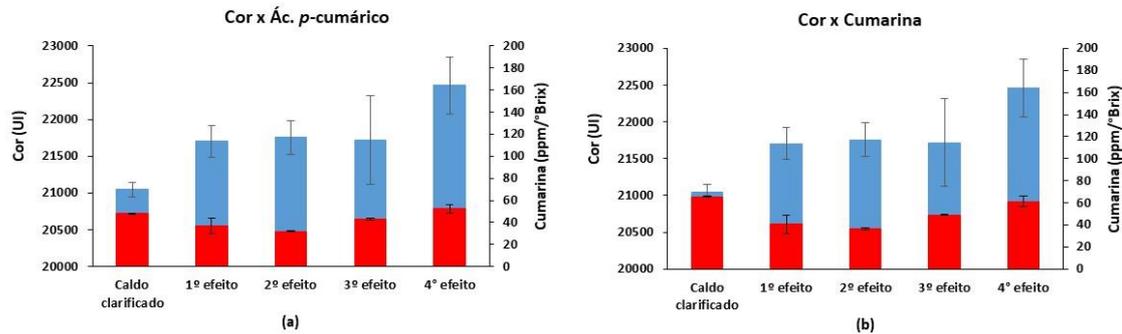


Fonte: O Autor (2023).

A partir da Tabela 16 é possível observar que a variação nos índices de fenóis totais é insignificante ($p > 0,05$) do caldo clarificado até o 3º efeito de evaporação, para posterior crescimento significativo ($p < 0,05$) na obtenção do xarope. Do início até o final da evaporação, o teor de fenóis totais apresentou elevação de 1100 ppm/°Brix.

Foram identificados oito polifenóis na operação de evaporação, os mesmos encontrados no subitem anterior (CAT, ACU, ACF, VAN, SIR, ACU, CUM e RUT), sendo suas respectivas concentrações mostradas na Tabela 16. ACL foi o composto que apresentou maior concentração em todas as etapas da evaporação, representando mais de 40% do total de polifenóis em cada estágio avaliado neste processo. Observa-se que no 1º efeito ocorreu decaimento na concentração da maioria dos compostos fenólicos, com destaque para o SIR, que teve redução de quase 50%. Um detalhe interessante é que no 2º efeito todos os compostos tiveram diminuição de concentração, sendo que em CAT, ACF, VAN, SIR e RUT a variação foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Na obtenção do xarope (4º efeito) foi constatado elevação no teor de todos os polifenóis, mas só em ACF ocorreu de forma significativa ($p < 0,05$). Os maiores índices de ACL, ACF, ACU e RUT foram encontrados no xarope, produto no qual obteve os maiores índices de °Brix, cor e fenóis totais.

Outro destaque a ser mencionado sobre os estágios de evaporação é a semelhança nos perfis fenólicos de ACU e CUM, onde observa-se redução de concentração no 1º e 2º efeito e posterior crescimento no 3º e 4º efeito (Figura 28). Esse comportamento similar de ACU e CUM, também observado anteriormente nas etapas de fabricação do açúcar VHP, pode ser explicado pela origem da cumarina, a qual pode ser sintetizada através da reação de oxidação do ácido cumárico (SILVA, 2016).

Figura 28 – Perfil fenólico no processo de evaporação para (a) ácido *p*-cumárico e (b) cumarina.

Fonte: O Autor (2023).

4.6 COZIMENTO

A Tabela 17 apresenta os resultados de °Brix, cor, fenóis totais e polifenóis obtidos durante a etapa de cristalização da sacarose (cozimento). Observa-se que a formação de cor é mais acentuada no início do processo, quando o pé de cozimento (33728 UI) recebe a primeira quantidade de xarope até obtenção da massa 1 (43112 UI). A partir deste ponto o escurecimento é estatisticamente insignificante ($p > 0,05$) até chegar ao final do cozimento, quando se obtém a massa 3 (45914 UI). Segundo Lionnet (1998), a elevada formação de cor na massa cozida é influenciada pela taxa de cristalização da sacarose e teor de impurezas no cristal.

De acordo com a Tabela 17 o teor de sólidos (°Brix) e de fenóis totais também apresentam crescimento significativo, este último ocorrido só na obtenção da massa 3.

Tabela 17 – °Brix, cor, fenóis totais e polifenóis durante o cozimento do açúcar.

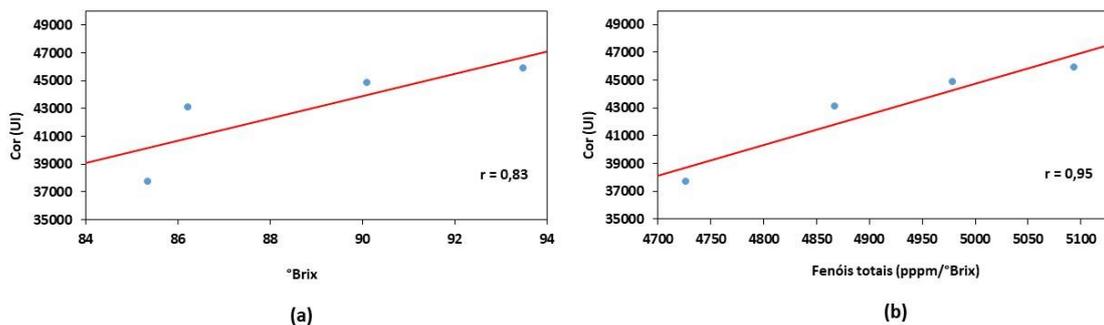
Etapas	°Brix	Cor (UI)	Fenóis totais (ppm/°Brix)	Polifenóis (ppm/°Brix)								
				CAT	ACL	ACF	VAN	SIR	ACU	CUM	RUT	Total
Pé de cozimento	85,3 ±0,2 ^c	33728 ±875 ^b	4726 ±38 ^b	24,1 ±1,1 ^b	214,9 ±5,2 ^b	20,0 ±2,0 _a	12,9 ±0,9 ^b	17,1 ±0,1 ^b	53,7 ±1,8 ^b	58,9± 0,1 ^b	18,2 ±1,8 ^b	420,1 ±0,9 ^a _b
Massa 1	86,2 ±0,2 ^c	43112 ±216 ^a	4867 ±83 ^{ab}	26,0 ±0,2 ^{ab}	237,5 ±2,6 ^a	22,5 ±2,5 _a	14,7 ±0,4 ^b	24,5 ±2,3 ^a	60,2 ±0,6 ^a	64,9 ±2,0 ^{ab}	20,9 ±0,6 ^{ab}	471,3 ±2,8 ^a _b
Massa 2	90, ±0,1 ^b	44887 ±1455 ^a	4979 ±152 ^{ab}	26,8 ±0,2 ^a	218,6 ±9,3 ^{ab}	21,3 ±0,2 _a	13,8 ±0,2 ^{ab}	23,4 ±0,7 ^a	52,8 ±0,3 ^b	60,4 ±0,5 ^b	19,9 ±0,3 ^{ab}	437,3 ±0,5 ^a _b
Massa 3	93,5 ±0,5 ^a	45914 ±634 ^a	5094 ±45 ^a	27,2 ±0,9 ^a	238,8 ±1,9 ^a	22,9 ±2,0 _a	15,2 ±0,3 ^a	25,7 ±0,0 ^a	58,0 ±0,2 ^a	67,2 ±3,0 ^a	21,9 ±0,2 ^a	477,1 ±0,1 ^a

Fonte: O Autor (2023).

Valores com letras sobrescritas iguais na vertical não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Duncan.

Devido ao crescimento contínuo nos níveis de °Brix e fenóis totais no processo de cozimento, foi possível avaliar a correlação entre a cor e esses dois parâmetros (Figura 29). Foi obtido um perfil linear com significativos coeficientes de correlação (r). Consta-se que à medida que a massa fica mais concentrada, o conteúdo de fenóis se eleva e, conseqüentemente, ocorre o escurecimento da massa cozida.

Figura 29 – Correlação a cor e (a) °Brix (b) fenóis totais durante o processo de cozimento do açúcar.



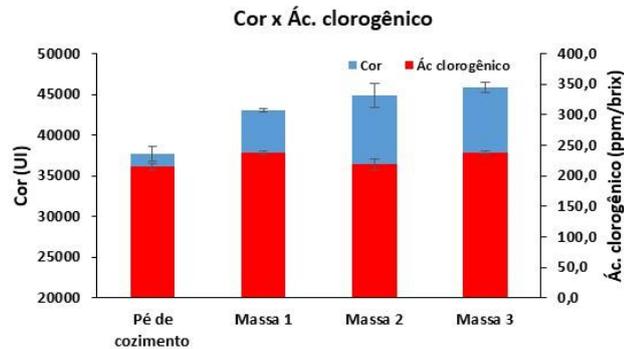
Fonte: O Autor (2023).

A Tabela 17 mostra também os compostos fenólicos encontrados durante o cozimento do açúcar. Da mesma forma que na evaporação, foram identificados os mesmos oito polifenóis: CAT, ACU, ACF, VAN, SIR, ACU, CUM e RUT. Observa-se que há elevação nos índices de todos compostos fenólicos após alimentação de 50 HL de xarope no tacho de cozimento (massa 1), sendo em ACL, SIR, ACU e RUT de forma significativa ($p < 0,05$). Nessa fase do processo ocorreu o escurecimento da massa em 27,8% também de forma significativa ($p < 0,05$). Quando o nível do tacho alcança 350 HL (massa 2) não ocorre nenhuma variação significativa entre os polifenóis (exceto CAT) e nem com a cor. tal fato pode ser explicado por uma possível lavagem dos cristais que ocorrem no decorrer da operação de cozimento. Na última fase do cozimento (massa 3) observa-se a elevação do teor de todos os compostos fenólicos, com destaque para ACU e CUM que alcançaram 9,8 11,2% de ascensão. Considerando o início e fim (do pé de cozimento até a massa 3), o processo de cozimento promoveu crescimento significativo ($p < 0,05$) na concentração de todos os polifenóis, exceto o ácido cafeico.

O ACL foi o destaque entre os compostos fenólicos, apresentando composição em torno de 50% do total de polifenóis em cada ponto de avaliação. A relação entre a cor e o teor de ACL durante o processo de cozimento é mostrado na Figura 30. É possível observar que o escurecimento da massa 1 (27,8%) é acompanhado de crescimento de 10,5% de ACL ($p <$

0,05). Na sequência do processo ocorre seguidas elevações de cor e variações no teor de ACL, mas estatisticamente insignificante ($p > 0,05$).

Figura 30 – Perfil fenólico no processo de cozimento para o ácido clorogênico.



Fonte: O Autor (2023).

4.7 AÇÚCAR VHP

A análise do açúcar VHP foi realizada a partir de seis amostras com diferentes intensidades de cor, distribuídas em ordem crescente (Tabela 18). A elevada faixa de coloração estudada (675 – 2981 UI) ($p < 0,05$) foi importante porque durante o armazenamento o açúcar VHP pode sofrer variações significativas (GALATI, 2016). A cor do açúcar VHP produzido pode variar a partir de três principais fatores: qualidade da matéria-prima, tipo de tratamento de caldo e especificações desejadas pelos compradores.

A concentração de compostos fenólicos no açúcar VHP (Tabela 18) foi muito inferior comparado as etapas de produção (Tabelas 14 e 15), o que é explicado por essas substâncias estarem inseridas ao mel e este é eliminado nas centrífugas de açúcar, restando apenas uma fina camada que envolve as faces dos cristais. A concentração de fenóis totais variou entre 51 a 679 mg/kg, valores superiores aos encontrados por Ordoñez (2009) (4,5 – 300 mg/kg), o qual avaliou diferentes tipos de açúcar (cru, orgânico, branco orgânico e branco não orgânico).

Os seguintes compostos fenólicos foram identificados no açúcar VHP (Figura 31): ACL, VAN, ACU e CUM. Como relatado por Bento (2009), os ácidos fenólicos (ACL e ACU) são de difícil remoção durante a extração e refino, atingindo os cristais de açúcar. ACL foi o composto que teve maior concentração em todas as amostras, apresentando valores superiores a 50% da composição dos polifenóis. As concentrações de ACU e CUM foram

próximas nas duas primeiras amostras, mas a partir de cristais de açúcar de cor mais acentuada houve distanciamento por conta da elevação do teor de CUM e não crescimento de ACU, chegando na última amostra com diferença de 153% entre os dois ($p < 0,05$).

Apesar de VAN ter sido o composto que apresentou menores concentrações nas cinco primeiras amostras, seu crescimento foi o mais significativo (137%) ($p < 0,05$) quando a cor do açúcar passou de 1156 para 2981 UI (Tabela 18). Payet *et al.* (2005) quantificou os polifenóis presentes em amostras de açúcar mascavo, não identificando nenhum flavonoide e destacando VAN e ACU entre os compostos fenólicos contidos neste tipo de açúcar.

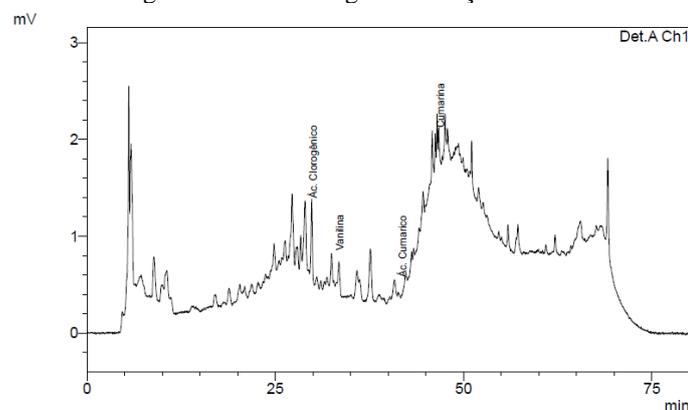
Tabela 18 - Cor, fenóis totais e polifenóis para o açúcar VHP.

Amostras	Cor (UI)	Fenóis totais (mg/kg)	Polifenóis (mg/kg)				
			ACL	VAN	ACU	CUM	TOTAL
1	675 ± 24,5 ^d	51 ± 3,6 ^d	6,12 ± 0,04 ^b	0,97 ± 0,00 ^e	1,88 ± 0,03 ^c	2,13 ± 0,09 ^c	11,1 ± 0,10 ^c
2	805 ± 5,0 ^d	87 ± 4,1 ^{cd}	6,10 ± 0,01 ^b	1,03 ± 0,01 ^d	1,95 ± 0,03 ^{bc}	2,12 ± 0,12 ^c	11,2 ± 0,12 ^c
3	837 ± 1,5 ^{cd}	120 ± 4,4 ^{bc}	6,26 ± 0,04 ^b	1,13 ± 0,02 ^c	1,98 ± 0,02 ^b	2,43 ± 0,01 ^{bc}	11,8 ± 0,05 ^c
4	1069 ± 4,0 ^{bc}	147 ± 12,9 ^b	6,94 ± 0,17 ^b	1,09 ± 0,01 ^c	1,97 ± 0,01 ^{bc}	2,71 ± 0,02 ^b	12,7 ± 0,15 ^b
5	1156 ± 221,0 ^b	152 ± 6,5 ^b	6,60 ± 0,08 ^b	1,30 ± 0,00 ^b	2,16 ± 0,04 ^a	2,59 ± 0,06 ^b	12,6 ± 0,18 ^b
6	2981 ± 17,5 ^a	679 ± 32,6 ^a	11,84 ± 0,69 ^a	3,09 ± 0,03 ^a	2,03 ± 0,01 ^b	5,14 ± 0,26 ^a	22,1 ± 0,39 ^a

Fonte: O Autor (2023).

Valores com letras sobrescritas iguais na vertical não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Duncan.

Figura 31 – Cromatograma do açúcar VHP.



Fonte: O Autor (2023).

Na Figura 31, a correlação entre cor, fenóis totais, polifenóis e fenóis CUM, VAN e ACL mostrou um bom ajuste à equação linear, com coeficientes de determinação (R^2)

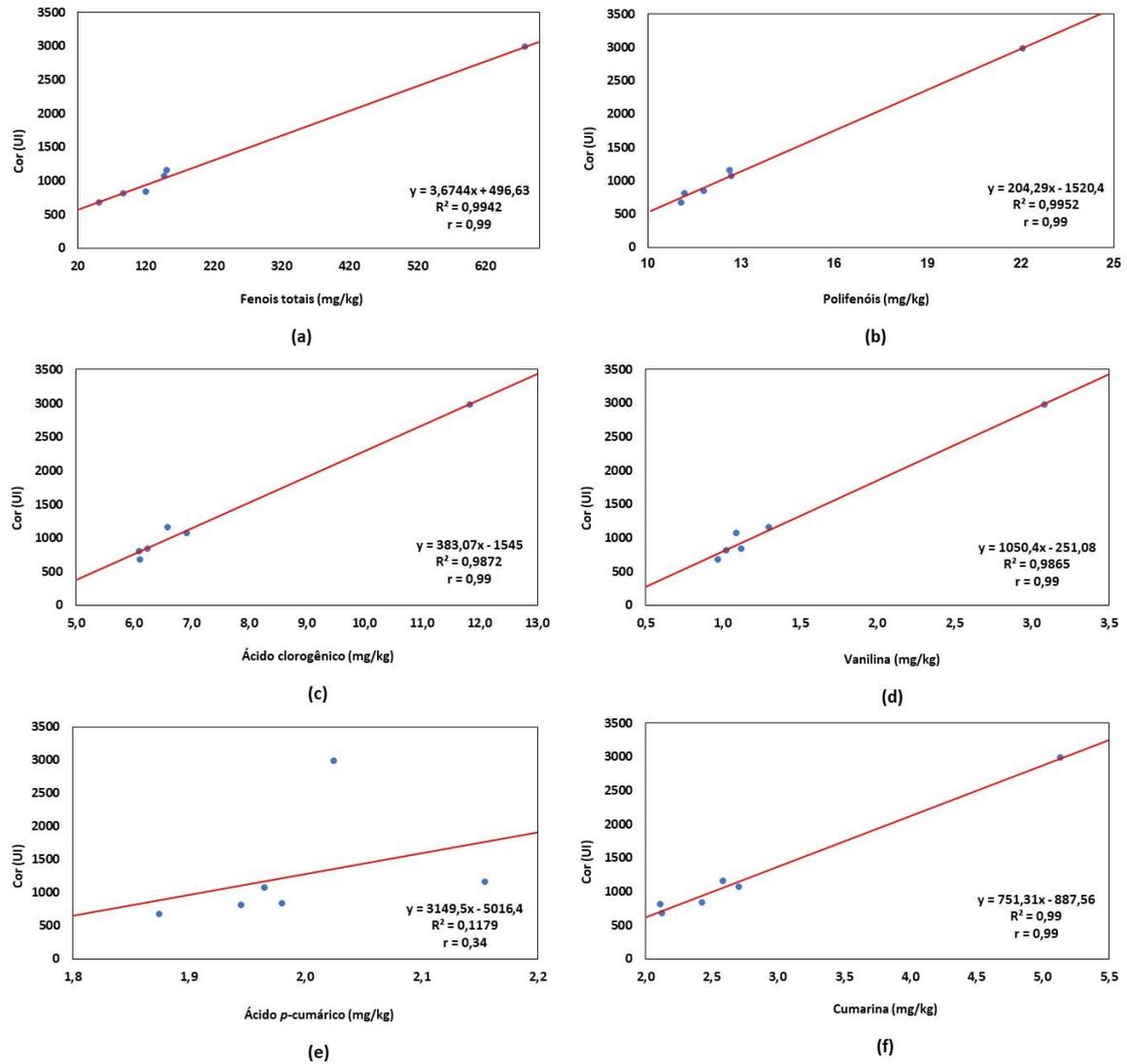
superiores a 0,98. As Figuras 32a, 32b, 32c, 32d e 32f mostram uma forte correlação positiva de cor com fenóis totais, conteúdo total de polifenóis, ACL, VAN e CUM, apresentando $r = 0,99$, enquanto ACU não apresentou correlação significativa ($r = 0,34$) ($p > 0,05$) (Figura 32e).

A correlação entre a cor e fenóis totais ($r = 0,99$) foi superior à encontrada por Simioni et al. (2006) ($r = 0,73$), os quais avaliaram 14 amostras de açúcar VHP com faixa de cor ICUMSA entre 270 e 1240 UI e fenóis totais entre 78 e 260 ppm. Herrera *et al.* (2015) conseguiram ótimo ajuste ($R^2 = 0,91$) para um perfil linear na relação entre a cor e o conteúdo de flavonoides em amostras de cristais de açúcar.

Dentre os polifenóis identificados no açúcar VHP não há dúvidas que o ACL foi o de maior destaque, pelo conteúdo quantificado e pela sua elevada correlação com a cor. Através da equação obtida na Figura 32c pode-se afirmar que a cada elevação de 1 mg/kg de ACL (a partir de 6 mg/kg) a cor do açúcar VHP aumenta quase 400 unidades de cor ICUMSA (UI).

O armazenamento do açúcar VHP deve ocorrer em boas condições de aeração e termometria, porque, de acordo com Nam *et al.* (2017), o ácido clorogênico é instável a luz e calor, podendo ser facilmente oxidado (HWANG *et al.*, 2018), e conseqüentemente, promover o escurecimento dos cristais.

Figura 32 - Correlação entre cor do açúcar VHP e (a) fenóis totais (b) conteúdo total de polifenóis (c) ácido clorogênico (d) vanilina (e) ácido *p*-cumárico (f) cumarina.



Fonte: O Autor (2023).

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos apresentam uma importante análise na avaliação da concentração dos compostos fenólicos na variação de cor da matéria prima e dos produtos formados nas etapas de produção do açúcar VHP.

Os parâmetros de validação foram obtidos de forma satisfatória, comprovando que o método cromatográfico utilizado é eficaz para determinação de compostos fenólicos em produtos da fabricação de açúcar VHP.

A variedade da cana-de-açúcar foi a variável que obteve maior influência sobre a cor, confirmando que o genótipo RB92579 fornece um caldo mais escuro ao processo de fabricação de açúcar. A impureza vegetal teve pouca influência nos parâmetros estudados. Foi constatado que a colheita mecanizada proporciona maiores índices de cor e fenóis totais no caldo de cana-de-açúcar. Catequina foi o composto fenólico de maior conteúdo no caldo de cana *in natura*.

Todas as variáveis dependentes do planejamento experimental apresentaram seus maiores índices no genótipo RB92579, com exceção da cumarina.

O ácido clorogênico foi o composto de maior destaque nas últimas etapas de produção (caldo clarificado, xarope e massa cozida) pelo conteúdo elevado e relação positiva com o escurecimento dos produtos.

Os resultados mostram que durante o processo de cozimento houve crescimento significativo de todos os polifenóis, com exceção do ácido cafeico.

Os resultados das amostras de açúcar VHP identificaram ótimas correlações entre a cor e os compostos fenólicos, revelando que ácido clorogênico, cumarina e vanilina possuem interferência significativa na elevação de cor dos cristais de açúcar VHP.

Devido à forte relação com a cor, elevadas concentrações nos cristais de açúcar e nas etapas de produção, o ácido clorogênico (ACL) se mostrou o composto fenólico de maior influência na formação de cor durante o beneficiamento da cana-de-açúcar para fabricação de açúcar VHP.

Os resultados desse estudo sugerem que os perfis fenólicos obtidos podem representar uma ferramenta interessante no desenvolvimento de novas tecnologias associadas à remoção de cor na indústria açucareira.

6 RECOMENDAÇÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como trabalhos futuros, sugere-se:

Identificação e quantificação de compostos fenólicos em outras variedades de cana-de-açúcar.

Avaliação de outros compostos fenólicos no processo de fabricação de açúcar, como: tricina, apigenina e luteolina.

Avaliação dos compostos fenólicos no processo de fabricação de açúcar branco (cristal e refinado).

Investigação sobre o crescimento do teor de ácido clorogênico no processo de clarificação do caldo.

Avaliação do teor de ácido clorogênico no escurecimento do açúcar VHP durante o seu armazenamento.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-AAL, E. M.; HUCL, P.; RABALSKI, I. Compositional and antioxidant properties of anthocyanin-rich products prepared from purple wheat. **Food Chemistry**, v. 254, p. 13-19, 2018.
- ABID, M.; YAICH, H.; HIDOURI, H.; ATTIA, H.; AYADI, M. A. Effect of substituted gelling agents from pomegranate peel on colour, textural and sensory properties of pomegranate jam. **Food Chemistry**, v. 239, p. 1047-1054, 2018.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Oficial da União: seção 1, edição 141, p. 87-90. Brasília: ANVISA, 2017.
- ALAPPAT, P.; ALAPPAT, J. Anthocyanin Pigments: Beyond Aesthetics. **Molecules**, v. 25, 5500, 2020.
- ALBUQUERQUE, F. M. **Processo de fabricação de açúcar**. 2ª edição. Editora Universitária da UFPE. 275 p. Recife – PE, 2010.
- ALI, S. E.; EL GEDAILY, R. A.; MOCAN, A.; FARAG, M. A.; EL-SEEDI, H. R. Profiling metabolites and biological activities of sugarcane (*Saccharum officinarum* Linn.) juice and its product molasses via a Multiplex metabolomics approach. **Molecules**, v. 5, n. 15, 2019.
- ALMEIDA, A.; ELIAN, S.; NOBRE, J. Modificações e alternativas aos testes de Levene e de Brown e Forsythe para igualdade de variâncias e médias. **Revista Colombiana de Estatística**, v. 31, p. 241-260, 2008.
- ALSALME, A.; ALSHARIF, A. A.; AL-ENIZI, H.; KHAN, M.; ALSHAMMARI, S. G.; ALOTAIBI, M. A.; KHAN, R. A.; SIDDIQUI, M. R. H. Probing the catalytic efficiency of supported heteropoly acids for esterification: effect of weak catalyst Support Interactions. **Journal of Chemistry**, v. 2018, p. 1-10, 2018.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - Uma breve revisão. **Rev. Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 1-9, 2007.
- AQUINO, F. W. B.; RODRIGUES, S.; NASCIMENTO, R. F.; CASIMIRO, A. R. S. Simultaneous determination of aging markers in sugar cane spirits. **Food Chemistry**, v. 98, p. 569-574, 2006.

ARAÚJO, F. A. D. **Intensificação do processo de purificação do caldo a cana de açúcar por de cantação química e adsorção**. 233p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2017.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official methods of analysis of AOAC International, in Guidelines for Standard Method Performance Requirements (Appendix F). Gaithersburg: AOAC International, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **ABNT NBR16221**: Extração do caldo pelo método da prensa hidráulica automática e determinação do peso do bolo úmido (PBU). 2p., 2019.

AZEVEDO, A. C. B.; SILVA, F. L. H.; MEDEIROS, L. L.; QUEIROZ, A. L. M.; SANTOS, S. F. M.; GOMES, J. P.; FIGUERÔA, J. A. Enzymatic polyphenoloxidase inactivation with temperature and ozone in sugarcane variety RB 92579 to produce lower color sugar. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 22, e2018043, 2019.

Baccarin, J. G.; OLIVEIRA, J. A.; MARDEGAN, G. E. Os efeitos ambientais, sociais e econômicos das recentes mudanças tecnológicas na cana-de-açúcar no Estado de São Paulo, Brasil. v. 20, p. 598-617, 2020.

BARBOSA, G. V. S.; SANTOS, T. W. T.; FERREIRA, J. L. C.; SANTOS, J. M.; SILVA, P. P.; NASCIMENTO, B. F. C.; SILVA, W. T.; LIMA, L. F. N. Avaliação da cor do caldo de diferentes genótipos da cana-de-açúcar nas condições da usina caeté-alagoas, na safra 2006/2007. In: Congresso nacional da sociedade dos técnicos açucareiros e alcooleiros do Brasil, 9., 2008. *Anais*, p. 409-413. Maceió: STAB, 2008.

BARKER, B.; DAVIS, S. B. Characterisation of cane varieties based on sugar processing parameters. *South African Sugar Technologists' Association*, v. 79. p. 76-88, 2005.

BARRECA, D.; TROMBETTA, D.; SMERIGLIO, A.; MANDALARI, G.; ROMEO, O.; FELICE, M. R. GATTUSO, G.; NABAVI, S. M. Food flavonols: Nutraceuticals with complex health benefits and functionalities. *Trends in Food Science & Technology*, v. 117, p. 194-204, 2021.

BARROS, A. H. C.; ANDRADE JÚNIOR, A. S. A.; BASTOS, E. A.; SILVA, A. B. Simulação do crescimento e da produtividade da cana-de-açúcar em Teresina, PI. Embrapa Solos. 32 p.: il. - (Documentos / Embrapa Solos, ISSN 1517-2627; 204); (Documentos / Embrapa Meio-Norte, 255), 2018.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 4ª edição. Editora Bookman. 414 p. Porto Alegre – RS, 2010.

BASTOS, D. H. M.; OLIVEIRA, D. M.; MATSUMOTO, R. L. T; CARVALHO, P. O.; RIBEIRO, M. L. Yerba maté: Pharmacological Properties, Research and Biotechnology. **Medicinal and aromatic plant science and Biotechnology**, v. 1, p. 37-46, 2007.

BASTOS, K. J. J. Z.; LANDELL, M. G. de A.; MIRANDA, E. de S. Influência da produtividade da cana-de-açúcar no custo do corte mecanizado. **Revista iPecege**, v. 2, n. 4, p. 42-59, 2016.

BENTO, L. S. M. Colourants through cane sugar production and refining. **Sugar Industry Jornal**, v. 134. p. 168-176, 2008.

BOOYSEN K. C.; DAVIS S. B. Colourant behaviour during sugarcane processing. **The South African Sugar Technologist Association**, v. 92. p. 358-371, 2019.

BOURZUTSCHKY H. C. C. Color formation and removal – Options for the sugar and sugar refining industries: A review (part 1). **Sugar Industry**, v. 130, p. 470-475, 2005. **Revista brasileira de zootecnia**, v. 32, p. 1835-1844, 2003.

BRAGA JÚNIOR, R. L. C.; CARNAÚBA, C.; LANDELL, M. G. A. Censo Varietal IAC na Região Norte-Nordeste do Brasil – Safra 2021/22. Disponível em: <<https://www.sindicucar-al.com.br/app/uploads/2022/07/Censo-Varietal-2021.22-NNE-VF.pdf>>. Acesso em: 31 ago 2023.

BUCHELI, C. S.; ROBINSON, S. P. Contribution of enzymic browning to color in sugarcane juice. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 2, p.257-261, 1994.

CALDAS, C. S. **Escurecimento do açúcar branco: influência do processo e do tempo de armazenamento**. 91p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2012.

CAMPIOL, J. L. M.; MAGRI, N. T. C.; SARTORI, J. A. S.; OGANDO, F. I. B.; AGUIAR, C. L. Color reduction of raw sugar syrup using hydrogen peroxide. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, p. 1-13, 2019.

CANILHA, L.; SANTOS, V. T. O.; ROCHA, G. J. M.; SILVA, J. B. A.; GIULIETTI, M.; SILVA, S. S.; FELIPE, M. G. A. FERRAZ, A.; MILAGRES, A. M. F.; CARVALHO, W. A study on the pretreatment of a sugarcane bagasse sample with dilute sulfuric acid. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, p. 1467-1475, 2011.

- CASIMIRO, F. M.; COSTA, C. A. E.; BOTELHO, C. M.; BARREIRO, M. F.; RODRIGUES, A. E. Kinetics of Oxidative Degradation of Lignin-Based Phenolic Compounds in Batch Reactor. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 58(36), p. 16442–16449, 2019.
- CASTRO, S. B.; ANDRADE, S. A. C. **Tecnologia do Açúcar**. Editora Universitária. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2007.
- CERRI, M.; REALI, L.; ZADRA, C. Metabolite Storage in Theobroma cacao L. Seed: Cytological and Phytochemical Analyses. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 1599, 2019.
- CHEN, A. Y.; CHEN, Y, C. A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. **Food Chemistry**, v. 138, p. 2099-2107, 2013.
- CLIFFORD M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79(3), p. 362–372, 1999.
- CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1033–1043, 2000.
- COCA, M.; GARCIA, M. T.; GONZALEZ, G.; PENA, M.; A. GARCIA, J. A. Study of coloured components formed in sugar beet processing. **Food Chemistry**, v. 86, p. 421-433, 2004.
- COLONNELLO, A.; KOTLAR, I.; LIMA, M. L.; ORTÍZ-PLATA, A.; GARCÍA-CONTRERAS, R.; SOARES, F. A. A.; ASCHNER, M.; SANTAMARÍA, A. Comparing the Effects of Ferulic Acid and Sugarcane Aqueous Extract in In Vitro and In Vivo Neurotoxic Models. **Neurotoxicity Research**, v. 34, p.640-648, 2018.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, v.9 - Safra 2022/23 – n.3, p. 1-58, 2022.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, v.10 - Safra 2022/23 – n.4, p. 1-50, 2023.
- COSTA, G. H. G.; MASSON, I. S.; FREITAS, L. A.; ROVIERO, J. P.; MUTTON, M. J. R. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 154-159, 2015.

- CRIVELLARO, F. P. P.; PEREIRA, A. A.; FREITAS, I. R. Dimensionamento de um pré-
evaporador modelo Robert's para concentrar caldo-de-cana. **Revista Iberoamericana de
Ingeniería Mecánica**, v. 20, p. 61-70, 2016.
- CZAJKOWSKA-GONZÁLEZ, Y. A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; MARTÍNEZ-RUIZ, R.
N; VÁZQUEZ-FLORES, A. A.; GAYTÁN-MARTÍNEZ, M.; ROSA, L. A. Addition of
phenolic compounds to bread: antioxidant benefits and impact on food structure and sensory
characteristics. **Food Production, Processing and Nutrition**, v. 3, 25, 2021.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**,
4ª Edição. Editora Artmed, 2010.
- DE BRUIJN, J. M. D.; KIEBOOM, A. P. G.; BEKKUM H. V.; POEL P. W. V. D. Reactions
of monosaccharides in aqueous alkaline solutions. **Sugar Technology**, v. 13. p. 21-52,
1986.
- DEMIRBAS, A. Biodiesel from sunflower oil in supercritical methanol with calcium oxide.
Energy Convers Manag, v. 48, p. 937-941, 2007.
- DOERSCH, K. M.; NEWELL-ROGERS, M. K. The impact of quercetin on wound healing
relates to changes in αV and $\beta 1$ integrin expression. **Experimental Biology and Medicine**, v.
242, p. 1-8, 2017.
- DORNAS, W.C.; OLIVEIRA, T. T.; RODRIGUES-DAS-DORES, R. G.; SANTOS, A. F.;
NAGEM, T. J. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências
Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, p.241-249, 2007.
- DUARTE-ALMEIDA, J. M. **Flavonoides e ácidos cinâmicos de cana-de-açúcar
(Saccharum officinarum L. - Poaceae) e seus produtos. Identificação e atividade
antioxidante e antiproliferativa**. 129p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2006.
- DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SALATINO, A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Phenolic
composition and antioxidant activity of culms and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.)
products. **Food Chemistry**, v. 125, p. 660-664, 2011.
- D'ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; DI BENEDETTO, R.; GARGIULO, R.; GIOVANNINI, C.;
MASELLA, R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Ann. Ist. Super Sanita**,
v.43, n.4, p.348-361, 2007.

EGGLESTON, G. Positive aspects of cane sugar and sugar cane derived products in food and nutrition. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 66, p. 4007–4012, 2018.

EMPRESA ALAGOANA DE TERMINAIS – EMPAT. Reunião anual da qualidade do açúcar VHP. Maceió, ago. 2018.

ERE, A.; EREN, O. Chicken gelatin modification by caffeic acid: A response surface methodology investigation. **Food Chemistry**, v. 151, 129269, 2021.

ESPERANÇA, M. A.; NASCIMENTO, P. A. M.; PEREIRA, F. M. B. Impurity in sugarcane juice as mineral content: A prospect for analysis using energy-dispersive X-ray fluorescence (EDXRF) and chemometrics. **Microchemical Journal**, v. 164, 105951, 2021.

FANG, Y.; ELLISA, A.; UCHIMIYAB, M.; STRATHMANNA, T. J. Selective oxidation of colour-inducing constituents in raw sugar cane juice with potassium permanganate. **Food Chemistry**, v. 298, 1-7, 2019.

FEDOZZI, C.; SILVA, C. F. G.; SANTOS, J. V. A.; PRADO, M. Q.; COELHO, A.; PONTES, W.; GANDOLF, M. V. C. Influência do hidróxido de cálcio na turbidez do caldo de Cana-de-açúcar. **Revista Engenharia em Ação UniToledo**, v. 03, p. 94-104, 2018.

FELDMAN, D. Lignin nanocomposites. **Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry**, v. 53, p. 382-387, 2016.

FERRERO-DEL-TESSO, S.; SUÁREZ A.; FERREIRA, C.; PEREZONI, D.; ARAPTISAS, P.; MATIVI, F.; FERREIRA, V.; FERNÁNDEZ-ZURBANO, P.; SÁENZ-NAVAJAS M. Modeling grape taste and mouthfeel from chemical composition. **Food Chemistry**, v. 371, 131168, 2022.

FONSECA, C. R.; PAIVA, J. L.; RODRIGUEZ, E. M.; FERNANDO, J. B.; TEIXEIRA, A. C. S. C. Degradation of phenolic compounds in aqueous sucrose solutions by ozonation. **Ozone: science & engineering**, v. 39. p. 255-263, 2017.

GALATI, V. C.; MADALENO, L. L.; GIMENES, R.; CARVALHO, M. M. C.; LIMA, J.; PEREIRA FILHO, M. A.; BORGES, T. H. S. Qualidade do açúcar armazenado a granel em silo de alvenaria. **Revista STAB**, v. 34, n. 5, p. 34-36, 2016.

GAMBARATO, B. C. **Isolamento e caracterização de ligninas de palha de cana-de-açúcar**. 106 p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo. Lorena, 2014.

GLASSOP, D.; ROESSNER, U.; BACIC, A.; BONNETT, G. D. Changes in the sugarcane metabolome with stem development. Are they related to Sucrose Accumulation. **Plant Cell Physiol**, v. 48, n. 4, p. 573–584, 2007.

GUPTA, J.; AGARWAL, M.; DALAI, A. K. Experimental evaluation of the catalytic efficiency of calcium based natural and modified catalyst for biodiesel synthesis.

International Journal of Green Energy, v. 14, p. 878-888, 2017.

GUPTA, G.; SIDDIQUI, M. A.; KHAN, M. M.; AJMAL, M.; AHSAN, R.; RAHAMAN, M. A.; AHMAD, M. A.; ARSHAD, M.; KHUSHTAR, M. Current Pharmacological Trends on Myricetin. **Drug Research**, v. 70, p. 448-454, 2020.

GU, L.; LI, Z.; ZHANG, X.; CHEN, M.; ZHANG, X. Identification of MAP Kinase Kinase 3 as a protein target of myricetin in non-small cell lung cancer cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 161, 114460, 2023.

HWANG, S. H.; ZUO, G.; WANG, Z.; LIM, S. S. Novel aldose reductase inhibitory and antioxidant chlorogenic acid derivatives obtained by heat treatment of chlorogenic acid and amino acids. **Food Chemistry**, v. 266, p. 449-457, 2018.

HERRERA, A.; FERNANDO, O.; CÁRCAMO, G.; ANTONIO, R.; ARRUÉ, R.; CARLOS, J. Generation of color in the sugar production process: Manufacturing process. p. 1-10, 2015.

HORWITZ, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies. **Pure and Applied Chemistry**, v. 67, p. 331-343, 1995.

HOU, N.; LIU, N.; HAN, J.; YAN, Y.; LI, J. Chlorogenic acid induces reactive oxygen species generation and inhibits the viability of human colon cancer cells. **Anti-Cancer Drugs**, v. 28, n. 1, p. 59-65, 2017.

IBRAHIM, A. S.; GAD, A. N.; DARDEER, H. M.; GABER, A. A. M. Chitosan-cellulose nanocomposite: Preparation, characterization, and evaluation as cationic color precipitant in sugar clarification process. **Food Chemistry**, v. 415, 135603, 2023.

IBRAHIM, M. M. N.; SRIPRASANATHI, R. B.; SHAMSUDEEN, S.; ADAM, F.; BHAWANI, S. A. A concise review of the natural existance, synthesis, properties, and applications of syringaldehyde. **BioResources**, v. 7, p. 4377-4399, 2012.

INTERNATIONAL COMMISSION FOR UNIFORM METHODS OF SUGAR ANALYSIS (ICUMSA). Method GS2/3-9: The determination of sugar solution colour at pH 7.0. Berlin, Germany: Bartens, 2005.

INTERNATIONAL COMMISSION FOR UNIFORM METHODS OF SUGAR ANALYSIS (ICUMSA). Method GS1/3-7: Determination of the Solution Colour of Raw Sugars, Brown Sugars and Coloured Syrups at pH 7.0 Berlin, Germany: Bartens, 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA.

INMETRO DOQ-CGCRE-008: Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos: Documento de caráter orientativo, 2016.

KIM, Y. S.; KIM, J.; KIM, K. M.; JUNG, D. H.; CHOI, S.; KIM, C. KIM, J. S. Myricetin inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced migration of retinal pericytes through phosphorylation of ERK1/2, FAK-1, and paxillin in vitro and in vivo. **Biochemical Pharmacology**, v. 93, p. 496-505, 2015.

KROH, L. Caramelisation in food and beverages. **Food Chemistry**, v. 51, p. 373-379, 1994.

LARRAHONDO, J. E.; ORDOÑEZ, S. P. **Flavonoides de la caña de azúcar**. Serie técnica química azucarera, 2014.

KONG, F.; YU, S.; ZENG, F.; WU, X. Preparation of Antioxidant and Evaluation of the Antioxidant Activities of Antioxidants Extracted From Sugarcane Products. **Journal of Food and Nutrition Research**. v. 3, n. 7, p. 458-463, 2015.

KRÓL, K.; Gantner, M.; Tatarak, A.; Hallmann, E. The content of polyphenols in coffee beans as roasting, origin and storage effect. **European Food Research and Technology**, v. 246, n. 1, p. 33-39, 2020.

KUSTER, R. M.; ROCHA, L. M. Cumarinas, cromonas e xantonas. In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org). Farmacognosia, da planta ao medicamento. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2010.

LEITE, M. R.; ZANETTA, D. M. T.; TREVISAN, I. B.; BURDMANN, E. A. SANTOS, U. P. O trabalho no corte de cana-de-açúcar, riscos e efeitos na saúde: revisão da literatura. **Revista Saúde Pública**, v. 52, p. 1-15, 2018.

LI, H.; GUO, A.; WANG, H. Mechanisms of oxidative browning of wine. **Food Chemistry**, v. 108, p. 1-13, 2008.

- LI, N.; ZHANG, K.; DONG, X.; XU, Y.; TAN, Z.; CAO, G.; LIU, X.; ZHOU, D.; LI, D. Modification of the structure and function of myofibrillar protein by structurally relevant natural phenolic compounds. **Food Bioscience**, v. 53, 102676, 2023.
- LI, W.; Ling, G.-Q.; Shi, C.-R.; Li, K.; Lu, H.-Q.; Hang, F.-X.; Zhang, Y.; Xie, C-F.; Lu, D-J.; Li, H. Pilot demonstration of ceramic membrane ultrafiltration of sugarcane juice for raw sugar production. **Sugar Technology**, v. 19, p. 83–88, 2017.
- LIMA, R. R.; AGUIAR, C. L.; GALAVERNA, R.; BAPTISTA, A. S.; EBERLIN, M. N.; ARTUR, V. Sucrose and color profiles in sugarcane (*Saccharum sp.*) juice analyzed by UFLC-ELSD and Synapt High-Definition Mass Spectrometry during radiation treatment. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 121, p. 99-105, 2016.
- LIONNET, G. R. E. Impurity transfer rate during the crystallisation of sucrose. **Proceedings South African Sugar Technologist's Association**, v. 72, p. 261-269, 1998.
- LIU, Z. Q. What about the progress in the synthesis of flavonoid from 2020? **European Journal of Medicinal Chemistry**, 243, 114671, 2022.
- LOBO, V. S.; MALIKOSKY, M.; LOPES, A.; GONÇALVES, A. R.; AGUIAR, C. M.; ROSA, M. F. Quantificação de flavonoides totais da *Eruca vesicaria* (L.) Cav. cultivada de forma hidropônica na região oeste do Paraná. **Revista Fitos**, v. 15, supl 1, p. 79-92, 2022.
- LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S. Flavonoides. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 3, n. 14, p. 18-22, 2000.
- LOPES, C. H. **Tecnologia de produção de açúcar de cana**. São Carlos: EdUFSCAR, 183 p., 2011.
- LORIGOOINI, Z.; JAMSHIDI-KIA, F.; HOSSEINI, Z. Chapter 4 - Analysis of aromatic acids (phenolic acids and hydroxycinnamic acids). **Recent Advances in Natural Products Analysis**, p. 199-209, 2020.
- MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.
- MADRITCH, M. D.; LINDROTH, R. L. Condensed tannins increase nitrogen recovery by trees following insect defoliation. **New Phytologist**, v. 208, p. 410-420, 2015.

- MANDRO, J. L.; BRAGA, N. L. L.; CATELAN, M. G.; BAPTISTA, A. S.; SARTORI, J. A. S.; CORRÊA, N. T.; ROCHA, A. L. B.; LIMA, R. B.; AGUIAR, C. L. Degradação de rutina em sistemas-modelo de caldo de cana-de-açúcar pela ação de peróxido de hidrogênio. **Revista de química industrial**, v. 747, p. 28-33, 2015.
- MANARIM, G. R.; AGUIAR, C. L. Removal of Pigments from Sugarcane Cells by Adsorbent Chromatographic Column. **Annals of Chromatography and Separation Techniques**, v. 2, n. 1, 1015, 2016.
- MANCUSO, C.; SANTANGELO, R. Ferulic acid: Pharmacological and toxicological aspects. **Food and Chemical Toxicology**, v. 65, p. 185-195, 2014.
- MARASINGHEGE, C.; BROADFOOT, R.; BOTTLE, S.; BARTLEY, J.; DOHERTY, W. O. S.; RACKEMANN, W. Investigation on the effect of the heating surface temperature of 1st evaporator on sucrose loss and the degradation of sugarcane juice constituents. **Journal of Food Engineering**, v. 329, 111074, 2022.
- MATTILA, P.; HELLSTRO, J.; TORRONEN, R. Phenolic Acids in Berries, Fruits, and Beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 7193–7199, 2006.
- MENA, P.; DOMÍNGUEZ-PERLES, R.; GIRONÉS-VILAPLANA, A.; BAENAS, N.; GARCÍA-VIGUERA, C.; VILLAÑO, D. Flavan-3-ols, anthocyanins, and inflammation. **IUBMB Life**, v. 66, p. 745-758, 2014.
- MERSAD, A.; LEWANDOWSKI, R.; HEYD, B.; DECLoux, M. Colorants in the sugar industry: Laboratory preparation and spectrometric analysis. **International Sugar Journal**, v. 105. p. 269-281, 2003.
- MIRANDA, M. B.; HORII, J.; ALCARDE, A. R. Estudo do efeito da irradiação gamma (^{60}Co) na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 772-778, 2006.
- MOHTAR, N. F.; PERERA, C. O.; HEMAR, Y. Chemical modification of New Zealand hoki (*Macruronus novaezelandiae*) skin gelatin and its Properties. **Food Chemistry**, v. 155, p. 54-73, 2014.
- MORILLA, C. H. G.; ALVES, L. R. A.; AGUIAR, C. L. Processos de clarificação de caldo de cana-de-açúcar por sulfitação: barreiras comerciais e impactos econômicos. **A Economia em Revista**, v. 24, p. 1-10, 2015.

MOTA, M. I. F.; PINTO, P. C. R.; LOUREIRO, J. M.; RODRIGUES, A. E. Recovery of Vanillin and Syringaldehyde from Lignin Oxidation: A Review of Separation and Purification Processes. **Separation & Purification Reviews**, v. 45, p. 227–259, 2016.

NAKANO, E.; KAMEI, D.; MURASE, R.; TAKI, I.; KARASAWA, K.; FUKUHARA, K.; IWAI, S. Anti-inflammatory effects of new catechin derivatives in a hapten-induced mouse contact dermatitis model. **European Journal of Pharmacology**, v. 845, p. 40-47, 2019.

NAM, S.H.; KO, J. A.; JUN, W.; WEE, W. J.; WALSH, M. K.; YANG, K. Y.; CHOI, J. H.; EUN, J. B.; CHOI, J.; KIM, Y. M. HAN, S.; NGUYEN, T. T. H.; KIM, D. Enzymatic synthesis of chlorogenic acid glucoside using dextransucrase and its physical and functional properties. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 107, p. 15-21, 2017.

NEALDO, C. Exportação de açúcar cresce 25,5% e atinge R\$ 1,7 bilhão. *Jornal Gazeta de Alagoas*. Maceió, nov de 2022. Disponível em:

<<https://d.gazetadealagoas.com.br/economia/392301/exportacao-de-acucar-cresce-255-e-atinge-r-17-bilhao>>. Acesso em: 15 jan. 2023.

NEIVA, T. J. C.; MACHADOI, M. J.; HOEHN, M.; HERMES, M. E.; VITURI, C. L.; FERREIRA, J. S.; D'AMICO, E. A. Evaluation of platelet aggregation in platelet concentrates: storage implications. Efeito das catequinas (catequina e epicatequina) na agregação plaquetária. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 25, p. 207-212, 2003.

NGUYEN, D. M. T.; DOHERTY, W. O. S. Phenolics in sugar cane juice: potential degradation by hydrogen peroxide and Fenton's reagent. **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technology**, v. 33, p. 1-10, 2011.

OGANDO, F. I. B.; AGUIARA, C. L.; VIOTTOA, J. V. N.; HEREDIAB, F. J.; HERNANZC, D. Removal of phenolic, turbidity and color in sugarcane juice by electrocoagulation as a sulfur-free process. **Food Research International**, v. 122, p. 643-652, 2019.

OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, v. 34, n. 6, 1051-1056, 2011.

OLIVEIRA, T. O.; ESQUIAVETO, M. M. M.; JÚNIOR, J. F. S. Sugar specification parameters and their impact on the food industry. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 99-102, 2007.

OLIVEIRA, R. A.; DAROS, E.; HOFFMANN, H. P. Liberação nacional de variedades RB de cana-de-açúcar. 1. Ed. 72 p. Curitiba: Graciosa, 2021.

OLIVEIRA, F. C. **Oxidação de lignina proveniente de resíduos lignocelulósicos industriais para obtenção de compostos químicos aromáticos de maior valor agregado.** 199 p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de conversão de Biomassa, Universidade de São Paulo. Lorena, 2015.

ORDOÑEZ, S. P. **Implementación de um método analítico rápido de extracción y análisis cuantitativo de flavonoides y fenoles totales en variedades de caña de azúcar.** 104 p. Tese (Doutorado) – Universidad de Valle, Cali – Colômbia, 2009.

PACHECO, M. D.; CHRISTIAN, J. I.; FENG, B. Study of Maillard Reaction Inhibitors for the Sugar Cane Processing. **American Journal of Food Technology**, v. 7. p. 470-478, 2012.

PATON N. H.; COWAGE, R. J. Colour forming mechanisms during mill processing. **Australian Society of Sugar Cane Technologists**, p. 11-20, 1987.

PATON, N. H. The origin of colour in raw sugar. **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologists**, Vol. 14, p. 8-17, 1992.

PAYET, B.; SING, A. S. C.; SMADJA, J. Assessment of antioxidant activity of cane brown sugars by ABTS and DPPH radical scavenging assays: determination of their polyphenolic and volatile constituents. **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 53, p. 10074-10079, 2005.

PAYET, B.; SING, A. S. C.; SMADJA, J. Comparison of the concentrations of phenolic constituents in cane sugar manufacturing products with their antioxidant activities. **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 54, p. 7270-7276, 2006.

PAYNE, J.H. **Operações unitárias na produção de açúcar de cana**, Tradução Florenal Zarpelon. São Paulo: Nobel S.A., 1989.

PEREIRA, S. C.; MAEHARA, L.; MACHADO, C. M. M.; FARINAS, C. S. 2G ethanol from the whole sugarcane lignocellulosic. **Biotechnology for Biofuels**, v. 8, n. 44, 2015.

PETERSON, J.; DWYER J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, v. 18, n. 12, p. 1995-2018, 1998.

PINTO, PP. C. R.; COSTA, C. E.; RODRIGUES, A. E. Oxidation of Lignin from Eucalyptus globulus pulping liquors to produce pyringaldehyde and vanillin. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 52, p. 4421-4428, 2013.

PRABAWATI, S. Y.; ISKANDAR, D.; SUCI, L. C. The Synthesis and Evaluation of Vanillin derivatives as the Fruit Fly Attractant. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 34, p. 2197–2202, 2018.

QUDSIEH, H. Y. M.; YUSOF, S.; OSMAN, A.; RAHMAN, R. A. Effect of maturity on chlorophyll, tannin, color, and polyphenol Oxidase (PPO) Activity of Sugarcane Juice (*saccharum officinarum* var. yellow cane). **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 50, p. 1615-1618, 2002.

RAVBER, M.; PECAR, D.; GORSEK, A.; ISKRA, J.; KNEZ, E.; SKERGET, M. Hydrothermal degradation of rutin: identification of degradation products and kinetics study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, p. 9196-9202, 2016.

RADEBE, N.; RODE, K.; PIZZI, A.; PASCH, H. Microstructure elucidation of polyflavonoid tannins by MALDI-TOF-CID. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 127, p. 1937-1950, 2013.

REIN, P. **Cane Sugar Engineering**. 2ed. Berlin:Bartens, 2012.

REIS, A. J. S. O melhoramento genético e a expansão da cana-de-açúcar no bioma Cerrado. **Revista UFG**, p. 14-17, 2009.

RENCORET, J.; KIM, H.; EVARISTO, A. B.; GUTIÉRREZ, A.; RALPH, J.; RÍO, J. C. Variability in Lignin Composition and Structure in Cell Walls of Different Parts of Macaúba (*Acrocomia aculeata*) Palm Fruit. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 66, p. 138-156, 2018.

RENCORET, J.; MARQUES, G; ROSADO, M. J.; BENITO, J.; BARRO, F.; GUTIÉRREZ, A; RÍO, J. C. Variations in the composition and structure of the lignins of oat (*Avena sativa* L.) straws according to variety and planting season. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 242, 124811, 2023.

RIDESA. Censo varietal de cana-de-açúcar – Safra 2017/2018. Estado: Alagoas, 2018.

Disponível em:

https://docs.wixstatic.com/ugd/097ffc_56fabe900b8f4c3686632ef864c2866d.pdf. Acesso em 11 de jan. de 2020.

ROCHA, G. J. M.; MARTIN, C.; SOARES, I. B.; MAIOR, A. M. S.; BAUDEL, H. M.; ABREU, C. A. M. Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production. Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 663-670, 2011.

RODRIGUES, N. P.; BROCHIER, B.; MEDEIROS, J. K.; MARCZAK, L. D. F.; MERCALI, G. D. Phenolic profile of sugarcane juice: Effects of harvest season and processing by ohmic heating and ultrasound. **Food Chemistry**, 347, 129058, 2021.

SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. **Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e etanol: tecnologias e perspectivas**. 2^a ed. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2011.

SARTORI, J. A. S.; ANGOLINI, C. F. F.; EBERLIN, M. N.; AGUIAR, C. L. Criegee Mechanism as a Safe Pathway of Color Reduction in Sugarcane Juice by Ozonation. **Food Chemistry**, v. 225, p. 181–187, 2017.

SARTORI, J. A. S.; ANGOLINI, C. F. F.; EBERLIN, M. N.; AGUIAR, C. L. Reactions Involved in Phenolics Degradation from Sugarcane Juice Treated by Ozone. **OZONE: SCIENCE & ENGINEERING**, v. 41, p. 369-375, 2019.

SHAH, S. Some key principles for the design of Robert evaporators. **International Sugar Journal**, v. 116, p. 838-847, 2014.

SHAHEEN, S.; SHORBAGI, M.; LORENZO, J. M.; FARAG, M. A. Dissecting dietary melanoidins: formation mechanisms, gut interactions and functional Properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-18, 2021.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in Food and Nutraceuticals**. CRC Press LLC, 2006.

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

SILVA, V. F. N. ARRUDA, P. V.; FELIPE, M. G. A.; GONÇALVES, A. R.; ROCHA, G. J. M. Fermentation of cellulosic hydrolysates obtained by enzymatic saccharification of sugarcane bagasse pretreated by hydrothermal processing. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, p. 809-817, 2011.

SILVA, P. D. **Determinação de compostos fenólicos por HPLC**. 136p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Química Industrial. Universidade da Beira Interior. Covilhã, 2012.

- SILVA, T. R. F. B.; ALMEIDA, A. C. S.; MOURA, T. L.; SILVA, A. R.; FREITAS, S. S.; JESUS, F. G. Effect of the flavonoid rutin on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, p. 165-170, 2016.
- SILVA, D. R. C. **Síntese de cumarinas: estudo sobre a reação de substituição de fenóis por modelagem molecular**. 161p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais, Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campo dos Goytacazes, 2016.
- SIMIONI, K. R.; SILVA, L. F. L. F.; BARBOSA, V.; RÉ, F. E.; BERNARDINO, C. D.; LOPES, M. L.; AMORIM, H. V. Efeito da variedade e época de colheita no teor de fenóis totais em cana-de-açúcar. **Revista STAB**, v. 24, n. 3, p.36-39, 2006.
- SINGH, S.; ARTHUR, R.; UPADHAYAY, S.; KUMAR, P. Ferulic acid ameliorates neurodegeneration via the Nrf2/ARE signalling pathway: A Review. **Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine**, v. 5, 100190, 2022.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.
- SONG, X.; CHAI, Z.; ZHU, Y.; LI, C.; LIANG, X. Preparation and characterization of magnetic chitosan-modified diatomite for the removal of gallic acid and caffeic acid from sugar solution. **Carbohydrate Polymers**, v. 219, p. 316-327, 2019.
- SOUZA, R. F. V.; GIOVANI, W. F. Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. **Redox Report**. v. 9, n. 1, p. 97-104, 2004.
- SOUZA, S. V. C.; JUNQUEIRA, R. G. A procedure to assess linearity by ordinary least squares method. **Analytica Chimica Acta**, v. 552, n. 1-2, p. 25-35, 2005.
- SOUZA, S. V. C. **Procedimento para validação intralaboratorial de métodos de ensaio: delineamento e aplicabilidade e análises de alimentos**. 297p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2007.
- SRIDHAR, O.; ARAUJO, J. D.; RODRIGUES, A. E. Modeling of vanillin production in a structured bubble column reactor. **Catalysis Today**, v. 105, p. 574–581, 2005.
- STRAUCH, R. C.; MENGIST, M. F.; PAN, K.; YOUSEF, G. G.; IORIZZO, M.; BROWN, A. F.; LILA, M. Variation in anthocyanin profiles of 27 genotypes of red cabbage over two growing seasons. **Food Chemistry**, v. 301, 125289, 2019.

SZWAJGIER, D.; BOROWIEC, K.; PUSTELNIAK, K. The Neuroprotective Effects of Phenolic Acids: Molecular Mechanism of Action. **Nutrients**, v. 9, 477, 2017.

TARAFDAR, A.; KAUR, B. P. Sedimentation rate of microfluidized sugarcane juice. **LWT**, v. 145, 111317, 2021.

THAMAPHAT, K.; GOODMAN, B. A.; LIMSUWAN, P.; SMITH, S. M. Rapid screening for anthocyanins in cane sugars using ESR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 171, p. 123-127, 2015.

TOLEDO, A. V.; FRANCO, M. E. E.; LOPEZ, S. M. Y.; TRONCOZO, M. I.; BALATT, P. A. Melanins in fungi: Types, localization and putative biological roles. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 99. p. 2-6, 2017.

TOHGE, T.; WATANABE, M.; HOEFGEN, R.; FERNIE, A. R. The evolution of phenylpropanoid metabolism in the green lineage. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 48(2), p. 123-152, 2013.

TROMBETA, N. C.; CAIXETA, J. V. Potencial e disponibilidade de biomassa de cana-de-açúcar na região centro-sul do Brasil: indicadores agroindustriais. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 55. p. 479-496, 2017.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. Foreign Agricultural Service. 2021. Disponível em:

https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Sugar%20Annual_Sao%20Paulo%20ATO_Brazil_04-15-2021.pdf. Acesso em: 20 jan. 2023.

VALDAMERI, G. **Efeitos da flavona sobre o metabolismo mitocondrial**. 75p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências – Bioquímica. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008.

VALLI, V.; GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; NUNZIO, M.; DANESI, F.; Maria Fiorenza CARBONI, M. F.; BORDONI, A. Sugar cane and sugar beet molasses, antioxidant-rich alternatives to Refined Sugar. **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 60, p. 12508-12515, 2012.

XU, X.; LI, P.; ZHONG, Y.; YU, J.; MIAO, C.; TONG, G. Review on the oxidative catalysis methods of converting lignin into vanillin. **International Journal of Biological Macromolecules**, 243, 125203, 2023.

ZHANG, H.; LUO, J.; LIO, L.; CHEN, X.; WAN, Y. Green production of sugar by membrane technology: how far is it from industrialization? **Green Chemical Engineering**, v. 2, n.1, p. 27-43, 2021.

ZHENG, T.; TANG, P.; LI, G. Development of composite film based on collagen and phenolic acid-grafted chitosan for food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 241, 124494, 2023.

WANG, H.; SUN, S.; ZHOU, Z.; QIU, Z.; CUI, X. Rapid analysis of anthocyanin and its structural modifications in fresh tomato fruit. **Food Chemistry**, v. 333, 127439, 2020.

WANG, H. Y.; QUIAN, E.; YAO, W. R. Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. **Food Chemistry**, v. 128 n. 3, p. 573-584, 2011.

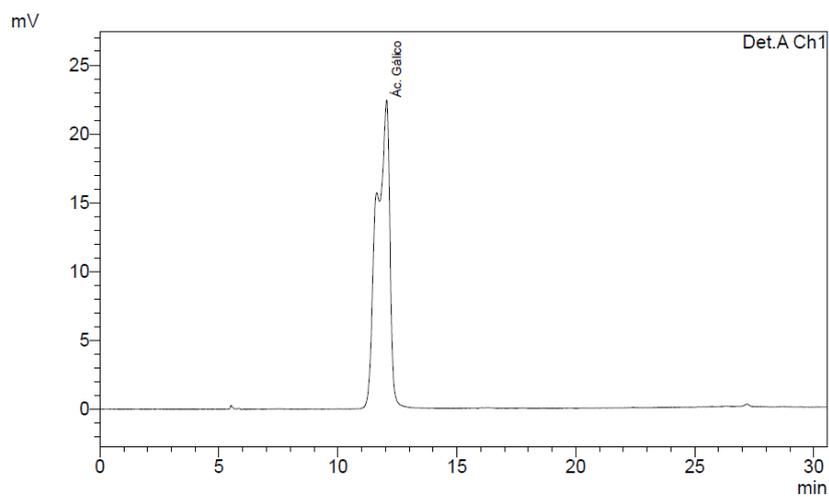
WANG, M.; FIRRMAN, J.; LIU, L.; YAM, K. A review on flavonoid apigenin: dietary intake, ADME, antimicrobial effects, and interactions with human gut microbiota. **BioMed Research International**. p. 1-18, 2019.

WIANOWSKA, D. Application of Sea Sand Disruption Method for HPLC Determination of Quercetin in Plants. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**. v. 38, p. 1037–1043, 2015.

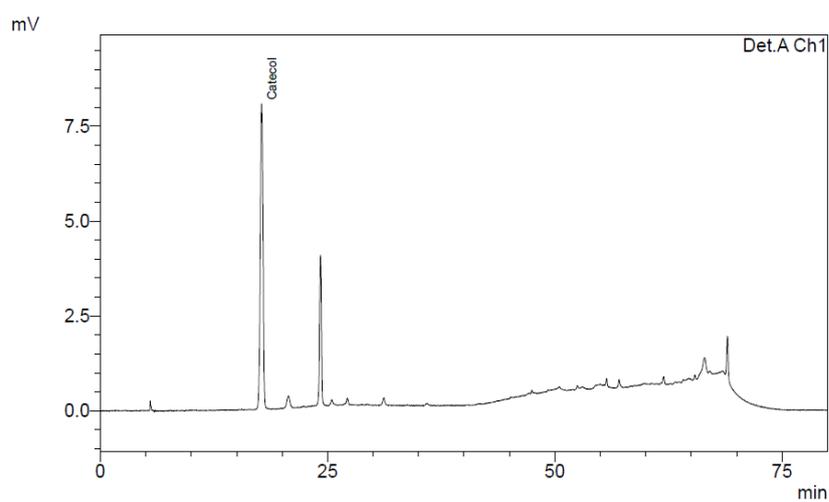
YADAV, R.; SAINI, D.; YADAV, D. Synthesis and Evaluation of Vanillin Derivatives as Antimicrobial Agents. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 15, p. 57-62, 2018.

APÊNDICE A – CROMATOGRAMAS DAS SOLUÇÕES PADRÃO (10 mg/L) DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

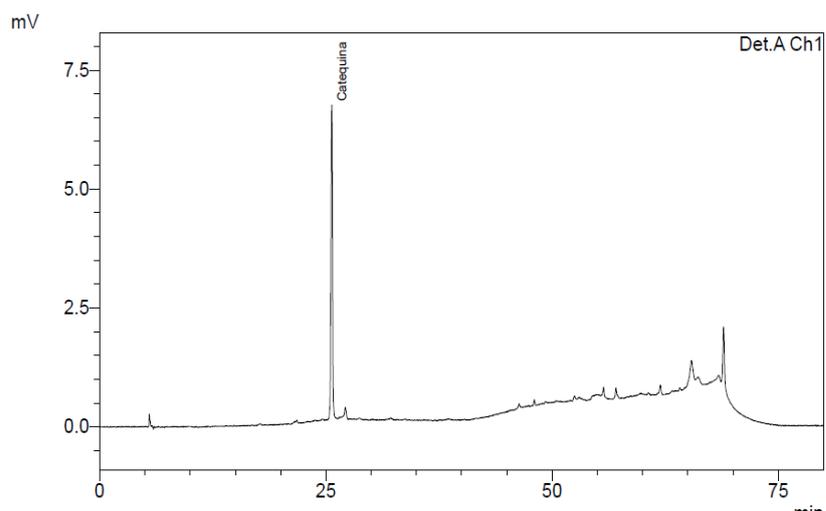
- Ácido gálico



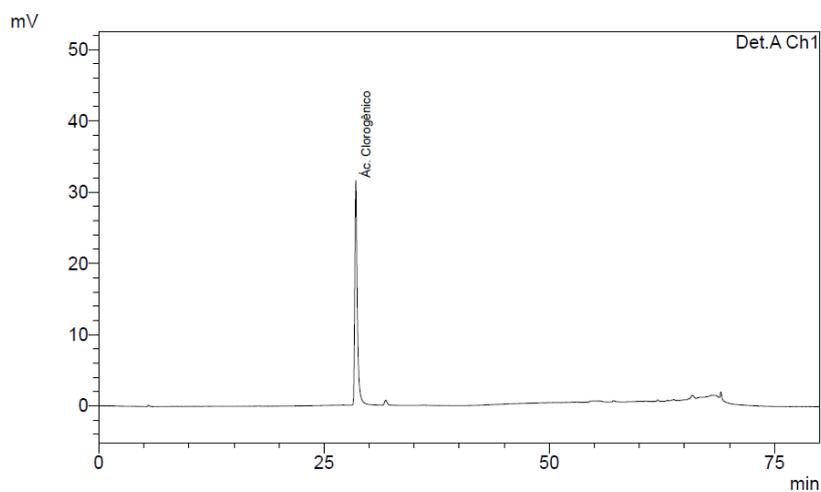
- Catecol



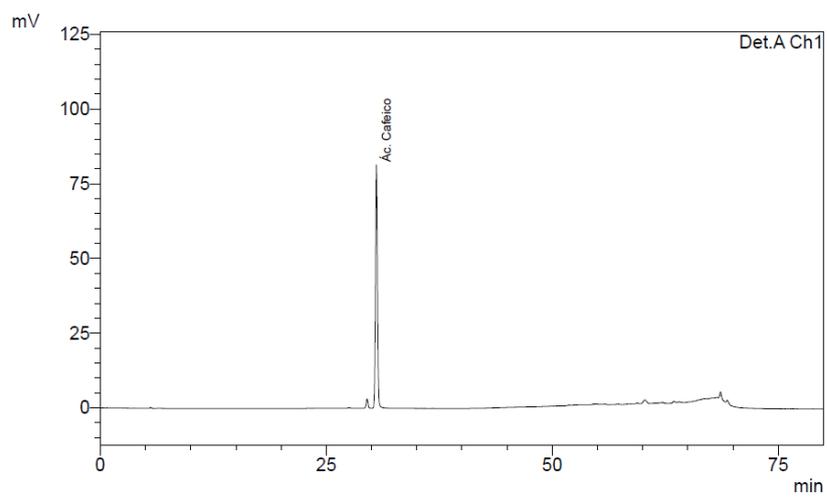
- Catequina



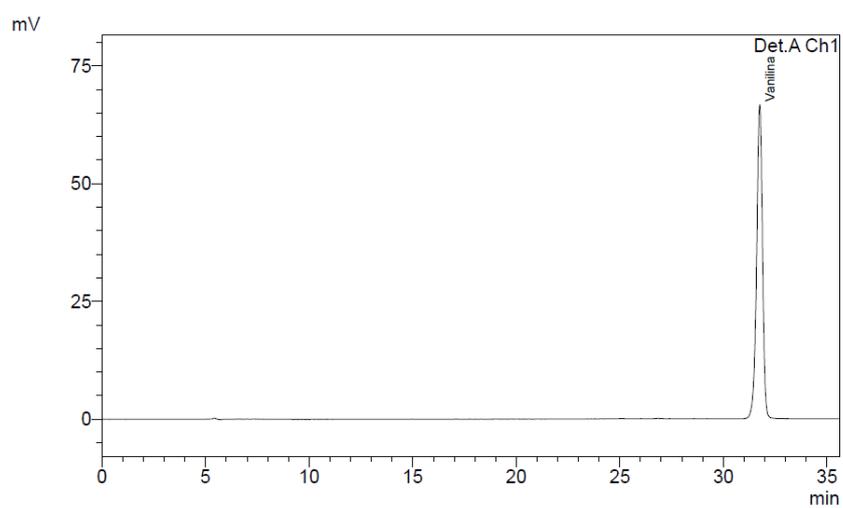
- Ácido clorogênico



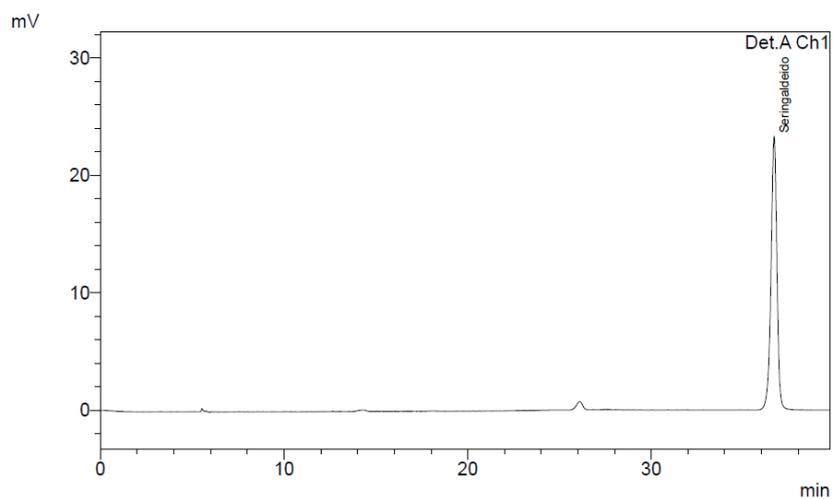
- Ácido cafeico



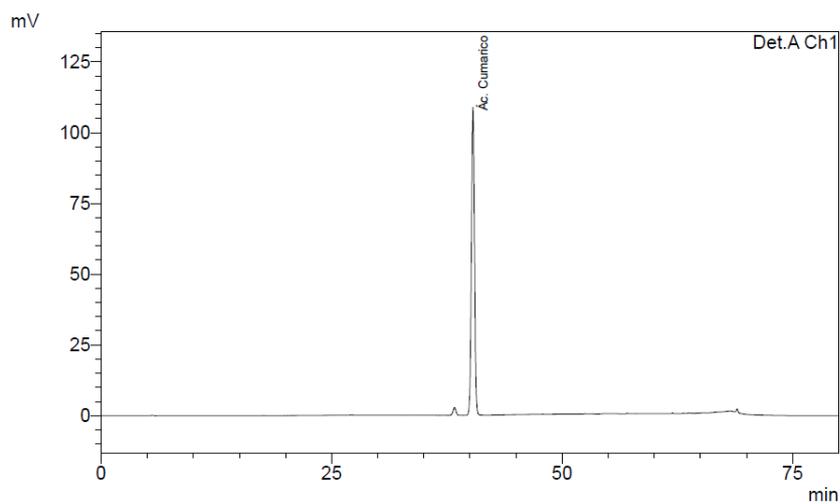
- Vanilina



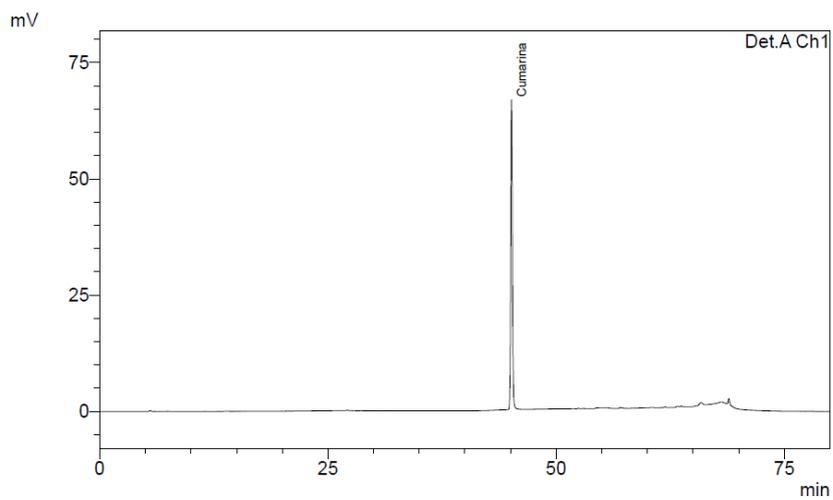
- Siringaldeído



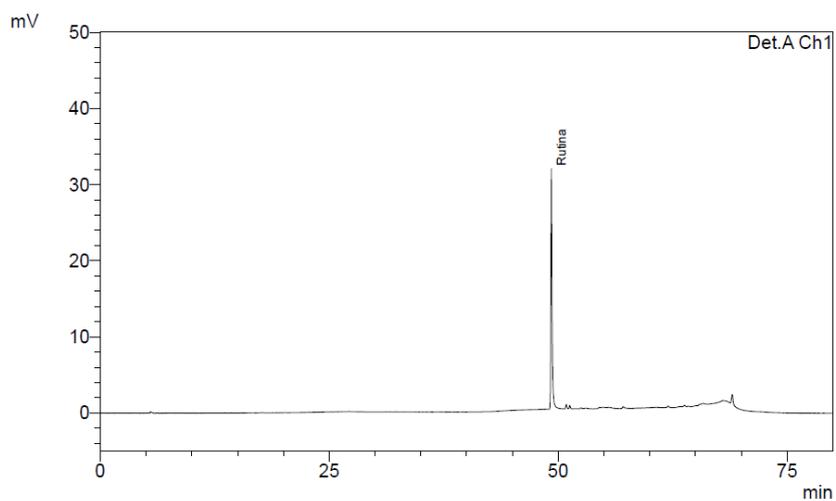
- Ácido p-cumárico



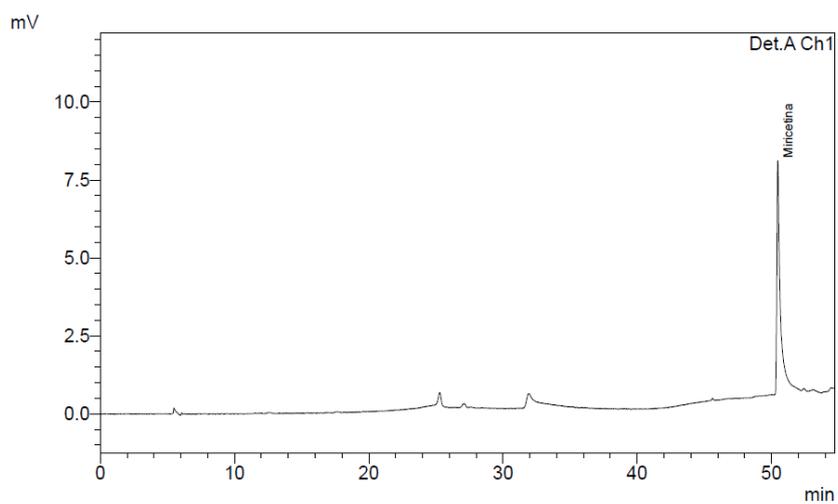
- Cumarina



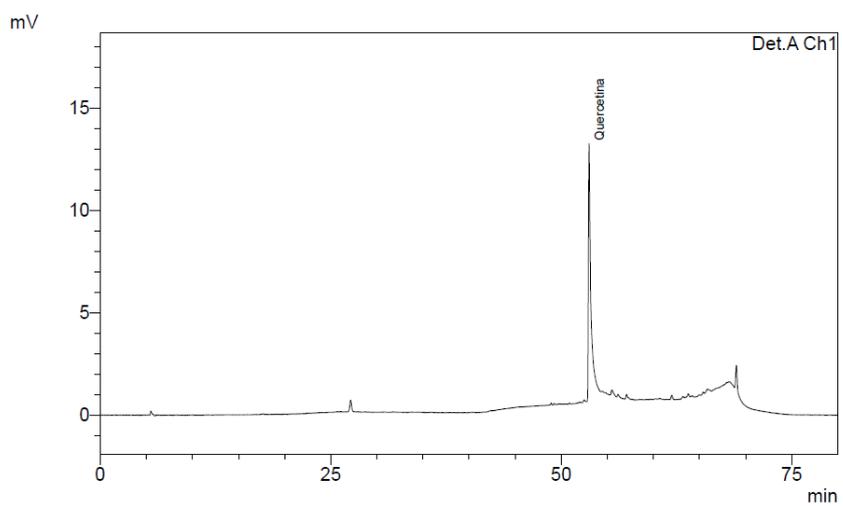
- Rutina



- Miricetina

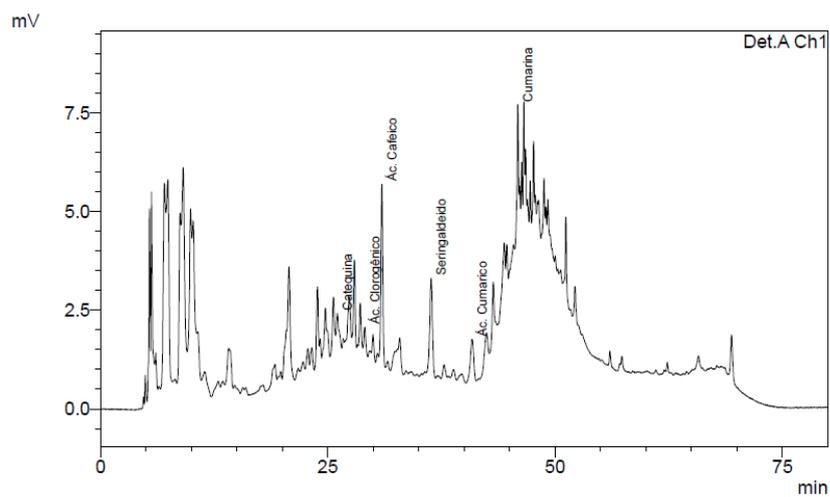


- Quercetina

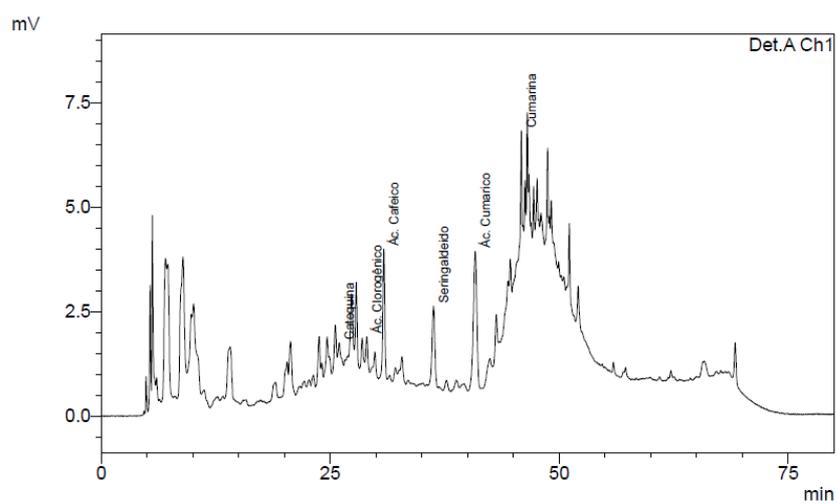


APÊNDICE B – CROMATOGRAMAS DOS PRODUTOS DAS ETAPAS DE FABRICAÇÃO DE AÇÚCAR

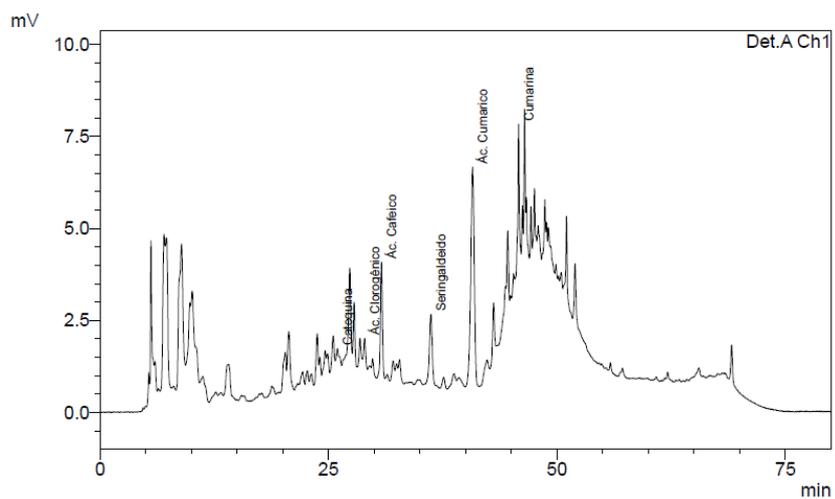
- Caldo cru



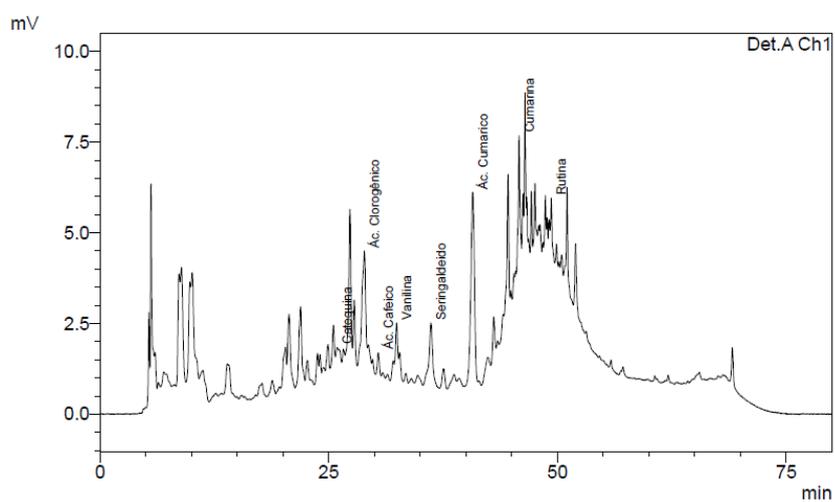
- Caldo misto



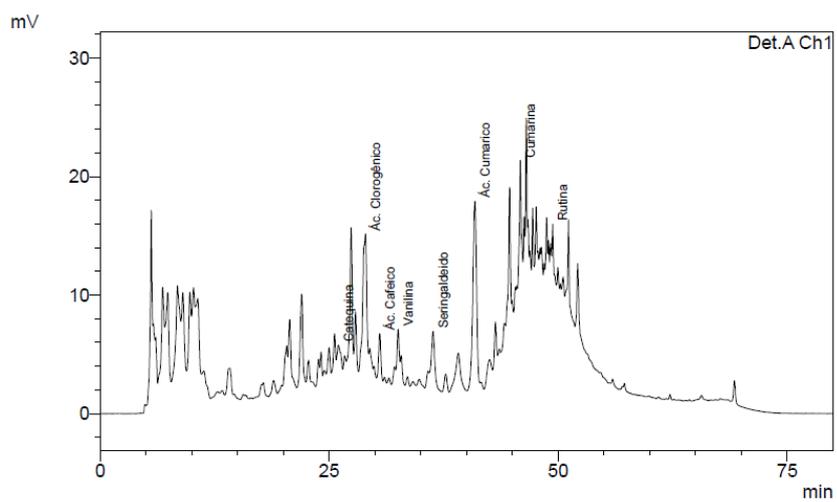
- Caldo caledado



- Caldo clarificado



- Xarope



- Massa cozida

