

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS  
TERMOGRAVIMÉTRICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM  
ALIMENTOS RICOS EM AÇÚCARES**

**GUARAPUAVA - PR**

**2015**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE - UNICENTRO**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS  
TERMOGRAVIMÉTRICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM  
ALIMENTOS RICOS EM AÇÚCARES**

**Tese de Doutorado**

**Giseli Ducat**

**GUARAPUAVA - PR**

**2015**

**GISELI DUCAT**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS  
TERMOGRAVIMÉTRICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM  
ALIMENTOS RICOS DE AÇÚCARES**

Tese apresentada sob orientação da prof<sup>a</sup>. Dra. Sueli Pércio Quináia, e sob co-orientação da prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Lurdes Felsner, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Química, pelo Programa de Pós-Graduação em Química – Curso de Doutorado em Química – Ampla Associação UEL/UEPG/UNICENTRO.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Sueli Pércio Quináia

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Lurdes Felsner

**GUARAPUAVA - PR**

**2015**

***Dedico este trabalho a minha  
filha Sophia Laura D. Mudryk.***

## AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora por ter me concedido a graça de concluir mais uma etapa de estudos em minha vida.

Ao meu esposo Maurício Mudryk por ser um companheiro compreensível e dedicado e que sempre me apoiou e incentivou.

Aos meus pais Lindamir e Eduardo, a minha irmã Edelita que sempre me incentivaram e acreditaram no meu trabalho.

As minhas queridas orientadoras Dr<sup>a</sup>. Sueli P. Quináia e Dr<sup>a</sup>. Maria L. Felsner pela orientação, dedicação, amizade e profissionalismo com que conduziram este trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química – Curso de Doutorado em Química – Ampla Associação UEL/UEPG/UNICENTRO e seus professores pelos ensinamentos.

A UNICENTRO pelas instalações para realização do trabalho.

A UTFPR-Curitiba e ao professor Dr. Pedro R. da Costa Neto pela atenção e empréstimo de equipamento para que este trabalho fosse realizado.

Aos professores Claudio H. Lopes e Dr<sup>a</sup>. Maria T. M.R. Borges da Universidade Federal de São Carlos pela ajuda na realização de experimentos.

A todos os meus amigos e colegas do LabGati, Jucimara K. de Andrade, Camila K. de Andrade, Adrilene S. Adriano, Tânia Palhano, Fauller F. Barrionuevo, Mariane Butik, Marieli Ferreira pela contribuição e ajuda nas etapas deste trabalho.

Aos colegas do Labmat.

À CAPES, pelo financiamento concedido neste estudo.

## RESUMO

A maioria dos alimentos industrializados apresenta água em sua composição química, e dependendo do teor de água existente no mesmo, a sua qualidade poderá ficar comprometida. O tempo de prateleira de um produto alimentício pode ser reduzido consideravelmente devido ao excesso de umidade e do uso de embalagens permeáveis à luz e ao oxigênio. Portanto, a determinação de umidade em um alimento é extremamente importante, no entanto, até o momento não existe um método universal que seja ao mesmo tempo exato e preciso para os diferentes tipos de alimentos. Esse fato se deve as dificuldades observadas na separação incompleta da água dos outros componentes constituintes do alimento. Este trabalho, apresenta a otimização e a validação de metodologias termogravimétricas para a determinação do teor de água em alimentos ricos em açúcares, como o açúcar mascavo, o melado de cana, o xarope, o suco e geleia de frutas. Cada um desses alimentos apresenta uma característica específica que demanda de cuidados especiais na determinação do teor de água. Para o açúcar mascavo as condições termogravimétricas ideais de secagem foram: razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ; uso de porta amostra de alumina, atmosfera dinâmica de ar ( $50\text{ mL min}^{-1}$ ) e  $5,0\text{ mg}$  de amostra. A metodologia proposta apresentou exatidão e precisão adequadas. Já os dados do estudo de validação do método oficial (secagem em estufa) para o açúcar mascavo demonstrou que a sua precisão é comparável com a termogravimetria e a titulação de Karl Fischer, porém a sua exatidão é afetada por erros sistemáticos cuja magnitude depende da composição química do açúcar mascavo. Os resultados dos estudos de otimização realizados pelo planejamento fatorial para o melado de cana sugerem que a razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e o uso de papel de fibra de vidro são mais adequados para a secagem termogravimétrica deste tipo de alimento. Essas condições fornecem uma melhor transferência de calor na amostra durante a secagem, minimizando a influência das reações de degradação na remoção da água contida no alimento e conseqüentemente a formação de crosta que inserem erros sistemáticos neste tipo de determinação. Foi realizada também a aplicação da termogravimetria em modo isotérmico para o desenvolvimento de um novo método de secagem em estufa para o melado de cana, o qual apresentou exatidão e precisão quando comparado ao método de titulação de Karl Fischer. As amostras de xarope foram as mais sensíveis com relação ao uso do papel de fibra de vidro e a razão de aquecimento, pois não foi possível analisá-las na razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e sem o uso do papel. Foi ainda necessário diminuir a massa geralmente utilizada de  $5,0\text{ mg}$  para  $3,0\text{ mg}$  para minimizar o efeito de borbulhamento da amostra e conseqüente projeção do cadinho para dentro do forno TG/DTA. Os resultados dos estudos de otimização realizados pelo planejamento fatorial sugerem que a razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e o uso de papel de fibra de vidro são mais adequados para a secagem termogravimétrica das amostras de produtos de frutas processados. Essas condições fornecem uma melhor transferência de calor na amostra durante a secagem, minimizando a influência das reações de degradação na remoção de água. O estudo de validação demonstrou por diferentes técnicas estatísticas (teste-*t* e teste-*F*) que a termogravimetria mostrou exatidão e precisão adequadas para a determinação do teor de água nos alimentos investigados, pois não foram observados erros sistemáticos e aleatórios significativos com relação ao método de titulação de Karl Fischer utilizado neste trabalho como método de referência. O uso da termogravimetria para a determinação dos teores de água nestes alimentos pode ser vantajosa em relação aos outros métodos, pois essa metodologia não utiliza reagentes caros ou solventes tóxicos dispensando preparo da amostra. Além disso, a termogravimetria permitiu a identificação da faixa de temperatura em que a água é eliminada e a obtenção de informações sobre a estabilidade e o perfil de degradação.

**Palavras-chave:** teor de água, termogravimetria, validação de métodos, açúcar mascavo, melado de cana, xarope, suco e geleia de frutas.

## ABSTRACT

The most of processed food has water in its chemical composition, and depending on the water content in it, its quality may be compromised. The shelf life of a food product can be significantly reduced due to the presence of excess moisture and permeable packaging for light and oxygen. Therefore, moisture analysis in a food is extremely important, however, to date there is no universal method that is both accurate and precision for different types of food. This fact is due to the difficulties encountered in incomplete separation from the other constituent components of food. This paper presents the optimization and validation of thermogravimetric methods for determining the water content in foods rich in sugars, such as brown sugar, molasses syrup, syrup, fruit juice and fruit jelly. Each of these foods has a specific characteristic which requires special care in determining the water content. To the brown sugar thermogravimetric ideal drying conditions were: heating rates  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ; alumina sample holder, dynamic atmosphere of air ( $50\text{ ml min}^{-1}$ ) and 5.0 mg of sample. The proposed method showed adequate accuracy and precision. Since the data of the official method validation study (loss on drying) to the brown sugar showed that its precision is comparable with thermogravimetry and Karl Fischer titration, but its accuracy is affected by systematic errors whose magnitude depends on the chemical composition of brown sugar. The results of optimization study by the factorial design for the molasses syrup suggest that heating rates of  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  and the use of glass fiber paper are more suitable for this type of food. These conditions provide better heat transfer in the sample during drying, minimizing the influence of degradation reactions on water content removal contained in the food and consequently the effect of case hardening that insert systematic errors in this type of determination. It also performed the application of isothermal thermogravimetric to the development of a new method of loss on drying for molasses syrup, which showed accuracy and precision as compared to the Karl Fischer titration method. The syrup samples were more sensitive with respect to use of glass fiber paper and the heating rate because it was not possible to analyze them at a heating rate of  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , and without the use of paper. It was also necessary to reduce the mass generally used from 5.0 mg to 3.0 mg to minimize the bubbling effect of the sample and consequent projection of the sample holder into the furnace TG/DTA. The results of the optimization by factorial design studies suggest that a heating rate of  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  and the use of glass fiber paper are more suitable for drying the samples thermogravimetric processed fruit products. These conditions provide better heat transfer in the sample during drying, minimizing the influence of degradation reactions in the water removal. The validation study demonstrated by different statistical techniques (t-test and F-test) that thermogravimetry showed adequate accuracy and precision for determining the water content in the investigated food, since they were not observed systematic errors and significant random with respect to the Karl Fischer titration method used in this work as reference method. The use of thermogravimetric analysis for the water content of these foods can be advantageous over other methods, because this method does not use toxic and costly reagents solvents and it does not need any sample preparation. Besides, it allows the identification of the range of temperatures at which water is eliminated and it gives information about the stability and degradation profile which can contribute to the optimization of production processes of these foods.

**Keywords:** water content, thermogravimetry, method validation, brown sugar, molasses syrup, syrup, juice and fruit jelly.

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>i</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>SUMÁRIO</b> .....	<b>iv</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>viii</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>xiii</b>
<b>LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS</b> .....	<b>xvi</b>
<b>CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
1.1 Introdução.....	18
1.2 Objetivos.....	20
1.2.1 Objetivo Geral .....	20
1.2.2 Objetivos Específicos .....	20
1.3 Referências.....	20
<b>CAPÍTULO 2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ÁGUA NOS ALIMENTOS E MÉTODOS PARA SUA DETERMINAÇÃO</b> .....	<b>23</b>
2.1 Água nos Alimentos .....	24
2.2 Métodos para Determinação de Água e Umidade em Alimentos .....	26
2.2.1 Métodos Diretos .....	27
2.2.1.1 Secagem em Estufa .....	27
2.2.1.2 Dessecação por Transferência de Água.....	30
2.2.1.3 Destilação .....	30
2.2.1.4 Titulação de Karl Fischer .....	32
2.2.1.5 Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTA) .....	34
2.2.2 Métodos Indiretos.....	38
2.2.2.1 Densimetria, Polarimetria, Refratometria e Medições Elétricas .	38
2.2.2.2 Atividade de Água.....	39
2.3 Referências.....	40
<b>CAPÍTULO 3. REAÇÃO DE MAILLARD E CAMELIZAÇÃO</b> .....	<b>43</b>
3.1 Reação de Maillard .....	44
3.2 Caramelização .....	45
3.3 Referências.....	45
<b>CAPÍTULO 4. AMOSTRAGEM</b> .....	<b>47</b>
4.1 Açúcar Mascavo .....	50
4.2 Melado de Cana .....	51
4.3 Xarope .....	52
4.4 Suco de Frutas .....	53
4.5 Geleia de frutas .....	56
4.6 Referências.....	59

<b>CAPÍTULO 5. OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM AÇÚCAR MASCAVO .....</b>	<b>61</b>
5.1 Caracterização Físico – Química de Açúcar Mascavo por Análise de Componentes Principais .....	64
5.1.1 Metodologia.....	64
5.1.1.1 Amostras .....	64
5.1.1.2 Análises Físico-Químicas .....	64
5.1.1.3 Determinação de Íons Metálicos.....	65
5.1.1.4 Análise de Componentes Principais das Características Físico-Químicas .....	65
5.1.2 Resultados e Discussão.....	66
5.2 Otimização e Validação da Termogravimetria para a Determinação de Água em Açúcar Mascavo .....	74
5.2.1 Materiais.....	74
5.2.2 Métodos .....	75
5.2.2.1 Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTA) .....	75
5.2.2.2 Determinação de Água por Titulação de Karl Fischer .....	75
5.2.2.3 Determinação de Umidade por Secagem em Estufa .....	75
5.2.2.4 Otimização do Método Termogravimétrico por Planejamento Fatorial.....	75
5.2.2.5 Validação dos Métodos Termogravimétrico e de Secagem em Estufa .....	76
5.2.3 Resultados e Discussão.....	77
5.2.3.1 Perfil Termogravimétrico de Secagem do Açúcar Mascavo .....	77
5.2.3.2 Estudo de Otimização do Método Termogravimétrico .....	82
5.2.3.3 Estudo de Validação do Método Termogravimétrico e de Estufa .....	86
5.3 CONCLUSÕES.....	90
5.4 Referências.....	92
<b>CAPÍTULO 6. OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM MELADO DE CANA .....</b>	<b>97</b>
6.1 Caracterização Físico – Química de Melado de Cana pela Análise de Componentes Principais .....	99
6.1.1 Metodologia.....	99
6.1.1.1 Amostras .....	99
6.1.1.2 Análises Físico-Químicas .....	99
6.1.1.3 Determinação de Íons Metálicos.....	100
6.1.1.4 Análise de Componentes Principais das Características Físico-Químicas .....	100
6.1.2 Resultados e Discussão.....	101
6.2 Otimização e Validação da Termogravimetria para a Determinação de Água em Melado de Cana .....	107

6.2.1 Materiais.....	107
6.2.2 Métodos .....	107
6.2.2.1 Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTA) .....	107
6.2.2.2 Determinação de Água por Titulação de Karl Fischer .....	107
6.2.2.3 Otimização do Método Termogravimétrico por Planejamento Fatorial.....	108
6.2.2.4 Validação do Método Termogravimétrico .....	108
6.2.3 Resultados e Discussão.....	109
6.2.3.1 Perfil termogravimétrico de secagem .....	109
6.2.3.2 Estudo de Otimização do Método Termogravimétrico .....	112
6.2.3.3 Validação do Método Termogravimétrico .....	118
6.3 Aplicação da Termogravimetria em Modo Isotérmico para o Desenvolvimento de um Novo Método de Secagem em Estufa para Melado de Cana .....	119
6.3.1 Metodologia.....	119
6.3.1.1 Amostras .....	119
6.3.1.2 Métodos.....	120
6.3.1.2.1 Termogravimetria no Modo Isotérmico.....	120
6.3.1.2.2 Secagem em Estufa Convencional .....	120
6.3.1.2.3 Otimização do Método de Secagem em Estufa Convencional por Planejamento Fatorial .....	120
6.3.1.2.4 Validação do Método de Secagem em Estufa Convencional .....	121
6.3.2 Resultados e Discussão.....	122
6.3.2.1 Termogravimetria em Modo Isotérmico .....	122
6.3.2.2 Otimização de um Novo Método de Secagem em Estufa .....	123
6.3.2.3 Validação do Novo Método de Secagem em Estufa.....	129
6.4 CONCLUSÃO .....	130
6.5 Referências.....	132

## **CAPÍTULO 7. OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM XAROPES .....**

7.1 Caracterização Físico – Química de Xaropes pela Análise de Componentes Principais .....	137
7.1.1 Metodologia.....	137
7.1.1.1 Amostras .....	137
7.1.1.2 Análises Físico-Químicas .....	137
7.1.1.3 Análise de Componentes Principais das Características Físico-Químicas .....	137
7.1.2 Resultados e Discussão.....	138
7.2 Otimização e Validação da Termogravimetria para a Determinação de Água em Xarope.....	142
7.2.1 Materiais.....	142

7.2.2 Métodos .....	142
7.2.2.1 Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTA) .....	142
7.2.2.2 Determinação de Água por Titulação de Karl Fischer .....	142
7.2.2.3 Otimização do Método Termogravimétrico por Planejamento Fatorial.....	143
7.2.2.4 Validação do Método Termogravimétrico .....	143
7.2.3 Resultados e Discussão.....	144
7.2.3.1 Perfil termogravimétrico de secagem .....	144
7.2.3.2 Estudo de Otimização do Método Termogravimétrico .....	147
7.2.3.3 Validação do Método Termogravimétrico .....	152
7.3 Conclusões .....	153
7.4 Referências.....	154
<b>CAPÍTULO 8. OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM GELEIAS E SUCOS DE FRUTAS.....</b>	<b>157</b>
8.1 Caracterização Físico – Química de Geleias e Sucos pela Análise de Componentes Principais .....	159
8.1.1 Metodologia.....	159
8.1.1.1 Amostras .....	159
8.1.1.2 Análises Físico-Químicas .....	159
8.1.1.3 Análise de Componentes Principais das Características Físico-Químicas .....	159
8.1.2 Resultados e Discussão.....	160
8.2 Otimização e Validação da Termogravimetria para a Determinação de Água em Sucos e Geleias de Frutas .....	163
8.2.1 Materiais.....	163
8.2.2 Métodos .....	163
8.2.2.1 Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTA) .....	163
8.2.2.2 Determinação de Água por Titulação de Karl Fischer .....	164
8.2.2.3 Otimização do Método Termogravimétrico por Planejamento Fatorial.....	164
8.2.2.4 Validação do Método Termogravimétrico .....	165
8.2.3 Resultados e Discussão.....	165
8.2.3.1 Perfil termogravimétrico de secagem .....	165
8.2.3.2 Estudo de Otimização do Método Termogravimétrico .....	170
8.2.3.3 Validação do Método Termogravimétrico .....	176
8.3 Conclusões .....	178
8.4 Referências.....	179
<b>CAPÍTULO 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>182</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1.</b> Modelo de isoterma de sorção do açúcar mascavo. (Fonte: Arquivo pessoal).....	25
<b>Figura 2.2.</b> Estufas (a) estufa normal (Disponível em: <a href="http://www.netdental.com.br/estufa-1">http://www.netdental.com.br/estufa-1</a> ), (b) Estufa à vácuo. (Disponível em: <a href="http://www.multitecrs.com.br/produto.php?prod=114">http://www.multitecrs.com.br/produto.php?prod=114</a> . Acesso em 25/01/2015). .....	28
<b>Figura 2.3.</b> Modelos de equipamentos (a) Analisador de umidade por infravermelho (b) Analisador de umidade usando lâmpada halógena (Disponível em: <a href="http://www.multitecrs.com.br/">http://www.multitecrs.com.br/</a> Acesso em: 26/01/2015) (c) Analisador de umidade por micro-ondas (Disponível em: <a href="http://www.foodonline.com/">http://www.foodonline.com/</a> Acesso em: 26/01/2015).....	31
<b>Figura 2.4.</b> Modelos de tituladores de Karl Fischer (a) Titulador Q349-1 da Quimis (Fonte: Arquivo pessoal), (b) 870 KF Titrino plus da Metrohm (Disponível em: <a href="http://www.metrohmusa.com/">http://www.metrohmusa.com/</a> Acesso em: 27/01/2015). .....	32
<b>Figura 2.5.</b> Curva típica obtida pela técnica de DTA. (Fonte: Arquivo pessoal).....	35
<b>Figura 2.6.</b> Esquema de funcionamento de um sistema de análise termogravimétrica. (Fonte: MOTHÉ e AZEVEDO, 2002) .....	36
<b>Figura 2.7.</b> Esquema da termogravimetria em modo dinâmico. (Fonte: MOTHÉ e AZEVEDO, 2002). .....	36
<b>Figura 2.8.</b> Modelos de equipamentos: (a) Modelo Exstar-TG/DTA6000 da Seiko (Disponível em: <a href="http://www.b2bthai.com/">http://www.b2bthai.com/</a> Acesso em: 30/01/2015) (b) TGA 1 Star System – Mettler Toledo (c) Cadinhos de alumina (Disponível em: <a href="http://au.mt.com/au/en/home/products/Laboratory_Analytics_Browse/TA_Family_Browse/TGA.html">http://au.mt.com/au/en/home/products/Laboratory_Analytics_Browse/TA_Family_Browse/TGA.html</a> Acesso em: 30/01/2015) .....	38
<b>Figura 2.9.</b> Modelo de medidor de atividade de água (Disponível em: <a href="http://aqualab.decagon.com.br/">http://aqualab.decagon.com.br/</a> Acesso em 27/01/2015). .....	40
<b>Figura 3.1.</b> Reações de escurecimento não enzimático. (Fonte: modificado a partir de CUI, 2005).....	45

<b>Figura 4.1.</b> Amostras de açúcar mascavo (A1 a E3) utilizadas no estudo (Fonte: Arquivo pessoal). .....	50
<b>Figura 4.2.</b> Amostras de melados provenientes do Brasil (M1 a M5) e do Canadá (M6) (Fonte: Arquivo pessoal). .....	52
<b>Figura 4.3.</b> Amostras de xaropes provenientes do Brasil (X1 a X3), Estados Unidos (X4 e X5) e Canadá (X6) (Fonte: Arquivo pessoal). .....	53
<b>Figura 4.4.</b> Esquema básico de produção de sucos. (Fonte: MORAES, 2006). .....	55
<b>Figura 4.5.</b> Amostras de sucos de frutas (S1 a S10) (Fonte: Arquivo pessoal). .....	56
<b>Figura 4.6.</b> Esquema para obtenção de geleia de frutas. (Fonte: TORREZAN, 1998). .....	57
<b>Figura 4.7.</b> Amostras de geleias de frutas (G1 a G7). (Fonte: Arquivo pessoal). .....	58
<b>Figura 5.1.</b> Pesos da primeira (a) e segunda (b) componentes principais nas amostras de açúcar mascavo de diferentes fabricantes e lotes. ....	70
<b>Figura 5.2.</b> Pesos (a) e escores (b) da primeira e segunda componentes principais para as amostras de açúcar mascavo de diferentes fabricantes e lotes. ....	71
<b>Figura 5.3.</b> (a) Curvas TG e DTA da amostra de açúcar mascavo (A1) obtidas no estudo de otimização e (b) Curva de secagem termogravimétrica. (Porta amostra de alumina, atmosfera dinâmica de ar, massa de 5,0 mg, razão de aquecimento 5 °C min <sup>-1</sup> e vazão de gás a 50 mL min <sup>-1</sup> ). .....	78
<b>Figura 5.4.</b> Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados do planejamento fatorial no nível de 95,0 % de confiança. ....	84
<b>Figura 5.5.</b> Curvas de secagem termogravimétricas extraídas das curvas TG/DTA. O teor de água determinado por titulação de Karl Fischer na amostra de açúcar mascavo foi de 2,59 %. ....	85
<b>Figura 6.1.</b> Pesos da primeira (a) e segunda (b) componentes principais nas amostras de melado de cana de diferentes fabricantes e lotes. ....	103
<b>Figura 6.2.</b> Pesos (a) e escores (b) da primeira e segunda componentes principais para as amostras de melado de cana de diferentes fabricantes e lotes. ....	105

<b>Figura 6.3.</b> Perfil de secagem termogravimétrica da amostra de melado de cana (M1).....	109
<b>Figura 6.4.</b> (a) Curvas TG e DTA da amostra de melado de cana (M1) analisada no estudo de otimização (b) Curva de secagem termogravimétrica. (Porta amostra de alumina, papel de fibra de vidro, atmosfera dinâmica de ar, massa de 5,0 mg, razão de aquecimento 5 °C min <sup>-1</sup> e vazão de gás a 50 mL min <sup>-1</sup> ). .....	110
<b>Figura 6.5.</b> Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados do planejamento fatorial no nível de 95,0 % de confiança. ....	113
<b>Figura 6.6.</b> Curvas de secagem termogravimétricas extraídas das curvas TG/DTA. O teor de água determinado por titulação de Karl Fischer na amostra de melado de cana (M1) foi de 20,52 %.....	115
<b>Figura 6.7.</b> Gráfico dos efeitos principais do planejamento fatorial para a otimização do método termogravimétrico para análise do teor água em melado de cana.....	116
<b>Figura 6.8.</b> Diagrama esquemático da ação do papel de fibra de vidro na secagem de amostras ricas em açúcar (Fonte: FELSNER et al., 2004) .....	116
<b>Figura 6.9.</b> Gráfico de interação entre a razão de aquecimento e o papel de fibra de vidro.....	117
<b>Figura 6.10.</b> Curvas TG no modo isotérmico da amostra M1 realizadas em temperaturas de (a) 70 °C e (b) 105 °C por 240 minutos em atmosfera dinâmica de ar, massas de 5,0 mg, porta amostra de alumina e papel de fibra de vidro. A linha vermelha representa o teor de água determinado pelo método de titulação de Karl Fischer (método de referência) para a amostra M1. ....	122
<b>Figura 6.11.</b> Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados do planejamento fatorial no nível de 95,0 % de confiança. ....	125
<b>Figura 6.12.</b> Gráfico dos efeitos principais do planejamento fatorial para a otimização do método de estufa para análise do teor água em melado de cana. ....	126
<b>Figura 6.13.</b> (a) Gráfico de interação entre a temperatura de secagem, tempo de secagem e papel de fibra de vidro (b) Gráfico de interação entre a temperatura de secagem e o tempo de secagem. ....	128

<b>Figura 6.14.</b> Aspecto das amostras de melado de cana após secagem em estufa (a) com o uso de papel de fibra de vidro e (b) sem uso do papel de fibra de vidro, ambos a 70 °C e 90 minutos de secagem. ....	128
<b>Figura 7.1.</b> Pesos da primeira (a) e segunda (b) componentes principais nas amostras de xaropes. ....	139
<b>Figura 7.2.</b> Pesos (a) e escores (b) da primeira e segunda componentes principais para as amostras de xaropes. ....	140
<b>Figura 7.3.</b> Perfil de secagem termogravimétrica da amostra de xarope (X1). ....	145
<b>Figura 7.4.</b> (a) Curvas TG e DTA da amostra de xarope de glicose (X1) analisadas no estudo de otimização (b) Curva de secagem termogravimétrica. (Porta amostra de alumina, papel de fibra de vidro, atmosfera dinâmica de ar, massa de 3,0 mg, razão de aquecimento 5 °C min <sup>-1</sup> e vazão de gás a 50 mL min <sup>-1</sup> ). ....	145
<b>Figura 7.5.</b> Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados do planejamento fatorial no nível de 95,0 % de confiança ....	148
<b>Figura 7.6.</b> Gráfico de interação entre a razão de aquecimento e o papel de fibra de vidro. ....	149
<b>Figura 7.7.</b> Curvas de secagem termogravimétricas extraídas das curvas TG/DTA. O teor de água determinado por titulação de Karl Fischer na amostra de xarope (X1) foi de 15,21 %. ....	150
<b>Figura 7.8.</b> Gráfico dos efeitos principais do planejamento fatorial para a otimização do método termogravimétrico para análise de água em xaropes. ....	151
<b>Figura 8.1.</b> Pesos da primeira (a) e segunda (b) componentes principais nas amostras de sucos e geleias de frutas. ....	161
<b>Figura 8.2.</b> Pesos (a) e escores (b) da primeira e segunda componentes principais para as amostras de sucos e geleias de frutas de diferentes fabricantes e lotes. ....	162
<b>Figura 8.3.</b> Perfil de secagem termogravimétrica: (a) da amostra de geleia de fruta G6 e (b) da amostra de suco de fruta S1. ....	166
<b>Figura 8.4.</b> (a) Curvas TG e DTA da amostra de geleia de fruta (G6) analisada no estudo de otimização (b) Curva de secagem termogravimétrica. (Porta amostra de alumina, papel de fibra de vidro,	

atmosfera dinâmica de ar, massa de 5,0 mg, razão de aquecimento 5 °C min <sup>-1</sup> e vazão de gás a 50 mL min <sup>-1</sup> ). .....	167
<b>Figura 8.5.</b> (a) Curvas TG e DTA da amostra de suco de fruta (S1) analisada no estudo de otimização (b) Curva de secagem termogravimétrica. (Porta amostra de alumina, papel de fibra de vidro, atmosfera dinâmica de ar, massa de 5,0 mg, razão de aquecimento 5 °C min <sup>-1</sup> e vazão de gás a 50 mL min <sup>-1</sup> ). .....	168
<b>Figura 8.6.</b> Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados do planejamento fatorial no nível de 95,0 % de confiança para (a) suco de frutas e para (b) geleia de frutas. ....	172
<b>Figura 8.7.</b> Curvas de secagem termogravimétricas extraídas das curvas TG/DTA para (a) suco de frutas e para (b) geleia de frutas. O teor de água determinado por titulação de Karl Fischer na amostra de suco (S1) foi de 87,56 % e para a amostra de geleia (G6) foi 31,47 %.....	173
<b>Figura 8.8.</b> Gráfico de interação entre razão de aquecimento e papel de fibra de vidro para (a) suco de frutas e (b) geleia de frutas.....	174

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 4.1.</b> Informações e codificação das amostras de açúcar mascavo (A1 a E3).....	48
<b>Tabela 4.2.</b> Informações e codificação das amostras de melado de cana (M1 a M6) e de xarope (X1 a X6).....	49
<b>Tabela 4.3.</b> Informações e codificação das amostras de sucos de frutas (S1 a S10), geleias de frutas (G1 a G7).....	49
<b>Tabela 5.1.</b> Dados do comportamento térmico das amostras de açúcar mascavo expressos como valores médios.....	66
<b>Tabela 5.2.</b> Teores médios para a composição físico-química das amostras de açúcar mascavo.....	67
<b>Tabela 5.3.</b> Teores médios e desvios padrão dos teores de íons metálicos presentes nas amostras de açúcar mascavo (mg/100g).....	68
<b>Tabela 5.4.</b> Variáveis e níveis do planejamento fatorial $2^2$ para a determinação termogravimétrica do teor de água em açúcar mascavo.....	76
<b>Tabela 5.5.</b> Resultados do planejamento fatorial $2^2$ para a análise dos teores de água nas amostras de açúcar mascavo por termogravimetria.....	83
<b>Tabela 5.6.</b> Teores médios de água e de umidade e desvios padrão correspondentes das amostras de açúcar mascavo obtidos para os três métodos analíticos investigados.....	87
<b>Tabela 6.1.</b> Valores médios para a composição físico-química das amostras de melado de cana.....	101
<b>Tabela 6.2.</b> Teores médios e desvios padrão em mg/100g de íons metálicos presentes nas amostras de melado de cana.....	101
<b>Tabela 6.3.</b> Variáveis e níveis do planejamento fatorial $2^2$ para a determinação termogravimétrica do teor de água em melado de cana.....	108
<b>Tabela 6.4.</b> Planejamento fatorial $2^2$ para a análise dos teores de água nas amostras de melado de cana por termogravimetria.....	112
<b>Tabela 6.5.</b> Efeitos e seus erros padrão calculados para os teores de água nas amostras de melado de cana por termogravimetria para o planejamento fatorial $2^2$ .....	113

<b>Tabela 6.6.</b> Teores médios de água e desvios padrão determinados por termogravimetria e pela titulação de Karl Fischer para as amostras de melado de cana.....	118
<b>Tabela 6.7.</b> Variáveis e níveis do planejamento fatorial $2^3$ para a determinação de umidade em melado de cana por secagem em estufa convencional. ....	121
<b>Tabela 6.8.</b> Planejamento fatorial $2^3$ para a análise do teor de umidade de melado de cana por secagem em estufa convencional.....	124
<b>Tabela 6.9.</b> Efeito e seus erros padrão calculados para o planejamento fatorial $2^3$ para determinação de umidade em melado de cana por secagem em estufa convencional.....	124
<b>Tabela 6.10.</b> Teores médios de água/umidade determinados por titulação de Karl Fischer e secagem em estufa convencional para as amostras de melado de cana.....	130
<b>Tabela 7.1.</b> Valores médios para a composição físico-química das amostras de xaropes.....	138
<b>Tabela 7.2.</b> Variáveis e níveis do planejamento fatorial $2^2$ para a determinação termogravimétrica do teor de água em xaropes. ....	143
<b>Tabela 7.3.</b> Planejamento fatorial $2^2$ para a análise do teor de água de xarope por termogravimetria .....	147
<b>Tabela 7.4.</b> Efeitos e seus erros padrão calculados para o teor de água nas amostras de xarope por termogravimetria para o planejamento fatorial $2^2$ ....	148
<b>Tabela 7.5.</b> Teores médios de água e desvios padrão determinados por termogravimetria e pela titulação de Karl Fischer para as amostras de xaropes investigadas.....	153
<b>Tabela 8.1.</b> Teores médios para a composição físico-química das amostras de sucos e geleias de frutas.....	160
<b>Tabela 8.2.</b> Variáveis e níveis do planejamento fatorial $2^2$ para a determinação termogravimétrica do teor de água em sucos e geleias de frutas. ....	164
<b>Tabela 8.3.</b> Planejamento fatorial $2^2$ para a análise dos teores de água nas amostras de geleia e suco de frutas por termogravimetria.....	170

<b>Tabela 8.4.</b> Efeitos e seus erros padrão calculados para os teores de água nas amostras de suco e geleia de frutas por termogravimetria para o planejamento fatorial $2^2$ .....	170
<b>Tabela 8.5.</b> Teores médios de água e desvios padrão para amostras de suco (S) e de geleia (G) obtidos pelos dois métodos analíticos. ....	177

## LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ACP	Análise de componentes principais
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
$a_w$	Atividade de água
A.R.	Açúcar redutor
C.E.	Condutividade elétrica
CNNPA	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
DE	Equivalente dextrose
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DTA	Análise térmica diferencial
DTG	Termogravimetria derivada
FAAS	Espectrofotômetro de absorção atômica em chama
$F_{obs}$	F observado
GENE	Grau de escurecimento não enzimático
HMF	5-(Hidroximetil)-2-furaldeído ou hidroximetilfurfuraldeído
ICUMSA	International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis
ID	Identificação das amostras
LabGati	Laboratório de análise de trações e instrumentação
NIR	Espectroscopia no infravermelho próximo
PC	Componente principal
pH	Potencial hidrogênio
Pol.	Polarização
TA	Análise térmica
TFP	Temperatura de pico de fusão
$TF_{onset}$	Temperatura onset de fusão
TFS	Temperatura final de secagem
TG	Termogravimetria

## **CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS**

## INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

### 1.1 Introdução

O teor de água é por inúmeras razões uma das mais importantes propriedades dos produtos alimentícios do ponto de vista nutricional, comercial e da segurança alimentar, pois influencia entre outras coisas, o sabor, a vida útil e a aparência, além de afetar também o crescimento de micro-organismos e a atividade enzimática (SCHÖFFSKI, 2001).

A avaliação da composição química dos alimentos é feita com base na massa seca do produto e, portanto, o teor de água deve ser avaliado. Como métodos diferentes estão disponíveis para a determinação deste parâmetro físico-químico, a questão da escolha de qual método seria mais apropriado ainda permanece (MENDONÇA, FRANCA e OLIVEIRA, 2007; ISENGARD, 2001). O problema se torna mais difícil devido ao fato de que a água está presente em quantidades variáveis e ligada de formas diferentes nos alimentos além disso as características de composição de outros componentes presentes como carboidratos, lipídios, fibra e proteínas afetam o desempenho do método escolhido (YAZGAN et al., 2006).

A determinação de umidade em alimentos é normalmente considerada um procedimento analítico simples. No entanto, este tipo de determinação envolve muitas complexidades, pois não se consegue determinar o valor exato deste parâmetro e os métodos existentes para a sua avaliação são raramente absolutos. De um ponto de vista econômico, a determinação confiável deste parâmetro físico-químico é imprescindível para estipular, por exemplo, a validade do produto (VLACHOS e KARAPANTSIOS, 2000; GLAESER, 2003).

A secagem desempenha um papel essencial na tecnologia de alimentos, mostrando um crescente interesse devido ao aumento das exigências na qualidade do produto (HEINZE e ISENGARD, 2001; ISENGARD, 2001 VLACHOS e KARAPANTSIOS, 2000; DE CARO, AICHERT e WALTER, 2001; MATHLOUTHI, 2001; KNOCHEL, DASCHNER e TAUTE, 2001; ISENGARD e HEINZE, 2003). Para melhor controlar e otimizar os processos de secagem, vários métodos analíticos tem sido desenvolvidos para determinar o teor de umidade e/ou água com maior

confiabilidade (HEINZE e ISENGARD, 2001; VLACHOS e KARAPANTSIOS, 2000; DE CARO, AICHERT e WALTER, 2001; FELSNER, 2001; VUATAZ, MEUNIER e ANDRIEUX, 2010).

Os métodos mais amplamente reconhecidos para a determinação de umidade em alimentos são os métodos em estufa, que se baseiam na perda de massa de água do alimento por secagem à temperatura controlada (VLACHOS e KARAPANTSIOS, 2000; HEINZE e ISENGARD, 2001; MEDONÇA, FRANÇA e OLIVEIRA, 2007). Os métodos são simples, necessitam de poucos equipamentos, são demorados, pois os tempos de secagem podem durar horas. Tais técnicas, no entanto, são pouco utilizadas para amostras contendo carboidratos, pois, aumentam o risco de decomposição com formação de material volátil, além de ocorrer à formação de crosta, o que dificulta a eliminação da água e interfere nos resultados (HEINZE e ISENGARD, 2001, NIELSEN, 1994; FELSNER, 2001)

A termogravimetria - análise térmica diferencial simultânea (TG/DTA) é uma técnica que permite a determinação das perdas de massa e a resposta térmica (diferença de temperatura ou de fluxo de calor aproximado) de qualquer material homogêneo submetido a uma razão de aquecimento em condições controladas, além da identificação dos eventos relacionados à desidratação e reações de degradação (HAINES, 2002). A TG/DTA foi descrita como uma metodologia precisa para determinar o teor de umidade em vários produtos alimentícios, tais como amido, café torrado, leite em pó, (TOMASSETTI, CAMPANELLA e AURELI, 1989), farinhas de trigo, (ACQUISTUCCI et al., 1991); frutos do mar (SILVA et al., 2008), mas tem sido pouco empregada para alimentos contendo altos teores de açúcares (FELSNER, 2001; DUCAT et al., 2015)

Este trabalho justifica-se pelo interesse no desenvolvimento de novas metodologias analíticas para a determinação dos teores de água e/ou umidade pela aplicação da termogravimetria e por diferentes ferramentas quimiométricas. Assim, os resultados deste trabalho contribuirão para a determinação confiável dos teores de umidade e/ou água presente em alimentos com altos teores de açúcares, utilizando-se métodos de secagem, que poderão ser implantados em laboratórios de controle de qualidade em empresas, em laboratórios industriais e que também possam ser adotados como métodos oficiais de análise.

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e validar metodologias termogravimétricas para a determinação dos teores de água e/ou umidade em alimentos com altos teores de açúcares empregando-se diferentes ferramentas quimiométricas.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar a composição química de alimentos com altos teores de açúcares como açúcar mascavo, xarope, melado de cana, geleias e sucos de frutas através de diferentes ferramentas quimiométricas.
- ✓ Avaliar o perfil de decomposição térmica dos alimentos ricos em açúcares descritos acima usando a termogravimetria no modo dinâmico.
- ✓ Otimizar as condições termogravimétricas para a determinação de umidade e/ou água nos alimentos ricos em açúcares aplicando-se técnicas de planejamento de experimentos.
- ✓ Validar os métodos termogravimétricos desenvolvidos para análise de umidade aplicando-se ferramentas estatísticas como teste-*t*, teste-*F*.

## 1.3 Referências

ACQUISTUCCI, R.; BUCCI, R.; MAGRI, A.D.; MAGRI, A.L. Evaluation of the moisture and ash contents in wheat mills by multistep programmed thermogravimetry. *Thermochimica Acta*, v. 188, p. 51–62, 1991.

DE CARO, C.A.; AICHERT, A.; WALTER, C.M. Efficient, precise and fast water determination by the Karl Fischer titration. *Food Control*, v. 12, p. 431-436, 2001

DUCAT, G.; FELSNER, M.L.; COSTA NETO, P.R.; QUINAIA, S.P. Development and In House Validation of a New Thermogravimetric Method for Water Content Analysis in Soft Brown Sugar. *Food Chemistry*, v. 177, p.158-164, 2015.

FELSNER, M.L. Caracterização de Méis Monoflorais de Eucalipto e Laranja do Estado de São Paulo por Técnicas Termoanalíticas. 255 f. Tese de Doutorado. Instituto de Química – USP. 2001.

- GLAESER, H. Control of the water content of dairy products—definition of limits, consideration of process variation, official use of auto control data. *Food Chemistry*, v. 82, p. 121-124, 2003.
- HAINES, P.J. Principles of Thermal Analysis and Calorimetry. Oakland Analytical Services, Farnhurn, Surrey, The Royal Society of Chemistry UK, 2002.
- HEINZE, P.; ISENGARD, H.D. Determination of the water content in different sugar syrups by halogen drying. *Food Control*, v. 12, p. 483-486, 2001.
- ISENGARD, H.D. Water content one of most important properties of food. *Food Control*, v. 12, p. 395-400, 2001.
- ISENGARD, H.D., HEINZE, P. Determination of total water and surface water in sugars. *Food Chemistry*, v. 82, p. 169-172, 2003.
- KNOCHEL, R.; DASCHNER, F.; TAUTE, W. Resonant microwave sensors for instantaneous determination of moisture in foodstuffs. *Food Control*, v. 12, p. 447-458, 2001.
- MATHLOUTHI, M. Water content, water activity, water structure and the stability of foodstuffs. *Food Control*, v. 12, p. 409-417, 2001.
- MENDONÇA, J. C. F.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. A comparative evaluation of methodologies for water content determination in green coffee. *LWT – Food Science and Technology*, v. 40, n.7, p. 1300–1303, 2007.
- NIELSEN, S.S. Introduction to the Chemical Analysis of Foods. Jones and Bartlett Publishers, London, England, 1994.
- SCHÖFFSKI, K. New Karl Fischer reagents for the water determination in food. *Food Control*, v. 12, p. 427-429, 2001.
- SILVA, V.M.; SILVA, L.A.; de ANDRADE, J.B.; VELOSO, M.C.C.; SANTOS, G.V. Determination of moisture content and water activity in algae and fish by thermoanalytical techniques. *Química Nova*, v. 31, p. 901–905, 2008.
- TOMASSETTI, M.; CAMPANELLA, L.; AURELI, T. Thermogravimetric analysis of some spices and commercial food products: Comparison with other analytical methods for moisture content determination (part 3). *Thermochimica Acta*, v. 143, p.15–26, 1989.
- VLACHOS, N.A.; KARAPANTSIOS, T.D. Water content measurement of thin sheet starch products using a conductance technique. *Journal of Food Engineering*, v. 46, p. 91-98, 2000.
- VUATAZ, G.; MEUNIER, V.; ANDRIEUX, J.C. TG–DTA approach for designing reference methods for moisture content determination in food powders. *Food Chemistry*. v.122, p. 436-442, 2010.

YAZGAN, S.; BERNREUTHER, A.; ULBERTH, F.; ISENGARD, H.D. Water – an important parameter for the preparation and proper use of certified reference materials. *Food Chemistry*, v. 96, p. 411-417, 2006.

**CAPÍTULO 2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ÁGUA NOS ALIMENTOS E  
MÉTODOS PARA SUA DETERMINAÇÃO**

## CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ÁGUA NOS ALIMENTOS E MÉTODOS PARA A SUA DETERMINAÇÃO

### 2.1 Água nos Alimentos

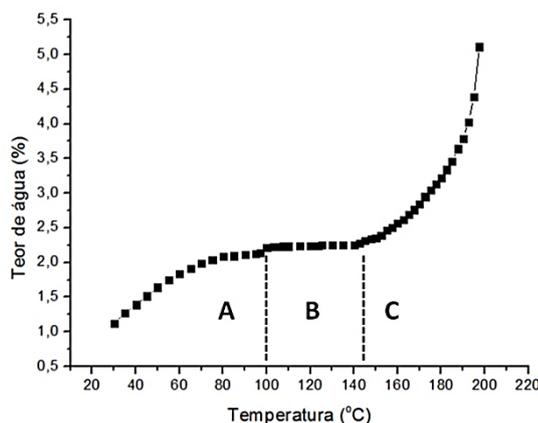
Ao examinar a composição da maioria dos alimentos, nota-se que a água é encontrada como um componente fundamental. Além disso, é o principal solvente no qual ocorrem os processos metabólicos do organismo humano. Assim, é importante aprofundar-se na natureza e nas propriedades da água, tendo em vista suas diversas funções nos alimentos, para compreender seu papel na química de alimentos (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

Entre as propriedades da água que podem ser utilizadas para a elucidação da sua estrutura, o seu comportamento como um solvente e as interações com diferentes classes de moléculas são de grande importância. Alguns íons individuais e grupos iônicos de moléculas orgânicas parecem dificultar ou influenciar na mobilidade das moléculas de água de forma mais intensa (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010; MATHLOUTHI, 2001; NIELSEN, 1994).

A estrutura da água é bastante estudada, usando modelos computacionais ou técnicas espectroscópicas experimentais. No entanto, nenhuma teoria ou conclusões tiradas a partir dos resultados experimentais podem ser responsáveis por suas propriedades físicas específicas. Os modelos computacionais para a estrutura da água geralmente descrevem este líquido como uma rede contínua de ligações de hidrogênio dispostas aleatoriamente. Esses modelos têm duas desvantagens: a falta de detalhes e um caráter estático (MATHLOUTHI, 2001; GUILLOT, 1991; ERRINGTON e DEBENEDETTI, 2001).

Conhecer o "teor de água" em um alimento não permite conhecer sobre a natureza da água, se ela está ligada ou livre, inerente ou ocluída no alimento. O conhecimento de cada uma dessas frações é importante e pode ajudar a compreender o processo de formação de cada uma delas. Uma das formas para tal objetivo é a análise do formato das isotermas de sorção (Figura 2.1) que mostra que estas frações podem ser divididas em três zonas, respectivamente; uma região de água livre ou solvente ou água de superfície (A), uma região linear (B) menos rigidamente ligada onde a água está adsorvida em capilares (ocluída) e a terceira região (C) correspondendo a uma monocamada de água fortemente ligada. A

descrição dessas três espécies de água é uma maneira aproximada de visualizar as diferenças na estrutura da água (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010; MATHLOUTHI, 2001; NIELSEN, 1994).



**Figura 2.1.** Modelo de isoterma de sorção do açúcar mascavo. (Fonte: Arquivo pessoal).

A maioria das reações que ocorrem durante o armazenamento de um produto alimentar, como a oxidação de lipídios, a degradação enzimática e a reação de Maillard pode encontrar uma interpretação relacionada com a estrutura da água. Do mesmo modo as interações específicas da substância seca com a água, nomeadas interações hidrofílicas ou hidrofóbicas podem ser úteis para compreender o comportamento do produto alimentício com relação a água durante a sua estocagem e preservação (ADAM et al., 2009; DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

Cátions de interesse na indústria alimentar como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , entre outros, são conhecidos por imobilizar várias camadas de água de hidratação. Geralmente esses íons são conhecidos por terem três camadas de água em torno deles. A primeira camada se liga fortemente ao íon. A segunda camada de água é perturbada porque é submetida à atração devido ao campo elétrico do íon de um lado e por outro lado do efeito de "cooperatividade" das ligações de hidrogênio com as moléculas de água da terceira camada, onde a água é menos influenciada pelo íon. Já as interações hidrofóbicas ocorrem devido à hidratação de grupos apolares como os grupos metil. A interação entre um grupo e a água é mais fraca do que a ligação de hidrogênio água-água, de modo que, quando várias moléculas de água cercar um grupo apolar, a mesma não tem um contato direto com o grupo, portanto reforça as

suas ligações de água – água; esta camada de água é menos móvel (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010; MATHLOUTHI, 2001).

Desta forma, a determinação dos teores de umidade ou de água é muito importante e é uma das análises mais frequentes nos laboratórios de indústrias de alimentos (ISENGARD, 2008). Isto se deve ao fato de que quase todos os produtos alimentares contêm água. Assim, a determinação de água/umidade afeta muitos outros parâmetros, tanto de natureza física como química. A avaliação da maioria dos parâmetros químicos baseia-se na massa seca e, portanto, o conteúdo de água deve ser avaliado. Além disso, os teores de água ou umidade afetam o crescimento de micro-organismos e a atividade enzimática, afetando a estabilidade e a vida de prateleira dos alimentos, já que a maioria das reações deteriorativas (oxidação de lipídios, degradação enzimática, reação de Maillard, entre outras) ocorre durante o armazenamento de um produto alimentício (ADAM et al., 2009).

Como métodos diferentes estão disponíveis para a determinação de água, a dúvida entre qual seria mais apropriado ainda permanece (MENDONÇA, FRANCA, e OLIVEIRA, 2007). O problema torna-se mais difícil devido ao fato de que a água nos alimentos está como foi visto, distribuída em diferentes estados de ligação e que tanto o próprio produto alimentício como seu conteúdo de água afetam o desempenho do método (YAZGAN et al., 2006).

## **2.2 Métodos para Determinação de Água e Umidade em Alimentos**

Neste tópico serão apresentados os fundamentos, instrumentação e exemplos de aplicação dos métodos analíticos normalmente empregados para a análise de água ou umidade em alimentos. Como existem diversos métodos para determinar o teor de água ou umidade em alimentos estes podem ser classificados em grupos distintos (ISENGARD, 1995).

Os métodos diretos são aqueles que visam à determinação quantitativa da água.

As técnicas físicas são aquelas que medem a quantidade de água obtida ou a perda de massa observada após a separação da água e dos outros componentes de um produto.

Os métodos químicos são baseados em reações seletivas da água na amostra. Ambas as técnicas (técnicas físicas e métodos químicos) podem ser combinadas para determinar o teor de água obtida pela separação.

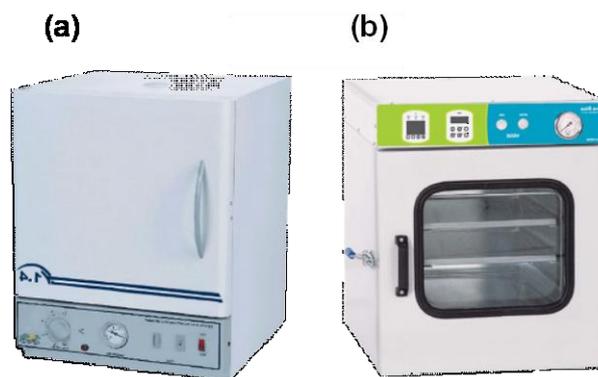
Os métodos indiretos podem determinar uma propriedade macroscópica da amostra, da qual depende seus teores de água ou umidade, ou medir a resposta das moléculas de água na amostra por uma influência física (ISENGARD, 2001).

Dependendo da forma em que a água está presente nos alimentos, o método utilizado para determinar os teores de água ou de umidade pode medir de forma imprecisa o total de água presente. Esta é uma das razões em que se faz necessário utilizar os métodos oficiais com os procedimentos já estabelecidos. No entanto, podem existir vários métodos oficiais para um determinado produto. Por exemplo, a AOAC (Association of Official Analytical Chemists) para a determinação de umidade em queijos inclui os seguintes métodos: 926.08 de secagem em estufa a vácuo; 977.11 de secagem em forno de micro-ondas; 969.19 de destilação (NIELSEN, 1994).

## **2.2.1 Métodos Diretos**

### **2.2.1.1 Secagem em Estufa**

A secagem em estufa é o método mais aplicado na análise de umidade em alimentos. Este se baseia na perda de massa do produto por aquecimento partindo-se da premissa de que toda a perda de peso é devida à eliminação de umidade. Esta técnica de secagem tem como princípio o aquecimento por convecção e pode ser realizada em estufa comum utilizando a temperatura de 105 °C (3,0 horas aproximadamente) até peso constante ou em estufa a vácuo utilizando geralmente a temperatura de 70 °C (6 horas aproximadamente) (Figura 2.2). (ISENGARD, 2001; MATHLOUTHI, 2001).



**Figura 2.2.** Estufas (a) estufa normal (Disponível em: <http://www.netdental.com.br/estufa-1>), (b) Estufa à vácuo. (Disponível em: <http://www.multitecrs.com.br/produto.php?prod=114>. Acesso em 25/01/2015).

Essa técnica, porém, não mede os teores de água como tal. O resultado é uma perda de massa de acordo com as condições aplicadas. Estas condições podem ser escolhidas livremente sendo os resultados variáveis. Mesmo os resultados dos métodos oficiais determinados por um conjunto de parâmetros são apenas uma convenção e não refletem necessariamente o teor verdadeiro de água presente no alimento. Água fortemente ligada ao alimento escapa da detecção, e uma distinção entre água livre e água ligada nem sempre é possível (RÜCKOLD, GROBECKER e ISENGARD, 2000).

A perda de massa não é causada somente pela água, mas também por todas as substâncias voláteis sob as condições de secagem, contidas na amostra original ou produzidas pelo processo de aquecimento. A aplicação de baixa pressão em secagens a vácuo reduz a produção de compostos voláteis provenientes da decomposição, sendo menos destrutiva para amostras sensíveis ao calor. Porém a duração da secagem pode não ser suficiente e também não permitir uma distinção entre a água e outras substâncias voláteis, já presentes no produto (ISENGARD, 2001; MATHLOUTHI, 2001; RONKART et al., 2006).

Apesar do método de estufa ser simples e baixo custo, por necessitar apenas de uma estufa e cadinhos para acondicionar as amostras, vários fatores afetam a exatidão do método como, por exemplo, a grande variação da temperatura no interior da estufa, a movimentação do ar dentro do equipamento, o material e o tipo de cadinho, o tamanho das partículas e a espessura da amostra; o número e a

posição das amostras na estufa, a incompleta remoção da água, a formação de crosta na superfície do alimento que diminui a saída de água, a decomposição dos produtos e a reação de Maillard. Os resultados dos métodos de secagem não deveriam, portanto, ser denominados como "teores de água"; "teores de umidade" como muitas vezes são utilizados, mas a expressão "perda de massa" seria a mais correta (ISENGARD, 2001; MATHLOUTHI, 2001; RONKART et al., 2006; NIELSEN 1994; CECCHI, 1999).

A secagem sob pressão reduzida (25-100 mmHg) é capaz de obter uma remoção da água mais completa e com menor decomposição de materiais voláteis dentro de um tempo de secagem de 3,0 a 6,0 horas. Estufas a vácuo precisam de um gás de purga (ar seco), além do controle da temperatura e do vácuo para operar. Com relação a este método, alguns pontos são importantes na sua utilização. A temperatura utilizada depende do produto. Para frutas e outros produtos com elevados teores de açúcar e carnes com altos teores de gordura a temperatura não pode exceder 70 °C. Mesmo com o uso de temperatura reduzida, pode haver alguma decomposição do alimento durante a secagem. A reação de caramelização em açúcares liberando água durante a secagem é acelerada a altas temperaturas. Nessas condições a temperatura não pode ultrapassar 60 °C. Alimentos com altos teores de açúcares redutores (como melado de cana e xaropes) podem sofrer escurecimento pela reação de Maillard com formação de compostos voláteis como CO<sub>2</sub> e produtos intermediários como furaldeído e hidroximetilfurfural. Esses compostos voláteis serão medidos erroneamente como água evaporada na estufa. Para amostras com altos teores de substâncias voláteis como os condimentos, deve-se considerar a utilização de um fator de correção para compensar a perda de massa na amostra (NIELSEN, 1994; CECCHI, 1999)

O tempo de secagem é uma função da umidade presente, da natureza do alimento, da área de superfície por unidade de massa da amostra, se a areia foi usada como um dispersante e da concentração relativa de substâncias açucaradas e outras capazes de reter a umidade e/ou a decomposição. O intervalo de secagem é determinado experimentalmente para serem obtidos resultados reprodutíveis (NIELSEN, 1994; CECCHI, 1999).

### **2.2.1.2 Dessecação por Transferência de Água**

Uma maneira de separar a água dos outros componentes do alimento é colocando o mesmo em um dessecador com uma substância muito higroscópica como o pentóxido de fósforo. Mede-se então a diferença de massa antes e após a transferência da água. Este processo conduz, evidentemente, a uma distribuição da água entre fases, em um equilíbrio que depende da diferença de higroscopicidade dos dois produtos que competem pela água. Uma parte da água, portanto, permanece na amostra. É um método pouco usado, pois a secagem é lenta e em alguns casos pode levar até meses (ISENGARD, 2001; CECCHI, 1999).

### **2.2.1.3 Destilação**

A avaliação da umidade pode ser determinada por destilação, quando no alimento existem outras substâncias que poderão volatilizar com a água no processo de aquecimento. Os compostos orgânicos voláteis do alimento formam uma mistura azeotrópica com a água que depois é separada por condensação. A água obtida da destilação é usualmente medida pelo volume e transformada em gramas. Porém a separação incompleta no tubo de medição e a leitura imprecisa podem afetar a precisão e a reprodutibilidade da técnica. É um método que não é muito utilizado devido aos longos tempos de análise. Tem a vantagem de proteger a amostra contra a oxidação pelo ar e diminuir as chances de decomposição pelas altas temperaturas na secagem direta. Pode ser utilizada para grãos e condimentos que possuem muita matéria volátil, além de nozes e óleos (ISO, 1980; PARK e ANTONIO, 2006; CECCHI, 1999; NIELSEN, 1994).

Secagem por Infravermelho, Halogênio e Micro-ondas Para diminuir os longos tempos de determinação de umidade em estufas com princípio de aquecimento por convecção, fontes de aquecimento mais eficientes têm sido introduzidas. Nesses equipamentos as amostras são expostas, sobre o prato de uma balança a qual é incorporada à radiação infravermelha (ou de halogênio) ou de micro-ondas e a perda de massa é registrada. Diferentes modos de aquecimento e os critérios para o ponto final estão disponíveis em tais aparelhos (Figura 2.3). Quando se utiliza a forma mais intensa de aquecimento nestes secadores, em comparação com os fornos de secagem habituais faz com que as amostras se tornem ainda mais susceptíveis a reações de decomposição, resultando na produção de material volátil e, assim,

produzindo um maior teor de umidade do que realmente existe no alimento. Os resultados podem variar amplamente, dependendo dos parâmetros de secagem aplicados (ISENGARD, 2001; MATHLOUTHI, 2001).



**Figura 2.3.** Modelos de equipamentos (a) Analisador de umidade por infravermelho (b) Analisador de umidade usando lâmpada halógena (Disponível em: <http://www.multitecrs.com.br/> Acesso em: 26/01/2015) (c) Analisador de umidade por micro-ondas (Disponível em: <http://www.foodonline.com/> Acesso em: 26/01/2015)

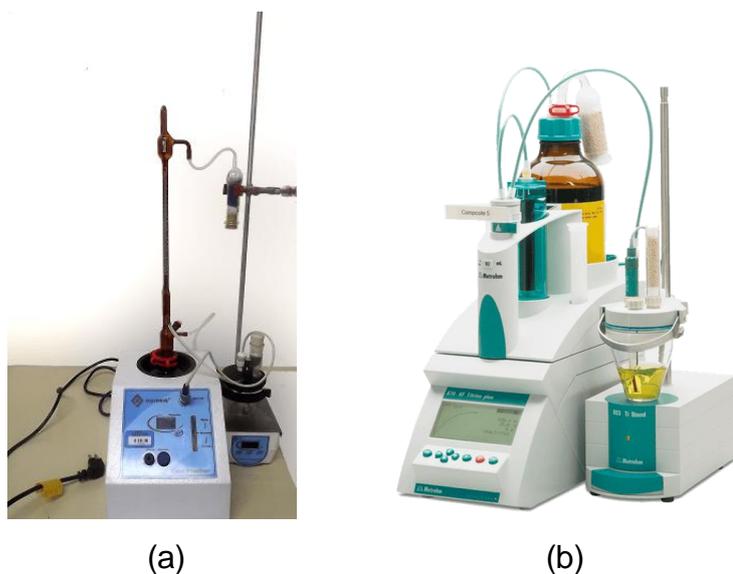
Espectrômetros de infravermelho próximo (NIR), informatizados são utilizados em diferentes indústrias de alimentos para a determinação dos teores de água e/ou umidade e de outros componentes em alimentos. Este método exige uma calibração específica para cada gênero alimentício analisado e o uso de métodos estatísticos de exploração dos resultados, que estão incluídos no software. A cor, o tamanho de partícula, a espessura e a textura do alimento podem influenciar nos resultados. Esta técnica permite a detecção de água superficial e pode não ser representativa do todo se o produto não for homogêneo (MATHLOUTHI, 2001).

A secagem por radiação de micro-ondas utiliza o caráter dipolar das moléculas de água. A mudança de comprimentos de onda e a atenuação da amplitude das ondas quando a amostra é colocada entre o emissor e o receptor de micro-ondas é utilizado para determinar os teores de água. Parâmetros tais como a

quantidade de água, a densidade e a quantidade da amostra analisada podem ter um efeito sobre o resultado. A água livre pode ser medida com mais facilidade do que água ligada ou de cristalização. É necessária uma calibração no aparelho para cada alimento a ser analisado (MATHLOUTHI, 2001).

#### 2.2.1.4 Titulação de Karl Fischer

A titulação de Karl Fischer (Figura 2.4) é um método direto e eficaz para determinar os teores de água em alimentos. Inventado por Karl Fischer em 1935, este procedimento passou por algumas modificações por causa do desenvolvimento de novos reagentes que não contêm o composto tóxico piridina, e a introdução de titulações controladas por microprocessador, que permite análises rápidas, precisas e confiáveis (ISENGARD, 1995).



**Figura 2.4.** Modelos de tituladores de Karl Fischer (a) Titulador Q349-1 da Quimis (Fonte: Arquivo pessoal), (b) 870 KF Titrino plus da Metrohm (Disponível em: <http://www.metrohmusa.com/> Acesso em: 27/01/2015).

O método baseia-se numa reação química específica. A interpretação original da reação mostrou-se incorreta. Sabe-se agora que a piridina não é necessária, e que o metanol, o qual tinha sido utilizado por acaso por Karl Fischer, não é apenas um solvente, mas também um participante na reação. O metanol pode, no entanto, ser substituído por outro álcool (ISENGARD, 1995).

A reação ocorre neste método em duas etapas. Na primeira etapa, um álcool ROH (normalmente metanol) é esterificado com dióxido de enxofre; para se alcançar uma reação quantitativa, o éster é neutralizado por uma base Z para se obter um sulfito de alquila (equação a). A piridina "clássica" foi substituída por outras bases, tais como imidazol. No segundo passo o sulfito de alquila é oxidado por iodo para gerar sulfato de alquila numa reação que requer água; da base, novamente, fornecendo uma reação quantitativa (equação b) (ISENGARD, 1995, ISENGARD, 2001; MATHLOUTHI, 2001).



Reação global:



O consumo de iodeto é medido. Na titulação coulométrica de Karl Fischer, o iodo é formado a partir do iodeto na célula de titulação por oxidação anódica. Na titulação volumétrica, que é a mais usual em análise de alimentos, o iodo é adicionado na solução. A amostra é colocada na célula de titulação que contém o meio de trabalho (ISENGARD, 1995, ISENGARD, 2001).

Este meio de trabalho consiste em metanol, na assim chamada técnica de um componente; a solução de titulação contém todos os outros componentes químicos, o iodo, o dióxido de enxofre e a base, dissolvido num solvente adequado. Na técnica de dois componentes, o meio de trabalho contém dióxido de enxofre e a base dissolvidos em metanol; o agente titulante é uma solução metanólica de iodo. A quantidade de água da solução titulada é determinada por titulação de padrões com um teor de água conhecido. O ponto final, em ambas as técnicas, baseia-se num efeito eletroquímico. Dois eletrodos de platina, submersos no meio de trabalho na célula de titulação, são polarizados por uma corrente constante (técnica bipotenciométrica ou voltamétrica) ou por uma voltagem constante (técnica biamperimétrica). Depois que a água da amostra é consumida e o iodo já não pode reagir, o par redox iodo/iodeto está presente e torna a respectiva oxidação e redução possível. Isso faz com que a voltagem necessária para manter a corrente constante caia abruptamente (técnica voltamétrica) ou faz com que a corrente resultante da voltagem constante aumente abruptamente (técnica biamperimétrica). Esta mudança súbita é usada para indicar o ponto final da titulação. Quando a voltagem permanece

abaixo (respectivamente, a corrente acima) de certo valor escolhido para um determinado período de tempo a determinação está completa. Este intervalo de tempo chamado de tempo de retardamento é importante, a fim de permitir a detecção de água que pode não estar disponível imediatamente, particularmente quando se analisam amostras que não são completamente solúveis no meio de trabalho (ISENGARD, 2001; RONKART et al., 2006; ISENGARD e HEINZE, 2003).

Um aspecto importante da titulação de Karl Fischer é que a água deve entrar em contato direto com os reagentes, o que pode causar problemas com amostras insolúveis. Várias medidas existem, no entanto, para prever uma detecção de água praticamente completa. Eles compreendem um longo tempo de retardamento, a extração externa da água, a redução do tamanho de partícula por uma preparação da amostra ou pelo uso de um homogeneizador na célula de titulação, temperaturas elevadas, a adição de solventes no meio de trabalho ou a substituição de metanol por outros álcoois, a fim de mudar a polaridade (SHÖFFSKI, 2001; ISENGARD, 2001; ISENGARD e HEINZE, 2003; RONKART et al., 2006).

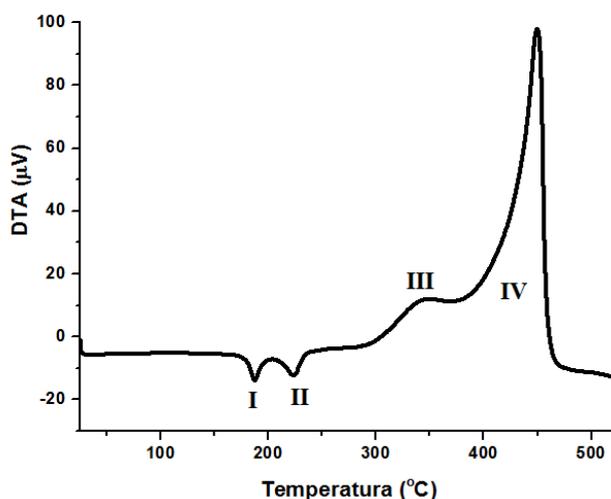
O método de titulação de Karl Fischer é aplicado geralmente, em amostras que não dão bons resultados pelo método de secagem a vácuo. Os produtos analisados por este método são aqueles que normalmente possuem teores de umidade baixos como frutas e vegetais desidratados, balas, chocolates, café torrado, óleos e gorduras; além de ser utilizado em produtos ricos em açúcares, como mel e produtos ricos em açúcares redutores e proteínas, como cereais. O método ainda pode ser aplicado em produtos de níveis de umidade intermediários como produtos de padaria, misturas para bolos ricas em gorduras e também em produtos com altos níveis de óleos vegetais (CECCHI, 1999).

#### **2.2.1.5 Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTA)**

A análise térmica (TA) é um termo abrangente que inclui numerosas técnicas, e faz o estudo da relação entre a propriedade da amostra e a sua temperatura quando a amostra é aquecida ou refrigerada de uma forma controlada. Assim, existe uma técnica para cada propriedade ou quantidade física que é medida em função da temperatura. A termogravimetria (TG) é uma técnica que se baseia na medida das mudanças da massa da amostra em função do aquecimento da mesma (Figura 2.5).

A técnica de Análise Térmica Diferencial (DTA) se baseia na medida da diferença de temperatura entre uma amostra e um material de referência termicamente inerte, à medida que ambos vão sendo aquecidos ou resfriados em um forno. A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) se baseia na medida da diferença de energia necessária aplicada à substância e a um material de referência, enquanto estes são submetidos a uma variação controlada de temperatura, de maneira que amostra e a referência sejam mantidas em condições isotérmicas, uma em relação à outra. (LEVER et al., 2014; MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

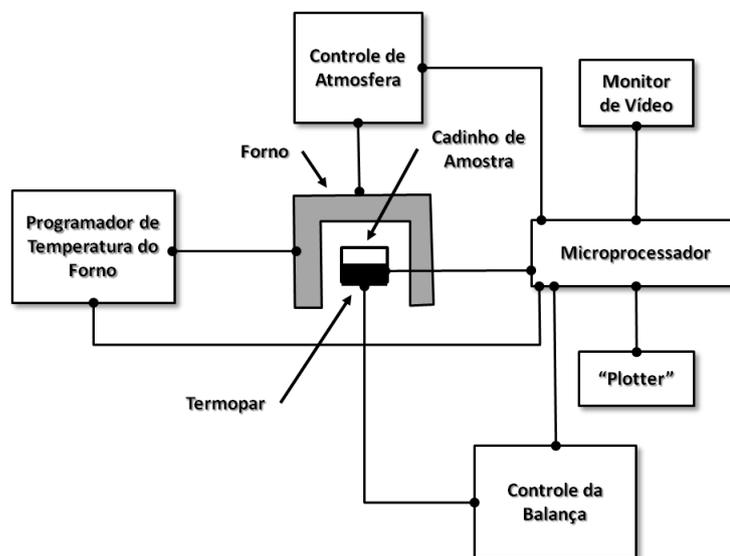
Na análise térmica diferencial (DTA) as mudanças de temperatura na amostra são ocasionadas pelas transições ou reações entálpicas (endotérmica e exotérmica) devido a mudanças de fase, fusão, sublimação, vaporização, reações de dissociação ou decomposição, inversões da estrutura cristalina, desidratações, entre outras (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002). Uma curva DTA típica é ilustrada na Figura 3.4, onde os eventos I e II são endotérmicos e os eventos III e IV são exotérmicos.



**Figura 2.5.** Curva típica obtida pela técnica de DTA. (Fonte: Arquivo pessoal).

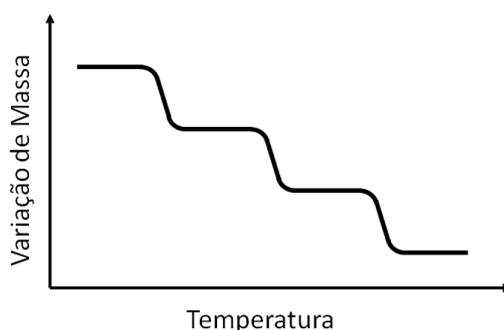
O esquema da Figura 2.6 apresenta os equipamentos básicos utilizados em experimentos termogravimétricos. A termobalança é a parte mais importante, sendo um instrumento que permite a medição contínua de massa da amostra em função da temperatura e/ou do tempo. A amostra pode ser aquecida ou resfriada na razão selecionada ou pode ser mantida isotermicamente em uma temperatura fixa. Quase

todas as balanças hoje são acopladas a sistemas computacionais de automação e digitalização (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).



**Figura 2.6.** Esquema de funcionamento de um sistema de análise termogravimétrica. (Fonte: MOTHÉ e AZEVEDO, 2002)

Na termogravimetria em modo dinâmico apresentada esquematicamente na Figura 2.7, a amostra é aquecida em um ambiente no qual a vazão de um gás é controlada e a variação de temperatura é programada (por exemplo,  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ).



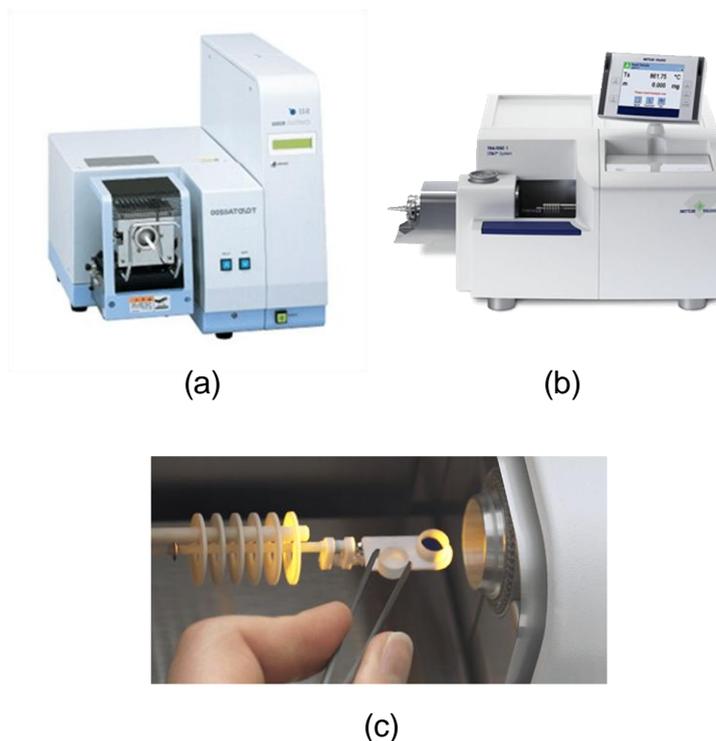
**Figura 2.7.** Esquema da termogravimetria em modo dinâmico. (Fonte: MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

As curvas termogravimétricas apresentam informações sobre a estabilidade térmica e a composição da amostra original, de compostos intermediários que

podem ser formados e, ainda a composição de resíduos quando houver (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002). Neste modo de funcionamento dinâmico da termogravimetria as características de secagem dos alimentos, e os processos envolvidos, podem ser estudados, seguindo a perda de água.

Os métodos de análise térmica dinâmicos, devido a sua capacidade de monitorar as propriedades físicas e químicas, têm se mostrado uma ferramenta poderosa para sondar a extensão, a razão e a sequência de eventos térmicos em sistemas de carboidratos puros e complexos. Eles têm, portanto, permitido descobertas valiosas sobre os mecanismos físico-químicos de transições de fase, comportamento conformacional, interações com os outros constituintes, degradação pirolítica e alterações na composição de carboidratos aquecidos. Informações analíticas produzidas por um analisador termogravimétrico (Figura 2.8) podem ser tanto qualitativas quanto quantitativas (HARWALKAR e MA, 1990).

Os produtos alimentícios ou componentes alimentares são misturas quimicamente complexas. Eles podem incluir pequenas moléculas, tais como açúcar nas formas dextrogira e levogira, onde as propriedades químicas, solubilidades, reatividade podem ser bastante diferentes. Às vezes, os componentes moleculares podem formar diferentes fases de água e temperaturas de liberação destas (NIELSEN, 1994).



**Figura 2.8.** Modelos de equipamentos: (a) Modelo Exstar-TG/DTA6000 da Seiko (Disponível em: <http://www.b2bthai.com/> Acesso em: 30/01/2015) (b) TGA 1 Star System – Mettler Toledo (c) Cadinhos de alumina (Disponível em: [http://au.mt.com/au/en/home/products/Laboratory\\_Analytics\\_Browse/TA\\_Family\\_Browse/TGA.html](http://au.mt.com/au/en/home/products/Laboratory_Analytics_Browse/TA_Family_Browse/TGA.html) Acesso em: 30/01/2015)

## 2.2.2 Métodos Indiretos

### 2.2.2.1 Densimetria, Polarimetria, Refratometria e Medições Elétricas

A densimetria é utilizada se apenas são exigidos resultados aproximados e se a composição do produto é simples e difere apenas nos teores de água, assim, uma calibração dos teores de água contra a densidade pode ser estabelecida. Este é um método simples, rápido e barato, mas pouco preciso, sendo utilizado para amostras com altos teores de açúcar, em que a quantidade de água é obtida através da densidade da amostra (ISENGARD, 2001; NIELSEN 1994; CECCHI, 1999).

De um modo semelhante a polarimetria e a refratometria podem servir como um método para soluções que diferem apenas nos teores de água. A medida do índice de refração é um método bastante simples e rápido, mas pouco preciso. É realizada no refratômetro, e está baseada na medida do ângulo de refração da

amostra. Um campo extenso é a aplicação das propriedades elétricas das amostras para medir os seus teores de água. Estas técnicas envolvem a determinação da condutividade, resistência, capacitância ou permissividade. A determinação da condutividade baseia-se no princípio de que a quantidade de corrente elétrica que passa num alimento será proporcional à quantidade de água presente. No entanto, apesar de ser um método rápido, é pouco preciso. Nos métodos elétricos, as medidas podem ser afetadas pela textura do alimento, pelos teores de íons metálicos, pela temperatura e pela distribuição da água no alimento. Podem ser adotados para a avaliação da matéria prima e durante o processamento; porém devem-se ter dois cuidados na sua utilização; corrigir a temperatura e fazer a calibração para cada tipo de alimento (ISENGARD, 2001; NIELSEN 1994; CECCHI, 1999).

### **2.2.2.2 Atividade de Água**

A maioria dos métodos utilizados para a determinação da atividade de água em alimentos foram originalmente definidos para a medição da umidade relativa do ar atmosférico pelos meteorologistas. A atividade de água ( $a_w$ ) é a medida geralmente necessária para saber se o produto atingiu a zona crítica, onde podem ocorrer as reações de deterioração. É por isso que a precisão de 0,01 unidade de  $a_w$ , é suficiente para a maioria das aplicações relacionadas com os alimentos (MATHLOUTHI, 2001). A atividade de água é definida como a razão entre a pressão parcial de vapor de água ( $p$ ) do alimento e a pressão de vapor da água pura ( $p_o$ ):

$$a_w = p / p_o$$

Existem várias técnicas para medir a atividade de água. Uma delas baseia-se na medição da quantidade de umidade em equilíbrio nas amostras do alimento, o que se correlaciona diretamente com a atividade de água. Uma variação simples e rigorosa deste método é a técnica de espelhos refrigerados, em que o vapor de água condensa-se no espaço superior sobre a superfície de um espelho que é aquecido de uma forma controlada. No ponto de orvalho a atividade de água é medida quando ocorre o equilíbrio entre a água da amostra com o vapor de água no espaço vazio da câmara de amostra. Mede-se então a pressão de vapor no espaço vazio (Figura 2.9).



**Figura 2.9.** Modelo de medidor de atividade de água (Disponível em: <http://aqualab.decagon.com.br/> Acesso em 27/01/2015).

A grande vantagem na determinação da pressão de vapor da água no ar, por ponto de orvalho, é que o ar pode ser resfriado sem alterar os teores de água até a sua saturação. A temperatura de formação do ponto de orvalho é a temperatura na qual o ar alcança a saturação. Duas outras abordagens gerais para a medição são (1) usando o abaixamento do ponto de congelamento da amostra e os teores de umidade para calcular a  $a_w$  e (2) uma amostra em equilíbrio em uma câmara mantida a uma umidade relativa constante (por meio de uma solução saturada de sal) e, em seguida, usando os teores de água da amostra para calcular a atividade de água (NIELSEN, 1994; ISENGARD, 2001; MATHLOUTHI, 2001).

### 2.3 Referências

ACQUISTUCCI, R.; BUCCI, R.; MAGRI, A.D.; MAGRI, A.L. Evaluation of the moisture and ash contents in wheat mills by multistep programmed thermogravimetry. *Thermochimica Acta*, v. 188, p. 51–62, 1991.

ADAM, M. DOBIÁS, P.; BAJEROVÁ, P.; VENTURA, K. Comparison of various methods for determination of water in White yoghurts. *Food Chemistry*, v. 115, p. 1069-1073, 2009.

AOAC-Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC International, 19<sup>th</sup> Edition, 2012.

CECCHI, H.M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Editora da Unicamp: Campinas, 1999.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O. R. Química de Alimentos de Fennema. Artmed, Porto Alegre: 2010.

DUCAT, G.; FELSNER, M.L.; COSTA NETO, P.R.; QUINAIA, S.P. Development and In House Validation of a New Thermogravimetric Method for Water Content Analysis in Soft Brown Sugar. *Food Chemistry*, v. 177, p.158-164, 2015.

ERRINGTON, J.R.; DEBENEDETTI, P.G. Relationship between structural order and the anomalies of liquid water. *Nature (London)*, v. 409, p.318-321, 2001.

FELSNER, M.L. Caracterização de Méis Monoflorais de Eucalipto e Laranja do Estado de São Paulo por Técnicas Termoanalíticas. 255 f. Tese de Doutorado. Instituto de Química – USP. 2001.

GUILLOT, B. A molecular-dynamics study of the far infrared spectrum of liquid water. *Journal of Chemical Physics*, v. 95, p. 1543-1551, 1991.

HARWALKAR, V.R., & MA, C.Y. *Thermal Analysis of Foods*. Elsevier Science Publishers LTD, England, 1990.

ISENGARD, H.D. Rapid water determination in foodstuffs. *Trends Food Science & Technology*, v.6, p. 155-162, 1995.

ISENGARD, H.D. Water content, one of the most important properties of food. *Food Control*, v. 12, p. 395-400, 2001.

ISENGARD, H.D.; HEINZE, P. Determination of total water and surface water in sugars. *Food Chemistry*, v. 82, p. 169-172, 2003.

ISENGARD, H.D. Water determination – Scientific and economic dimensions. *Food Chemistry*, v. 106, p. 1393-1398, 2008.

ISO, International Organization for Standardization. International Standard 939: Spices and Condiments – Determination of moisture content, Geneva, Switzerland, 1980.

LEVER, T.; HAINES, P.; ROUQUEROL, J.; CHARLESLEY, E.L.; VAN ECKEREN, P.; BURLETT, D.J. ICTAC nomenclature of thermal analysis. *Pure and Applied Chemistry*, v.86, n.4, p. 545–553, 2014.

MATHLOUTHI, M. Water content, water activity, water structure and the stability of food stuffs. *Food Control*, v. 12, p. 409-417, 2001.

MENDONÇA, J.C.F.; FRANÇA, A.S.; OLIVEIRA, L.S. A comparative evaluation of methodologies for water content determination in green coffee. *LWT – Food Science and Technology*, v. 40; p. 1300-1303, 2007.

MOTHÉ, C.G.; AZEVEDO, A.D. *Análise térmica de materiais*. iEditora, São Paulo, 2002.

NIELSEN, S.S. *Introduction to the Chemical Analysis of Food*. Jones and Bartlett Publishers: London, 1994.

PARK, K.J.; ANTONIO, G.C. *Análises de materiais biológicos*. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, 2006. Disponível em: [http://www.feagri.unicamp.br/ctea/manuais/analise\\_matbiologico.pdf](http://www.feagri.unicamp.br/ctea/manuais/analise_matbiologico.pdf), acesso em janeiro/2014.

RONKART, S.N.; PAQUOT, M.; FOUGNIES, C., DEROANNE, C.; VAN HERCK, J.C.; BLECKER, C. Determination of total water content in inulin using the volumetric Karl Fischer titration. *Talanta*, v. 60, 1006-1010; 2006.

RÜCKOLD, S.; GROBECKER, K. H.; ISENGARD, H.D. Determinations of the contents of water and moisture in milk power. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, v.368, p. 681-684, 2000.

SHÖFFSKI, K. New Karl Fischer reagentes for water determination in food. *Food Control*, v.12, p. 427-429, 2001.

SILVA, V.M.; SILVA, L.A.; de Andrade, J.B.; Veloso, M.C.C.; Santos, G.V. Determination of moisture content and water activity in algae and fish by thermoanalytical techniques. *Química Nova*, v. 31, p. 901–905, 2008.

TOMASSETTI, M.; CAMPANELLA, L.; AURELI, T. Thermogravimetric analysis of some spices and commercial food products: Comparison with other analytical methods for moisture content determination (part 3). *Thermochimica Acta*, v. 143, p.15–26, 1989.

YAZGAN, S.; BERNREUTHER, A.; ULBERTH, F.; ISENGARD, H.D. Water – an important parameter for the preparation and proper use of certified reference materials. *Food Chemistry*, v. 96, p. 411-417, 2006.

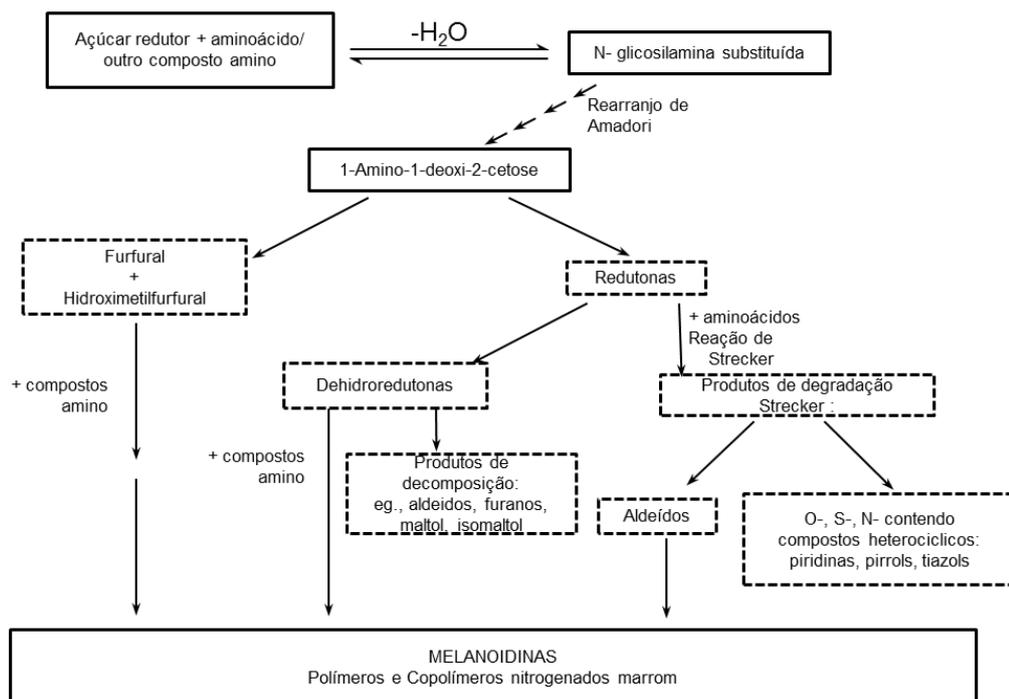
## **CAPÍTULO 3. REAÇÃO DE MAILLARD E CARMELIZAÇÃO**

## REAÇÃO DE MAILLARD E CARMELIZAÇÃO

### 3.1 Reação de Maillard

O fenômeno de escurecimento de certos alimentos é frequentemente encontrado durante a preparação e processamentos que envolvem calor. Este fenômeno é chamado de escurecimento não enzimático. A formação de pigmentos castanhos foi observada pela primeira vez pelo químico francês Louis Maillard (1912), após o aquecimento de uma solução contendo glicose e lisina. Quando aminas, aminoácidos ou proteínas são aquecidos com açúcares, aldeídos e cetonas, uma série de reações complexas, como as referidas reações de Maillard, ocorrem, levando a formação de sabores, aromas, e pigmentos escuros. Estas reações podem ser desejáveis como na torrefação do café e de cacau, e na formação de crostas em produtos de panificação ou indesejáveis como a formação de compostos amargos e a redução do valor nutricional resultante da perda de certos aminoácidos como a lisina (CUI, 2005; WROLSTAD,2012; AZEREDO, 2012). Além disso, a reação de Maillard pode ser afetada pelo pH do alimento, pois a forma aberta da cadeia do açúcar e a forma não protonada do grupo amino são favorecidas pelo pH alto, enquanto que a reação é inibida a valores de pH menores que 5,0. Também pode ocorrer durante a estocagem, porém mais significativa em alimentos com umidade intermediária (MARTINS, JOGEN e BOEKEL, 2000; AZEREDO, 2012).

Essa reação consiste numa série de reações que são iniciadas pela condensação de um grupo amino e um açúcar redutor. A reação continua através de uma série de reações consecutivas que incluem oxidação, redução e condensação. Nas reações de condensação ocorre a formação de moléculas de água. Entre os vários produtos finais da reação, destacam-se os pigmentos marrons insolúveis de pesos moleculares e teores de nitrogênio variáveis, conhecidos como melanoidinas, como mostrado na Figura 3.1, (WROLSTAD,2012; DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).



**Figura 3.1.** Reações de escurecimento não enzimático. (Fonte: modificado a partir de CUI, 2005).

### 3.2 Caramelização

Caramelização é outro exemplo de reações de escurecimento não enzimático que envolve a degradação dos açúcares durante o aquecimento. Aquecimento de ambos os açúcares redutores (glicose) ou não (sacarose) sem quaisquer compostos nitrogenados resulta em um conjunto complexo de reações que conduzem a um caramelo castanho escuro. A composição química do caramelo é complexa e não totalmente esclarecida. O caramelo produzido por aquecimento de uma solução de sacarose em bissulfito de amônio é utilizado em refrigerantes, produtos assados, doces e outros produtos alimentares como um composto corante. No entanto, se a reação de caramelização não é controlada, irá formar produtos com sabor amargo e desagradável. O calor intenso e baixo valor de pH pode desencadear as reações (CUI, 2005).

### 3.3 Referências

AZEREDO, H. M.C. Fundamentos de Estabilidade de Alimentos. 2ed. Embrapa: Brasília-DF, 2012.

CUI, S. W. Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties and Applications. Taylor & Francis Group. New York, USA, 2005.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O. R. Química de Alimentos de Fennema. Artmed, Porto Alegre: 2010.

MARTINS, S.I.F.S.; JOGEN, W.M.F.; BOEKEL, M.A.J.S.van. A Review of Maillard Reaction in Food and Implications to Kinetic Modelling. *Trends in Food Science and Technology*, v.11, p.364-373, 2000.

WROLSTAD, R.E. Food Carbohydrate Chemistry. Wiley-Blackwell a JohnWiley & Sons Ltd.Iowa, USA, 2012.

## **CAPÍTULO 4. AMOSTRAGEM**

## AMOSTRAGEM

Neste capítulo serão descritas informações acerca da aquisição das amostras de açúcar mascavo, de melado, de xarope, de sucos e geleias de frutas utilizadas no estudo dos teores de água e/ou umidade das mesmas, incluindo a codificação adotada no laboratório, procedência, data de fabricação e/ou de validade (Tabelas 4.1, 4.2 e 4.3).

As amostras dos alimentos analisados foram obtidas ao acaso em estabelecimentos comerciais localizados em Guarapuava – PR, Brasil e em Winnipeg, Canadá no período de 2012 a 2013. As amostras foram identificadas por uma codificação que consistia de uma letra identificando o tipo de alimento (letras A, B, C, D e E = açúcar mascavo, M = melado, X = xarope, S = suco de fruta, G = geleia de fruta) e um número de ordem de chegada no laboratório.

**Tabela 4.1.** Informações e codificação das amostras de açúcar mascavo (A1 a E3).

ID <sup>1</sup>	Procedência	Data de Fabricação
A1	Curitiba-PR	dez/11
A2	Curitiba-PR	jun/12
A3	Curitiba-PR	jul/12
B1	Curitiba-PR	mar/12
B2	Curitiba-PR	jun/12
B3	Curitiba-PR	jul/12
C1	Salto do Lontra - PR	fev/12
C2	Salto do Lontra - PR	ago/12
C3	Salto do Lontra - PR	set/12
D1	Terra Boa-PR	mai/12
D2	Terra Boa-PR	ago/12
D3	Terra Boa-PR	jun/12
E1	Terra Boa-PR	mar/12
E2	Terra Boa-PR	mai/12
E3	Terra Boa-PR	jun/12

<sup>1</sup> ID = Identificação das amostras em que as letras correspondem a identificação do alimento e os números a ordem de aquisição e entrada no laboratório.

**Tabela 4.2.** Informações e codificação das amostras de melado de cana (M1 a M6) e de xarope (X1 a X6).

ID <sup>1</sup>	Procedência	Data <sup>2</sup> Fabricação/Validade
M1	Cascavel-PR	mai/12 <sup>a</sup>
M2	Sto Antonio da Patrulha - RS	dez/12 <sup>a</sup>
M3	Sto Antonio da Patrulha - RS	jun/12 <sup>a</sup>
M4	Jaraguá do Sul-SC	mai/12 <sup>a</sup>
M5	Luis Alves-SC	abril/13 <sup>a</sup>
M6	Canadá	set/14 <sup>b</sup>
X1	Paranavaí-PR	set/11 <sup>b</sup>
X2	Garanhuns-PE	nov/13 <sup>b</sup>
X3	Pato Branco-PR	dez/11 <sup>a</sup>
X4	Estados Unidos	dez/15 <sup>b</sup>
X5	Estados Unidos	
X6	St.Honoré, Canada	out/15 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>ID = Identificação das amostras em que as letras correspondem a identificação do alimento (M = melado de cana e X = xarope) e os números a ordem de aquisição e entrada no laboratório <sup>2.a</sup>data de fabricação; <sup>2.b</sup>data de validade.

**Tabela 4.3.** Informações e codificação das amostras de sucos de frutas (S1 a S10), geleias de frutas (G1 a G7).

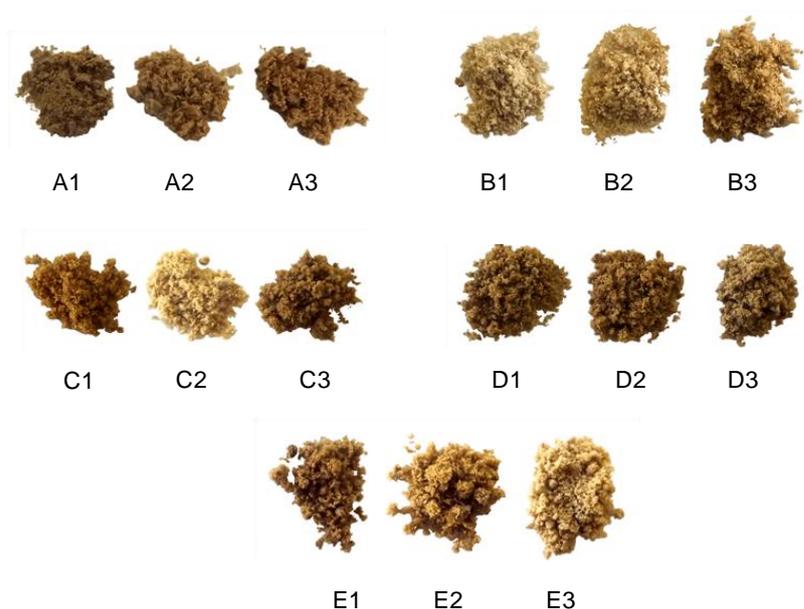
ID	Sabor	Procedência	Data de Fabricação
S1	Uva	São Cristovão - SE	dez/12
S2	Abacaxi	São Cristovão - SE	nov/12
S3	Caju	São Cristovão - SE	out/12
S4	Manga	São Cristovão - SE	jan/13
S5	Goiaba	Alto da Cheia Aracati-CE	ago/12
S6	Maçã	Alto da Cheia Aracati-CE	dez/12
S7	Maracujá	Alto da Cheia Aracati-CE	jan/13
S8	Pêssego	Alto da Cheia Aracati-CE	ago/12
S9	Uva	Pinheiro Preto-SC	fev/13
S10	Uva branca	Garibaldi - RS	jan/13
G1	Uva	Boa Vista-Céu Azul-PR	set/12
G2	Pêssego	Distr. Agroindustrial de Morrinhos-GO	ago/12
G3	Framboesa	Distr. Agroindustrial de Morrinhos-GO	jan/13

ID	Sabor	Procedência	Data de Fabricação
G4	Figo	Morro Redondo - RS	fev/13
G5	Abacaxi	Morro Redondo - RS	fev/13
G6	Morango	Distr. Agroindustrial de Morrinhos-GO	abr/13
G7	Goiaba	Distr. Agroindustrial de Morrinhos-GO	mar/13

<sup>1</sup> ID = Identificação das amostras em que as letras correspondem a identificação do alimento (S = sucos de frutas e G = geleia de frutas) e os números a ordem de aquisição e entrada no laboratório.

#### 4.1 Açúcar Mascavo

O açúcar mascavo é um dos produtos derivados da cana de açúcar, produzido normalmente de forma artesanal em pequenas agroindústrias pelo resfriamento do xarope de cana altamente concentrado o qual não é submetido a processos de clarificação, ou seja, não há operação suficiente para remover impurezas que poderiam estar presentes no caldo. Assim o produto pode ter um aspecto marrom claro a marrom escuro (Figura 4.1), em função do tipo de cana-de-açúcar colhida, sendo denso e pesado, com sabor semelhante à rapadura moída. (ARAÚJO et al., 2011; DELGADO e DELGADO, 1999).



**Figura 4.1.** Amostras de açúcar mascavo (A1 a E3) utilizadas no estudo (Fonte: Arquivo pessoal).

Foram adquiridas no comércio local 15 amostras de açúcar mascavo, de cinco diferentes produtores. Cada amostra de açúcar mascavo recebeu uma codificação em que letras (A, B, C, D e E) representam o fabricante e os números referem-se aos lotes de açúcar mascavo de cada fabricante. As amostras A1 a A3 e amostras C1 a E3 apresentaram uma textura úmida, grãos finos, coloração castanha escura e odor forte de melado de cana. As amostras B1 a B3 apresentaram coloração castanha mais clara e grãos maiores (Figura 4.1). Todas as amostras foram armazenadas em seus próprios recipientes e mantidas em ambiente seco e arejado até a realização dos ensaios.

## **4.2 Melado de Cana**

Segundo a resolução 12/35 de 1978 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) do Ministério da Saúde o melado de cana é um “líquido xaroposo obtido pela evaporação do caldo de cana (*Saccharum officinarum* L.) ou a partir da rapadura por processos tecnológicos adequados” e melaço de cana “é o líquido que se obtêm como resíduo de fabricação do açúcar cristalizado, do melado ou da refinação do açúcar bruto” (ANVISA, 1978). Suas características sensoriais são: aspecto líquido xaroposo e denso (viscoso), cor marrom escura, com cheiro próprio e gosto doce. Em sua composição encontram-se a sacarose e todos os produtos originais do caldo de cana e também os formados durante o processamento (PINTO, PEREIRA e MIZUBUTI, 2003).

Para a produção do melado de cana seguem-se algumas etapas. Primeiramente, obtêm-se a matéria-prima (cana-de-açúcar), sendo melhor a cana que contenha maior teor de açúcar (sacarose). Em seguida, faz-se a moagem da cana para a obtenção do caldo de cana. Este caldo apresenta cerca de 80,0% (m/m) de água e 20,0 % (m/m) de matéria sólida. O caldo passa então por etapas de purificação, por meio da filtração e da decantação, sendo que na primeira etapa realiza-se a retirada de bagacilhos de cana e posteriormente, a purificação química e térmica, para retirada de componentes que floculam, por reação ou aplicação de calor. Essas etapas são necessárias para garantir que um caldo de cana mais limpo seja obtido, visando o atendimento das exigências de qualidade. A etapa de concentração do caldo de cana para a produção do melado é realizada por meio da fervura do mesmo, e após a ebulição mantem-se à temperatura entre 103 °C a 105

°C, para atingir o ponto de concentração desejada. A correção da acidez do melado é feita então com leite de cal. Finalmente, o melado é transferido para tanques de inox, onde é resfriado a temperatura de 85 °C, e em seguida envasado para a comercialização (CARVALHO, 2007).

Para o estudo foram adquiridas cinco amostras de melado de cana (M1 a M5) e uma amostra de melaço de cana (M6) as quais se apresentavam todas no estado líquido e denso, com material em suspensão e coloração escura (Figura 4.2). A amostra M2 oriunda do Brasil foi a que apresentou coloração mais clara e a amostra M6 proveniente do Canadá apresentou coloração mais escura em relação às demais amostras de melado de cana, por se tratar de uma amostra de melaço de cana.



**Figura 4.2.** Amostras de melados provenientes do Brasil (M1 a M5) e do Canadá (M6) (Fonte: Arquivo pessoal).

### 4.3 Xarope

Os xaropes são soluções de açúcares, geralmente redutores, podendo conter também misturas destes e os teores variam entre 70 % a 80 %, ou mais. Os xaropes são usados na indústria alimentícia em níveis relativamente baixos em biscoitos devido a seus sabores distintos, utilizados como umectantes (materiais que previnem a perda de água do alimento), prevenindo as texturas assadas contra a dureza e fragilidade, na produção de balas, gomas de mascar, bebidas alcoólicas e refrigerantes (ADITIVOS e INGREDIENTES, 2008; BELITZ, GROSCH e SCHIEBERLE, 2009).

Há dois processos distintos reportados pela literatura para a obtenção do xarope de açúcar invertido ou xarope de glicose de milho. O primeiro pode ser derivado da sacarose pelo refinamento do açúcar ou inversão completa ou parcial, e

o segundo proveniente do amido de milho (NEWTON, 2007). O xarope de glicose, que provém do amido de milho, pode ser hidrolisado, a partir do tratamento com ácidos, temperatura e pressão, ou ainda por via enzimática, ou ambos os processos (PINTO, 2009; NEWTON, 2007). Porém, o processo enzimático é o mais utilizado na fabricação (RUIZ-MATUTE et al., 2010).

Para este estudo foram adquiridas cinco amostras de xarope de glicose de milho (X1 a X5) e mais uma amostra de xarope de bordo (X6), de fabricantes distintos. As amostras X1 a X3 foram fabricadas no Brasil, as amostras X4 e X5 nos Estados Unidos e a amostra X6 no Canadá. A amostra X5 como diferencial apresenta em sua composição baunilha. O xarope de bordo (X6) é conhecido como *maple syrup* e *sirop d'érable* nos Estados Unidos e Canadá, respectivamente, sendo extraído da seiva bruta de árvores do gênero *Acer*, sobretudo *Acer nigrum* e *Acer saccharum*, cujo nome comum, no Brasil, é bordo. A seiva contém, aproximadamente, 3,0 % de sacarose e tem um aroma peculiar. Esta seiva é concentrada a aproximadamente 70,0 % a 75,0 % de sacarose (ADITIVOS e INGREDIENTES, 2008). Todas as amostras de xarope adquiridas (X1 a X6) se encontravam em estado líquido, límpidas, viscosas (Figura 4.3).



**Figura 4.3.** Amostras de xaropes provenientes do Brasil (X1 a X3), Estados Unidos (X4 e X5) e Canadá (X6) (Fonte: Arquivo pessoal).

#### 4.4 Suco de Frutas

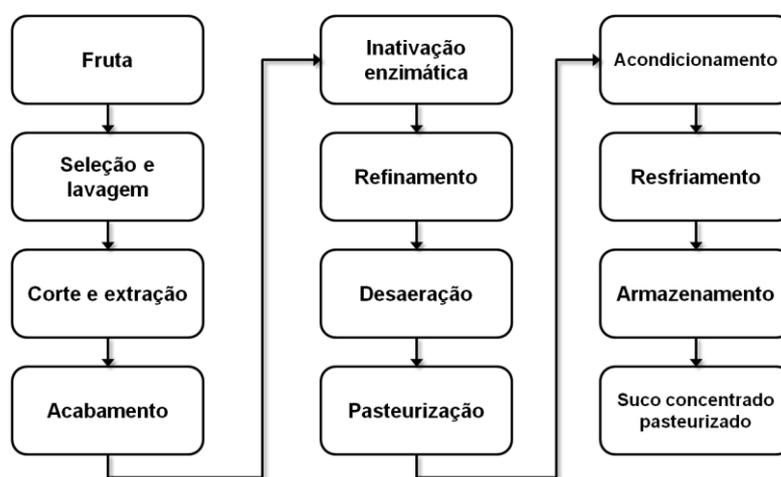
O suco de frutas, por definição é uma bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, destinada ao consumo que pode ser obtido a partir da fruta madura, ou de parte do vegetal de origem, por processamento tecnológico adequado. É submetido a um tratamento que assegure sua aparência e o conserve até o momento do seu consumo. O suco não pode conter substâncias estranhas à

fruta ou partes do vegetal de origem, com exceção das permitidas por lei específica. O açúcar pode ser adicionado em uma quantidade fixa para cada tipo de suco, porém deve-se observar o percentual máximo de 10,0 % em peso, o qual é calculado com base nos sólidos naturais do suco. Não há permissão para associar açúcares com edulcorantes muito menos o emprego de aromatizantes e corantes artificiais na produção (OETTERER, REGITANO-D'ARCE e SPOTO, 2006; IAL, 2008).

Os néctares de frutas são produtos não fermentados, não gaseificados, destinados ao consumo direto, obtidos pela dissolução em água potável de partes comestíveis de frutas maduras, desprovidas de sementes, com ou sem casca que são desintegradas, peneiradas e acondicionadas (OETTERER, REGITANO-D'ARCE e SPOTO, 2006; IAL, 2008).

A produção de sucos segue algumas etapas (Figura 4.4). Primeiramente escolhe-se a fruta fazendo a seleção e a lavagem e em seguida realiza-se o corte e a extração que consiste na separação do suco das demais partes das frutas (cascas, fibras, sementes e outras partes não comestíveis). O processo é feito através de despoldadeiras ou prensa hidráulica. O processo de extração é específico para cada fruta (acabamento). Logo, para as frutas sensíveis, aplica-se a extração a frio, e para as frutas resistentes, aplica-se a extração a quente (acima de 65 °C). A inativação enzimática é o processo que consiste em um tratamento térmico para parar ou diminuir as reações enzimáticas, e reduzir a carga microbiana que deterioram o produto; é realizada com a aplicação de temperaturas de 75 °C a 80 °C de 15 a 30 segundos. A etapa de refinamento ou refino é utilizada para remover da polpa de algumas frutas (manga e abacaxi), material fibroso e sólido (pectina e celulose), que podem prejudicar a qualidade do produto final e para isso utilizam-se centrífugas, filtros, ou mesmo despoldadeiras com peneiras de malha bem fina. A desaeração consiste na eliminação do ar incorporado ao produto durante as fases anteriores, provocando alterações na cor, aroma e sabor. A etapa de pasteurização é a esterilização do produto, através de um tratamento térmico com temperaturas em torno de 115 °C a 125 °C durante 15 a 20 minutos, seguido de resfriamento. Para melhor conservação dos sucos utiliza-se um processo químico que consiste na adição de conservantes químicos e afins. Após a pasteurização do suco este sofre resfriamento até a temperatura ambiente. O acondicionamento seria uma

combinação de processos de esterilização, em alta temperatura, durante um curto período de tempo; o produto é então esterilizado e resfriado antes de ser embalado. Para o armazenamento as embalagens mais utilizadas são as garrafas de vidro, garrafas PET e embalagens cartonadas. Os rótulos devem conter informações como a fruta de origem, o tipo de suco, a data de fabricação, a data de validade, o nome e o endereço do fabricante, CNPJ e inscrição estadual. Finalmente tem-se como produto final o suco concentrado pasteurizado (ABIMAQ, 2009; OETTERER, REGITANO-D'ARCE e SPOTO, 2006).



**Figura 4.4.** Esquema básico de produção de sucos. (Fonte: MORAES, 2006).

As dez amostras de sucos de frutas avaliadas neste trabalho foram obtidas de diferentes frutas e produzidas por quatro fabricantes distintos (Figura 4.5). As amostras S1 a S4 foram do fabricante 1, as amostras S5 a S8 do fabricante 2, a amostra S9 do fabricante 3 e a amostra S10 do fabricante 4. As amostras S1 e S9 ambas de uva possuem características diferentes; a amostra S1 apresentou-se na forma de néctar (para consumo direto) e a amostra S9 era um suco integral que poderia ser dissolvido em água ou consumido puro.

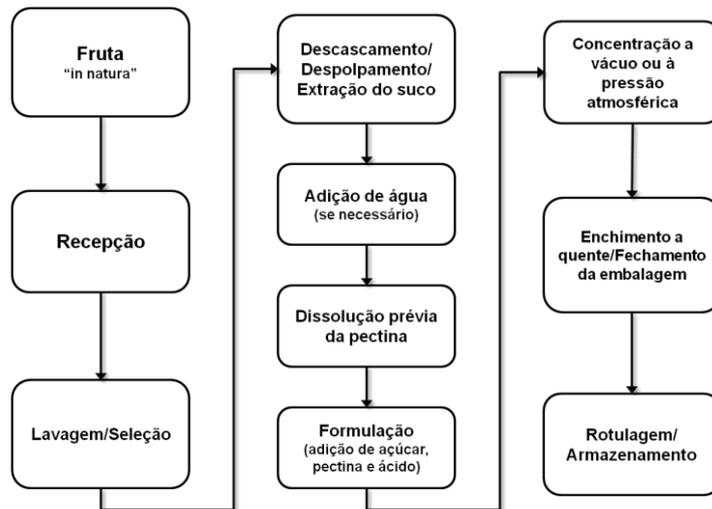


**Figura 4.5.** Amostras de sucos de frutas (S1 a S10) (Fonte: Arquivo pessoal).

#### 4.5 Geleia de frutas

A geleia é um produto resultante do processamento tecnológico de frutas e/ou sucos livres de sólidos em suspensão que, devido ao equilíbrio entre ácido, pectina natural e açúcar resulta em um produto gelatinizado de consistência firme e própria, podendo apresentar frutas inteiras, partes e/ou pedaços (OETTERER, REGITANO-D'ARCE e SPOTO, 2006; IAL, 2008).

A Figura 4.6 mostra um esquema básico para a obtenção de geleias. Às vezes essa sequência pode apresentar pequenas alterações ou particularidades dependendo da fruta que se está trabalhando. As geleias podem ser produzidas a partir da fruta “*in natura*” ou de polpas de frutas ou frutas pré-processadas, congeladas ou preservadas quimicamente.



**Figura 4.6.** Esquema para obtenção de geleia de frutas. (Fonte: TORREZAN, 1998).

As frutas “*in natura*” são primeiramente recebidas, pesadas e são feitas anotações sobre o seu estado de conservação e apresentação. Para a produção de geleias as frutas devem estar maduras, pois é quando apresentam seu melhor sabor, cor e aroma e estão ricas em açúcar e pectina. A seleção das frutas deve ser cuidadosa e feita por pessoas treinadas em mesas ou esteiras de seleção. Depois se faz uma pré-lavagem e a desinfecção com hipoclorito de sódio. A etapa de lavagem é feita por imersão, agitação em água ou aspensão. Após as frutas serem selecionadas e lavadas ocorre o descascamento, em que se retiram os caroços e sementes. O despulpamento é usado para separar a polpa da fruta do material fibroso, sementes, cascas, etc. para a extração do suco. A adição de água só deve ocorrer se as frutas precisarem de um cozimento prévio ou para facilitar a dissolução do açúcar.

O açúcar utilizado na fabricação de geleias é a sacarose, que durante a cocção sofre inversão em meio ácido, um processo de hidrólise em que é desdobrada em glicose e frutose. Isso é necessário para evitar a cristalização que pode ocorrer na estocagem. Para adicionar a pectina faz-se necessário fazer sua pré-dissolução, misturando-se a seco uma parte de pectina para quatro partes de açúcar e adicionando-se água aquecida (65 - 70 °C) com alta agitação mecânica até a formação de uma solução homogênea. Posteriormente, faz-se a adição de acidulantes para baixar o pH e obter a geleificação adequada e realçar o sabor natural da fruta; para isso o pH deve estar entre 3,0 a 3,2. Como para a maioria das

frutas esse pH não é alcançado no sistema fruta, pectina e açúcar, é necessário fazer a adicificação geralmente com ácidos orgânicos (cítrico, tartático e málico). A concentração pode ser feita por dois métodos básicos, à pressão atmosférica e a vácuo. Se for a pressão atmosférica ela é realizada em tachos abertos, com camisa de vapor e agitador mecânico e o tempo utilizado para esse processo é de 8 a 12 minutos. No método a vácuo a concentração pode ser contínua ou descontínua e a temperatura é de cerca de 50 - 60 °C. Após a cocção, a geleia pode ser aquecida no próprio concentrador à temperatura de 85 - 90 °C, ou pode ser descarregada e aquecida em outro tacho antes do enchimento das embalagens. Para determinar o ponto final do processo utiliza-se o índice de refração, o qual indica a concentração de sólidos solúveis do produto que deve estar próximo de 68%. Geralmente os recipientes de vidro são fechados com produtos acima de 85 °C, assim não precisam de tratamento térmico. Após o tratamento, o produto é então resfriado, rotulado, empacotado e armazenado (TORREZAN, 1998; OETTERER, REGITANO-D'ARCE e SPOTO, 2006).

As sete amostras de geleias de diferentes frutas avaliadas neste trabalho foram produzidas por três fabricantes (Figura 4.7). A amostra G1 do fabricante 1, amostras G2, G3, G6 e G7 do fabricante 2, e as amostras G4 e G5 do fabricante 3.



**Figura 4.7.** Amostras de geleias de frutas (G1 a G7). (Fonte: Arquivo pessoal).

## 4.6 Referências

ABIMAQ. Associação Brasileira da Indústria de Máquinas e Equipamentos, 2009. Disponível em <http://www.datamaq.org.br/sebrae/>. Acessado em: janeiro, 2015.

ADITIVOS E INGREDIENTES. Açúcares e xaropes em biscoitos e bolachas. São Paulo: Insumos, n. 55. p. 46-64. Disponível em: [http://www.insumos.com.br/aditivos\\_e\\_ingredientes/59\\_igmoide/83.pdf](http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/59_igmoide/83.pdf); 2008. Acessado em janeiro/2015.

ANVISA. CNNPA – Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Normas Técnicas Especiais. Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Resolução n.12 de 1978. Acessado em: dezembro, 2014.

ARAÚJO, E.R., BORGES, M.T.M.R., CECCATO-ANTONINI, S.R., VERRUMA-BERNARDI, M.R., Qualidade de açúcares mascavo produzidos em um assentamento da reforma agrária. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.22, n.4, p.617-621, 2011.

BELITZ, H.D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. Food Chemistry. 4 ed. Lichtenbergstraße: Springer, 2009.

CARVALHO, R. F. Beneficiamento dos derivados da cana de açúcar (melado e açúcar mascavo) 21 p. (Dossiê Técnico) – Rede de Tecnologia da Bahia-RETEC/BA, Bahia, 2007.

DELGADO, A. A.; DELGADO, A. P. Produção de açúcar mascavo, rapadura e melado. Piracicaba: Alves, 154 p. 1999.

IAL. Instituto Adolf Lutz. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, (4ª ed.). São Paulo – Brasil, 2008

MORAES, I.V.M. Dossiê Técnico: Produção de Polpa de Fruta Congelada e Suco de Frutas. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, 2006.

NEWTON, D. E. The New Chemistry: Food Chemistry. New York: Facts on File Science Library: 2007.

OETTERER, M., REGITANO-D'ARCE, M.A.B., SPOTO, M.H.F., Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Barueri-SP: Manole, 2006.

PINTO, A. P.; PEREIRA, E. S.; MIZUBUTI, I. Y. Características nutricionais e formas de utilização da cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 24, p. 73-84, 2003.

PINTO, M. P. Otimização dos processos de produção de xaropes de glucose e dextrose monohidratada. 40 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

RUIZ-MATUTE, A. I.; WEISS, M.; SAMMATARO, D.; FINELY, J.; SANZ, M. L. Carbohydrate Composition of High-Fructose Corn Syrups (HFCS) Used for Bee

Feeding: Effect on Honey Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, p. 7317–7322, 2010.

TORREZAN, R. Manual para produção geleias de frutas em escala industrial. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 27 p., 1998.

**CAPÍTULO 5. OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM  
AÇÚCAR MASCAVO**

## **OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM AÇÚCAR MASCADO**

Segundo a resolução 12/33 de 1978 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) do Ministério da Saúde, o açúcar mascado deve conter no mínimo 90 % de sacarose em sua composição (ANVISA, 1978). Em virtude do tipo de processamento aplicado a este alimento, a maior parte dos componentes da cana de açúcar é preservada. Assim, este é constituído de açúcares de alto valor biológico como sacarose, glicose e frutose e outros componentes como água, proteínas, sólidos insolúveis, além de um importante grupo de minerais (K, Ca, P, Mg, Na, Fe, Mn, Zn e Cu). Desta forma, é considerado um alimento de elevado valor nutricional (JESUS, 2010; LOPES e BORGES, 1998; GUERRA e MUJICA, 2010, TOMASSETO, LIMA e SHIKIDA, 2009).

As suas propriedades nutricionais e tipo de processamento tem despertado o interesse de consumidores interessados em adotar uma dieta saudável consumindo produtos que não tenham sido submetidos a um tratamento rigoroso ou não receberam a adição de outros produtos químicos e pelas indústrias de alimentos e bebidas, visando atender as necessidades desses consumidores (VERRUMA-BERNARDI et al., 2007). Assim, recentemente, um aumento no consumo de açúcar mascado tem sido observado, especialmente no Brasil, como um substituto para o açúcar branco e como ingrediente na formulação de alimentos industrializados e bebidas (COSTA e JONGEN, 2006).

Por ser um produto natural, o açúcar mascado apresenta uma composição físico-química bastante variável e não suporta armazenamento por longos períodos, principalmente devido à presença de impurezas e umidade provenientes da matéria-prima (cana-de-açúcar) e as práticas realizadas durante a produção (JESUS, 2010; LOPES e BORGES, 1998; VERRUMA-BERNARDI et al., 2007). Isso faz com que a sua comercialização para mercados mais distantes se torne mais difícil. Para garantir a sua segurança alimentar e satisfazer as exigências de qualidade impostas pela indústria de alimentos este deve, portanto, ser submetido a um rigoroso controle de qualidade (GUERRA e MUJICA, 2010, JESUS, 2010).

Entre os parâmetros físico-químicos adotados para o controle de qualidade deste alimento, a umidade é um dos mais críticos, uma vez que o teor de água

influência diretamente no desenvolvimento de micro-organismos e na textura, afetando, assim, a estabilidade, a vida útil e o valor comercial do açúcar mascavo (JESUS, 2010; ISENGARD, 2001). O Codex Alimentarius (1999) estabelece um limite máximo para a umidade de 4,5 % para o açúcar mascavo. Embora a legislação brasileira ainda não tenha definido um valor máximo para este parâmetro neste alimento, vários autores têm recomendado que os teores de umidade não devem exceder 2,4 % (TOMASSETO, LIMA e SHIKIDA, 2009; LOPES e BORGES, 1998).

O método oficial para a determinação de umidade no açúcar mascavo é a secagem em estufa com temperatura (105 °C) e tempo (3,0 horas) previamente estabelecidos, (IAL, 2008; NIELSEN, 1994; ICUMSA, 2005). Embora esta metodologia seja simples e barata, ela não permite uma distinção entre a eliminação dos teores de água e as reações de degradação de alimentos ricos em açúcares tais como o açúcar mascavo, causando assim erros sistemáticos na análise de umidade (NIELSEN, 1994; WROLSTAD, 2012). Na literatura pode ser observada uma tendência em propor métodos analíticos alternativos que sejam mais precisos e confiáveis do que a secagem em estufa para análise de água nos alimentos com altos teores de açúcares, tais como a titulação de Karl Fischer e a secagem por radiação infravermelha (ISENGARD e HEINZE, 2003; ACQUISTUCCI et al., 1991; TOMASSETTI, CAMPANELLA, e AURELI, 1989; HEINZE e ISENGARD, 2001, SCHÖFFSKI, 2001, FELSNER, 2001; SANCHEZ et al., 2010).

A termogravimetria - análise térmica diferencial simultânea (TG/DTA) é uma técnica que permite a determinação das perdas de massa e a resposta térmica (diferença de temperatura ou de fluxo de calor aproximado) de qualquer material homogêneo submetido a uma razão de aquecimento em condições controladas, além da identificação dos eventos relacionados à desidratação e a reações de degradação (HAINES, 2002). A técnica de TG/DTA foi descrita como uma metodologia precisa para determinar os teores de umidade em vários produtos alimentícios, tais como amido, farinhas, café torrado, leite em pó, (TOMASSETTI, CAMPANELLA E AURELI, 1989; ACQUISTUCCI et al., 1991); frutos do mar (SILVA et al., 2008), mas tem sido pouco empregado para alimentos contendo altos teores de açúcares (FELSNER, 2001).

Esses fatos têm estimulado o desenvolvimento de um novo método analítico para a secagem de açúcar mascavo usando a termogravimetria devido à sua simplicidade e facilidade de implementação. O objetivo deste estudo foi, portanto, desenvolver, de forma inédita, uma metodologia para análise termogravimétrica dos teores de água para o açúcar mascavo através da realização de estudos de otimização e validação aplicando diferentes técnicas estatísticas. Não é de nosso conhecimento nenhum esforço anterior para otimizar e validar esta técnica para a análise de água em amostras de açúcar mascavo até o presente momento.

## **5.1 Caracterização Físico – Química de Açúcar Mascavo por Análise de Componentes Principais**

### **5.1.1 Metodologia**

#### **5.1.1.1 Amostras**

As amostras de açúcar mascavo foram obtidas e estocadas como descrito no capítulo 4, item 4.1., as quais foram mantidas em seu próprio recipiente até o momento das análises e armazenadas em local seco e arejado. Para a obtenção das curvas DTA foi usada como referência  $\alpha$ -alumina da marca Sigma Aldrich.

#### **5.1.1.2 Análises Físico-Químicas**

As análises físico-químicas realizadas para as amostras de açúcar mascavo foram de açúcares redutores (método 177/IV), pH (método 017/IV) e acidez (método 174/IV) descritas nos Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (IAL,2008) e de polarização (método GS 2/3-1), cinzas condutimétricas (método GS 2/3/9-17), cor ICUMSA (método GS 9/1/2/3-8) e o grau de escurecimento não enzimático mensurado pelas medidas de absorvância a 420 nm (método GS 2/3-18) descritas nos métodos da ICUMSA (2005). A temperatura final de secagem (TFS) das amostras foi determinada através da curva de secagem termogravimétrica obtida plotando-se as perdas de massa das curvas TG/DTG versus a temperatura no intervalo da temperatura ambiente até 250 °C, e as mesmas foram realizadas em duplicatas.

### **5.1.1.3 Determinação de Íons Metálicos**

As soluções de açúcar mascavo utilizadas na análise dos íons metálicos foram preparadas a partir do método 393/IV dos Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (IAL, 2008). Pesou-se 0,5 g de amostra em uma cápsula de porcelana, que em seguida foram carbonizadas em bico de Bunsen e incineradas em forno mufla por um período de quatro horas na temperatura de 550 °C para obtenção das cinzas. Após resfriadas, as cinzas foram solubilizadas em solução de HNO<sub>3</sub> 1:1 (v/v), sendo que em cada amostra de cinzas foram adicionados 3,0 mL da solução ácida e o volume foi completado com água ultrapura para 25,0 mL.

As determinações de Ca, Fe, Mg e Mn, foram realizadas em um espectrofotômetro de absorção atômica em chama – FAAS da Varian modelo AA 220, equipado com lâmpadas de cátodo oco da mesma marca, localizado no Laboratório do Grupo de Análise de Traços e Instrumentação (LabGati), no campus CEDETEG da UNICENTRO. Todas as amostras foram preparadas em triplicata, e dos valores de absorbância foram descontados os respectivos sinais das provas em branco. As determinações de Na e K foram realizadas em um fotômetro de chama (Micronal-modelo B462) localizado no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas na UNICENTRO. As determinações de Cu foram conduzidas com um espectrômetro de absorção atômica (Agilent Varian, AA 240Z), com atomização eletrotérmica em forno de grafite (modelo GTA 120), equipado com corretor Zeeman transversal para correção de fundo, amostrador automático (modelo PSD 120) e sistema de aquisição de dados (SpectraA). Tubos de grafite recobertos piroliticamente (Varian, Agilent), foram utilizados para as análises. As medidas para o Cu foram realizadas utilizando como sinal analítico a área integrada do pico de absorbância com correção de fundo (background).

### **5.1.1.4 Análise de Componentes Principais das Características Físico-Químicas**

Para avaliar a influência das características físico-químicas na qualidade das amostras de açúcar mascavo investigadas foi aplicada uma Análise de Componentes Principais (ACP). A ACP foi realizada através da determinação da distância entre os dados das amostras que foram calculados considerando-se as médias dos parâmetros físico-químicos. Realizou-se também a padronização dos

dados com centralização na média. Toda a análise estatística foi realizada usando o software MATLAB (Matlab & Simulink-R2006a, OPENCADD ADVANCED TECHNOLOGY, São Paulo, Brasil).

### 5.1.2 Resultados e Discussão

Os resultados das análises físico-químicas das amostras de açúcar mascavo foram avaliados usando a análise multivariada dos dados das Tabelas 5.1 a 5.3. O cálculo da Análise de Componentes Principais (ACP) é um método exploratório que ajuda na elaboração de hipóteses gerais a partir dos dados coletados. Ela é capaz de separar a informação importante da redundante. Para a análise exploratória, é de fundamental importância entender que os *scores* fornecem a composição das ACPs em relação às amostras, enquanto que os *loadings* fornecem essa mesma composição em relação às variáveis (BEEBE, PELL e SEASHOLTZ, 1997; SHARAF, ILLMAN e KOWALSKI, 1986).

A Tabela 5.1. apresenta os dados do comportamento térmico das amostras de açúcar mascavo, onde a temperatura final de secagem (TFS) é considerada aquela onde encerra-se a saída de água da amostra e iniciam-se as reações de degradação do açúcar. A temperatura de pico de fusão mostra o ponto de fusão do açúcar e a temperatura onset de fusão fornece informações do início extrapolado do evento de fusão.

**Tabela 5.1.** Dados do comportamento térmico das amostras de açúcar mascavo expressos como valores médios.

Amostras	Dados Térmicos		
	$T_{f,secagem}^*$ (°C)	$T_{f,pico}^{**}$ (°C)	$T_{f,onset}^{***}$ (°C)
A1	162	184	176
A2	155	180	169
A3	139	183	172
B1	166	185	173
B2	166	186	179

Amostras	Dados Térmicos		
	$T_{f,secagem}^*$ (°C)	$T_{f,pico}^{**}$ (°C)	$T_{f,onset}^{***}$ (°C)
B3	166	185	173
C1	158	183	170
C2	143	179	167
C3	158	178	164
D1	143	181	171
D2	164	184	168
D3	165	184	173
E1	165	178	167
E2	162	179	165
E3	160	177	164

\* temperatura final de secagem (TFS); \*\* temperatura de pico de fusão; \*\*\* temperatura onset de fusão.

Na Tabela 5.2 são apresentados os dados da composição físico-química das amostras de açúcar mascavo, o pH variou entre 5,7 e 7,3. A cor variou de 2080 a 11890 UI, ou seja, quanto mais escuro o açúcar, maior o valor da cor. A polarização indica a quantidade de sacarose presente na amostra, neste trabalho variou de 82,0 a 93,3 °Z. A acidez dos açúcares variou de 2,3 a 64,9 meq kg<sup>-1</sup>. Já para as cinzas os valores variaram de 1,1 a 5,1 g/100g. O grau de escurecimento não enzimático variou entre 0,255 a 1,263. E os açúcares redutores (glicose e frutose) variaram de 2,3 a 8,4 g/100g.

**Tabela 5.2.** Teores médios para a composição físico-química das amostras de açúcar mascavo.

Amostras	Dados de Composição Química						
	pH	Cor (UI)	Pol.* (°Z)	Acidez (meq kg <sup>-1</sup> )	Cinzas (g/100g)	GENE**	A.R.*** (g/100g)
A1	6,0	6250	88,9	23,0	2,5	0,874	3,1
A2	5,8	3930	84,9	32,2	4,2	0,824	4,4

Amostras	Dados de Composição Química						
	pH	Cor (UI)	Pol.* (°Z)	Acidez (meq kg <sup>-1</sup> )	Cinzas (g/100g)	GENE**	A.R.*** (g/100g)
A3	5,7	5020	83,6	64,9	4,4	1,263	5,9
B1	6,1	3010	88,8	9,7	1,7	0,315	4,5
B2	7,4	2080	93,3	2,3	1,3	0,150	2,3
B3	5,8	2080	92,6	11,5	1,1	0,269	4,0
C1	6,3	3630	86,5	38,2	4,7	0,773	5,9
C2	6,3	5250	86,0	27,6	2,9	0,548	5,5
C3	6,2	4390	83,2	22,5	2,7	0,611	7,8
D1	6,1	4600	84,0	40,5	5,1	0,924	6,1
D2	6,5	5150	84,2	25,8	4,4	0,930	6,3
D3	7,3	5010	86,1	2,5	2,9	0,255	3,3
E1	6,7	11890	82,0	16,1	2,9	0,700	8,4
E2	6,3	4140	85,8	17,3	3,6	0,470	7,2
E3	6,5	5810	83,2	16,6	3,3	0,740	6,2

\* Pol. = polarização; \*\*GENE = grau de escurecimento não enzimático medido pela absorbância 420 nm, \*\*\* A.R. = açúcares redutores. Todas as medidas foram feitas em duplicata.

O açúcar mascavo é um alimento rico em micronutrientes como pode ser observado na Tabela 5.3, na qual é apresentado os valores médios e desvios padrão dos resultados dos íons metálicos encontrados nas amostras analisadas de açúcar mascavo.

**Tabela 5.3.** Teores médios e desvios padrão dos teores de íons metálicos presentes nas amostras de açúcar mascavo (mg/100g).

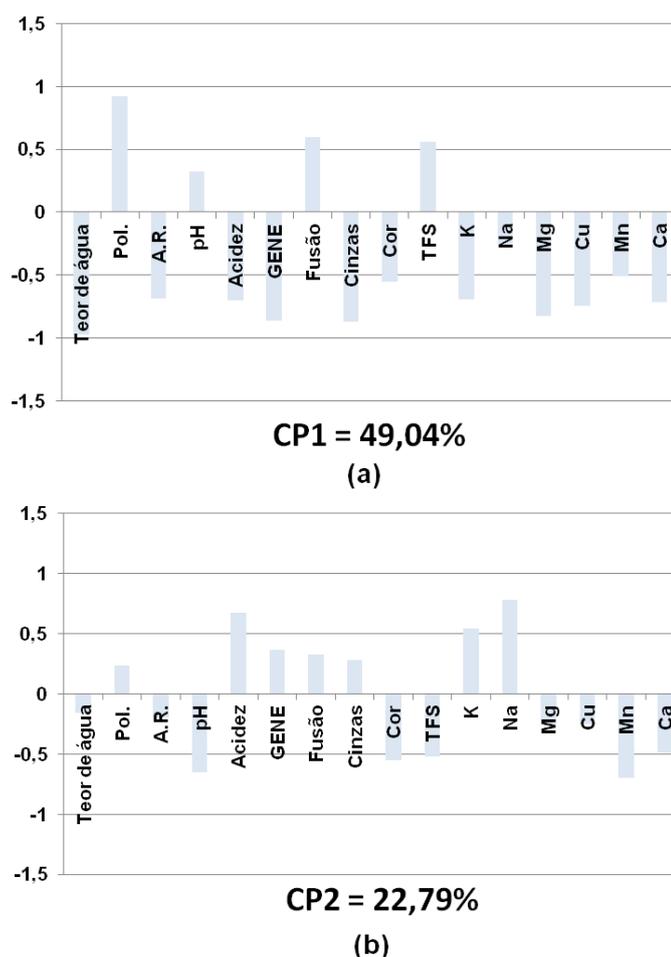
Amostras	Fe	Mn	Zn	Na	K	Mg	Ca	Cu
A1	4,4±0,02	1,8±0,04	3,6±0,13	10,8±0,01	339,1±0,37	116,8±0,06	95,1±0,1	0,09±0,04
A2	4,2±0,24	2,5±0,05	2,6±0,16	11,2±0,01	420,9±0,40	196,7±0,08	103,3±0,07	0,13±0,05
A3	6,4±0,08	1,6±0,01	2,8±0,45	11,1±0,01	856,6±0,03	124,9±0,02	67,9±0,03	0,09±0,02
B1	4,5±0,20	1,5±0,06	0,45±0,11	11,0±0,01	241,5±0,13	59,1±0,02	48,1±0,17	nd
	5,7±0,28	0,96±0,03	0,7±0,19	10,8±0,01	171,5±0,14	48,2±0,01	50,9±0,02	nd

Amostras	Fe	Mn	Zn	Na	K	Mg	Ca	Cu
B2	1,8±0,14	0,52±0,03	0,82±0,20	10,8±0,01	116,9±0,01	34,6±0,03	32,3±0,05	nd
B3	1,7±0,12	0,82±0,01	2,0±0,76	11,2±0,04	826,2±0,27	126,6±0,01	59,5±0,04	nd
C1	4,4±0,03	2,8±0,04	0,98±0,28	10,7±0,01	335,1±0,27	112,9±0,03	79,2±0,03	0,02±0,01
C2	2,9±0,10	1,8±0,01	2,2±0,31	10,7±0,01	261,9±0,35	155,9±0,04	114,5±0,05	0,11±0,02
C3	6,2±0,15	3,5±0,06	3,4±0,49	11,0±0,01	765,1±0,28	128,4±0,04	143,8±0,04	0,10±0,03
D1	7,5±0,06	4,1±0,05	6,2±0,67	10,8±0,01	524,8±0,29	169,6±0,03	162,6±0,03	0,20±0,03
D2	7,3±0,28	4,9±0,03	0,62±0,22	10,7±0,02	331,6±0,27	148,0±0,04	112,9±0,03	nd
D3	2,4±0,15	4,4±0,06	1,6±0,12	10,7±0,01	350,5±0,01	145,8±0,03	112,2±0,03	0,13±0,01
E1	4,6±0,05	2,5±0,04	0,68±0,10	10,9±0,01	444,4±0,23	130,1±0,06	69,7±0,02	nd
E2	7,6±0,07	2,8±0,05	1,4±0,24	10,9±0,01	374,2±0,01	130,9±0,02	108,5±0,02	0,12±0,02
E3								

nd = não detectado. As análises foram feitas em triplicata.

A Figura 5.1-a apresenta as correlações da primeira componente principal, CP1, que respondeu por 49,04 % da variabilidade nos dados. As variáveis polarização, pH, fusão e TFS (temperatura final de secagem) foram as únicas que se apresentaram inversamente proporcionais a todas as demais pelo Fator 1, enquanto que, as variáveis pH e Na foram as que menos apresentaram influência na separação das amostras de açúcar mascavo, pois ficaram muito próximas do eixo zero. As variáveis Fe e Zn foram retiradas da avaliação, pois não foram significativas para a na construção da ACP.

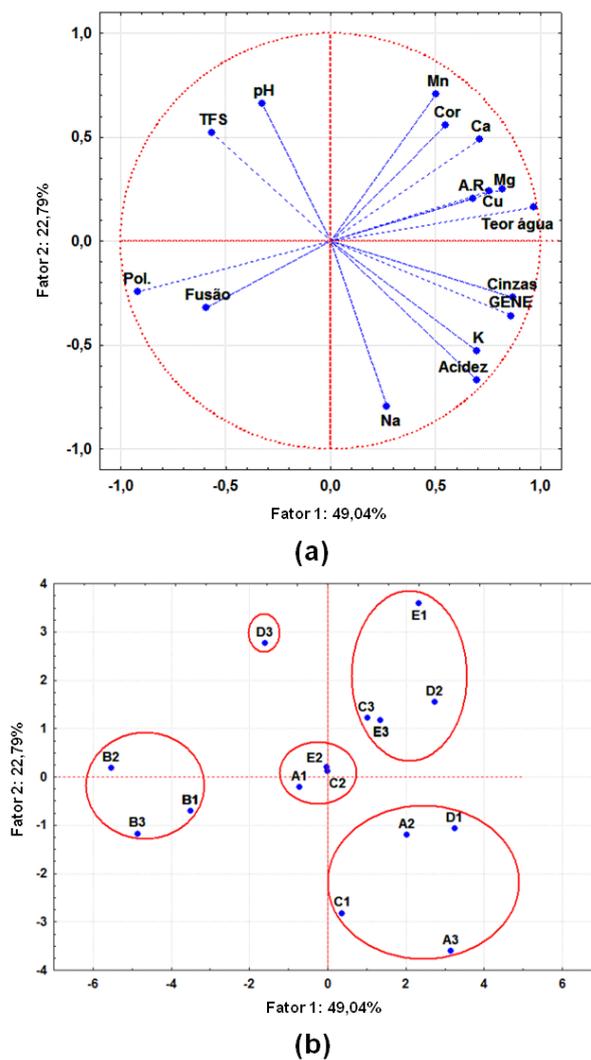
Por outro lado, a segunda componente principal, CP2, explicou 22,79 % dos resultados (Figura 5.1-b) indicando que as variáveis polarização, acidez, cinzas, GENE (grau de escurecimento não enzimático), fusão, K, e Na estão inversamente correlacionados a açúcares redutores, pH, cor, teor de água, TFS, Cu, Mg, Mn e Ca. Destas, as variáveis polarização, açúcares redutores, teor de água, Cu e Mg foram poucos significativas na avaliação dos dados pelo Fator 2.



**Figura 5.1.** Pesos da primeira (a) e segunda (b) componentes principais nas amostras de açúcar mascavo de diferentes fabricantes e lotes.

As Figuras 5.2-a e 5.2-b apresentam os pesos e escores das variáveis e amostras, respectivamente. Observou-se que as amostras foram distribuídas em quadrantes diferentes, conforme sua correlação com as variáveis. As amostras de açúcar mascavo designadas por B1, B2 e B3 se agruparam no eixo negativo de X pelo Fator 1. Esse grupo pertence a lotes diferentes de um mesmo fabricante, indicando que estas amostras apresentam valores similares para os parâmetros físico-químicos analisados. As variáveis polarização e fusão influenciaram fortemente essa separação do grupo B dos demais grupos. Isto se deve ao fato das amostras B1 a B3, apresentarem maiores valores de polarização bem como de temperatura de fusão em relação às demais, sendo a polarização, o único parâmetro regulamentado pela legislação brasileira, devendo apresentar um valor mínimo de 90 % ou 90 °Z (BRASIL, 1978). Segundo Araújo (2011), os principais componentes que interferem no valor de polarização do açúcar são a época de colheita da cana, a

temperatura e o tempo de cozimento. A cana madura possui altos teores de sacarose (maior polarização), assim quando a temperatura e o tempo de cozimento são aumentados acima do desejado podem acelerar o processo de reversão da sacarose em glicose e frutose, reduzindo assim os valores de polarização. Em relação aos demais parâmetros físico-químicos, as amostras do grupo B, sempre apresentaram teores menores.



**Figura 5.2.** Pesos (a) e escores (b) da primeira e segunda componentes principais para as amostras de açúcar mascavo de diferentes fabricantes e lotes.

As amostras de açúcar mascavo com maiores valores de polarização (grupo B) foram também as que apresentaram os menores índices de cor e teores de açúcares redutores (A.R.), teor de água e íons metálicos. Essa característica faz com que no processamento ocorra uma diminuição dos produtos de caramelização e conseqüentemente da intensidade da cor. Uma vez que esse índice aumenta, o

açúcar tende a adquirir uma coloração mais escura (LOPES e BORGES, 2004). Com método de cor ICUMSA verifica se a coloração do açúcar está de acordo com a classificação proposta pelo fabricante no rótulo do produto, sendo que quanto mais baixo é o índice mais claro é o açúcar. De acordo com a ICUMSA, a coloração está diretamente relacionada ao número de partículas carbonizadas presentes, o que pode representar falha na higienização do equipamento que entra em contato com o produto, uma vez que tais partículas são arrastadas durante o processo de fabricação. A cor é um parâmetro importante da aparência do açúcar, visto que esse é o primeiro contato do consumidor com o produto que pode fornecer informações sobre o seu processamento. Lopes e Borges (2004) afirmam que durante a fabricação do açúcar mascavo formam-se materiais coloridos como as melanoidinas. Quando a temperatura é muito alta ou o tempo de cozimento é longo, podem ainda serem formados compostos denominados caramelos que possuem cor escura (FARIA, 2012). Segundo Generoso et al., (2009), a variedade da cana e o local onde ela é plantada podem resultar em caldos ricos em polifenóis ou aminoácidos que contribuem para o escurecimento do açúcar. O uso excessivo de cal, segundo Lopes e Borges (2004) com elevação de pH superior a 7,0, também interfere na cor devido à destruição da sacarose resultando também no escurecimento do açúcar. Vale ressaltar aqui que nas amostras analisadas dos outros fabricantes, as que apresentaram índices de cor mais elevados são as que apresentaram maiores teores de açúcares redutores, íons metálicos (Mn, Cu, Ca e Mg) e de teores de água (E1, E3, C3, D2).

As variáveis polarização, temperatura de fusão e temperatura final de secagem (TFS) nas amostras de açúcar mascavo apresentaram correlações completamente inversas com o teor de água, AR, acidez, grau de escurecimento não enzimático (GENE), cinzas, cor e íons metálicos, i.e., quanto maiores os valores para a polarização, temperatura de fusão e a TFS, menores serão os teores de água, açúcares redutores, acidez, GENE, cinzas, cor e teores de íons metálicos no açúcar mascavo. Lopes e Borges (2004), afirmam que os açúcares redutores podem ser provenientes da própria cana, pois quando não está madura o suficiente possui teores superiores a 1,0 %, ou ainda originários da inversão da sacarose durante o processo de fabricação. Os altos teores de açúcares redutores que ocorre também como consequência do processamento de caldos em altas temperaturas, podem ser

evitados quando a cana madura, fresca é utilizada e especialmente pela aplicação da cal, que provoca a neutralização do caldo. Quando o teor de açúcares redutores é alto a obtenção do ponto final de cozimento para a cristalização da sacarose é dificultado, resultando em um produto com aparência úmida e podendo o mesmo melar ou empedrar Além disso, fatores como teor de água, acidez e os teores de íons metálicos podem acelerar a degradação da sacarose como já visto anteriormente aumentando os valores de açúcares redutores especialmente quando o caldo é processado em altas temperaturas, diminuindo conseqüentemente os valores de polarização (LOPES e BORGES, 2004; ARAÚJO et al., 2011).

A presença de íons metálicos nas amostras de açúcar mascavo, tais como K, Mg e Ca podem favorecer a adsorção de umidade devido a formação de esferas de hidratação (MATHLOUTHI, 2001), além disso íons como K, Na e Ca aumentam a degradação inicial da sacarose, enquanto o íon metálico Mg aumenta a degradação subsequente (EGGLESTON et al., 1996). Estes íons podem elevar a solubilidade do açúcar e levar a problemas de empedramento e aglomeração mesmo em umidades relativas do ar menores que 80 % (MATHLOUTHI, 2001). Por outro lado, a presença de pequenas moléculas hidrofílicas como os açúcares redutores (frutose e glicose) também favorecem a adsorção de umidade do ar pelo açúcar, pois estas moléculas também tem uma esfera de hidratação e são higroscópicas (MATHLOUTHI, 2001). Segundo Parazzi et al., (2009), os teores elevados de umidade estão associados a proliferação de micro-organismos como leveduras e bolores no açúcar mascavo. De acordo com Cadavid (2007), o açúcar mascavo pode sofrer alterações na qualidade quando os teores de umidade e de açúcares redutores forem elevados. O íon metálico  $Fe^{2+}$  atua como catalisador em reações secundárias de escurecimento dos açúcares, através de reações químicas com compostos fenólicos por ação das enzimas fenoloxidasas formando quinonas, o que pode levar a um aumento de cor do produto final (OLIVEIRA, ESQUIAVETO e SILVA JÚNIOR, 2007; BETTANI et al., 2014).

As amostras designadas por A, C, D e E ficaram distribuídas em quadrantes diferentes, independente do fabricante e do lote, sugerindo que o controle de qualidade não é tão aferido em relação às amostras do grupo B. Tal comportamento das amostras do grupo B poderia ser explicado pelo processamento do caldo de cana em menores temperaturas o que diminui o desdobramento da sacarose em

glicose e frutose e o uso de matéria prima de qualidade ou ainda indicar um maior grau de refino destas amostras. Segundo Lopes e Borges (2004) para se obter uma melhor qualidade do açúcar mascavo seria importante que a variedade da cana utilizada apresentasse um baixo teor de cinzas, pois altos teores podem deixar o açúcar com um sabor desagradável devido aos altos teores de K, além de dificultar a cristalização. Assim seria adequado um valor inferior a 2,2 % para garantir a qualidade, e neste caso, somente as amostras do grupo B se enquadrariam.

Com relação aos parâmetros acidez, cinzas, GENE, teor de água, açúcares redutores, cor e teores de íons metálicos, todas as amostras contidas no eixo negativo de X (Fator 1), apresentaram teores elevados destes parâmetros. As amostras A2, A3, C1 e D1 formaram um grupo localizado no quadrante negativo de Y e positivo de X, o qual foi caracterizado por teores elevados de cinzas, acidez, K, Na e GENE, enquanto que as amostras C3, D2, E1 e E3 formaram outro grupo localizado no quadrante positivo de X e Y, apresentando teores elevados de água, açúcares redutores, cor e íons metálicos como Cu, Mg, Ca e Mn. A amostra D3, localizada no quadrante negativo de X e positivo de Y, foi a que apresentou o maior valor de pH e TFS em relação as demais. Já o grupo formado pelas amostras A1, C2 e E2 não foi influenciado por nenhum dos parâmetros físico-químicos estudados, pois ficou localizado muito próximo do eixo zero para ambos os fatores (ACP1 e ACP2).

## **5.2 Otimização e Validação da Termogravimetria para a Determinação de Água em Açúcar Mascavo**

### **5.2.1 Materiais**

Para o estudo de otimização da metodologia termogravimétrica foi escolhida a amostra de açúcar mascavo codificada como A1. Para o estudo de validação foram utilizadas todas as amostras de açúcar mascavo descritas no capítulo 4, item 4.1.

## **5.2.2 Métodos**

### **5.2.2.1 Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTA)**

As curvas TG/DTG e DTA das amostras de açúcar mascavo, foram obtidas em um sistema simultâneo TG/DTA da Seiko, modelo Exstar 6000 series, sob atmosfera dinâmica de ar sintético ( $50 \text{ mL min}^{-1}$ ), massas de amostra de aproximadamente 5,0 mg, porta amostras de alumina e de platina ( $50 \mu\text{L}$ ) para a amostra e referência até a temperatura final de  $250 \text{ }^\circ\text{C}$  para a análise do teor de água, localizado no Laboratório Multiusuário do CIMPE do Campus Cedeteg na UNICENTRO. O forno do TG/DTA foi pré-equilibrado a temperatura ambiente e cada amostra foi pesada rapidamente para minimizar a absorção ou liberação de umidade. Os outros parâmetros experimentais foram definidos de acordo com os níveis do planejamento fatorial apresentados na Tabela 5.4 mostrada no item 5.2.2.4. As curvas TG/DTA foram realizadas em duplicata.

### **5.2.2.2 Determinação de Água por Titulação de Karl Fischer**

O teor de água foi determinado por uma titulação volumétrica de Karl Fischer com um titulador da Quimis modelo Q349-1 no Laboratório do Grupo de Análise de Traços e Instrumentação (LabGati) da UNICENTRO, utilizando o reagente de Karl Fischer sem piridina (Biotec, Brasil) e metanol anidro (JT Baker, EUA), de acordo com o método 014/IV dos Métodos Físico-Químicos para a Análise de Alimentos (IAL, 2008). Todas as medidas foram realizadas em duplicata.

### **5.2.2.3 Determinação de Umidade por Secagem em Estufa**

Os teores de umidade foram determinados por secagem em estufa a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  por 3,0 horas de acordo com o método GS/1/3/9-15 da ICUMSA (2005) Todas as medidas foram realizadas em duplicata.

### **5.2.2.4 Otimização do Método Termogravimétrico por Planejamento Fatorial**

Para a otimização do método termogravimétrico sob atmosfera dinâmica de ar foi aplicado um planejamento fatorial  $2^2$  em que foi investigada a influência das variáveis razão de aquecimento e o material do porta amostra nos teores de água de

açúcar mascavo. As curvas TG/DTG e DTA foram obtidas em duplicata e em ordem aleatória para todas as combinações dos níveis das variáveis apresentadas na Tabela 5.4.

**Tabela 5.4.** Variáveis e níveis do planejamento fatorial  $2^2$  para a determinação termogravimétrica do teor de água em açúcar mascavo.

Variáveis	Nível (-)	Nível (+)
Razão de aquecimento	5 °C min <sup>-1</sup>	10 °C min <sup>-1</sup>
Material do porta amostra	Platina	Alumina

Os efeitos das variáveis do planejamento fatorial nos teores de água de açúcar mascavo foram calculados por:

$$E_f = (\bar{R}_+) - (\bar{R}_-)$$

em que  $(\bar{R}_+)$  e  $(\bar{R}_-)$  são as diferenças das médias dos níveis (+) e (-), respectivamente das variáveis envolvidas.

A significância estatística dos efeitos foi avaliada pelo cálculo do erro padrão ao nível de 95,0 % de confiança. Para verificar as condições ótimas da análise termogravimétrica foi aplicado um teste-*t* aos teores médios de água obtidos pela aplicação da melhor condição de análise sugerida pelo planejamento fatorial e pelo método de titulação de Karl Fischer no nível de 95,0% de confiança (BARROS NETO; BRUNS e SCARMINO, 2010; MILLER e MILLER, 1993; WERNIMONT, 1985). Toda a análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o software “*Minitab for Windows v. 16.2.2*”.

#### 5.2.2.5 Validação dos Métodos Termogravimétrico e de Secagem em Estufa

Para o estudo de validação do método termogravimétrico foram calculados dois parâmetros: exatidão e precisão de acordo com as diretrizes da AOAC (WERNIMONT, 1985). Os dois parâmetros foram determinados pela comparação dos resultados do método termogravimétrico desenvolvido com os valores da titulação de Karl Fischer (método de referência).

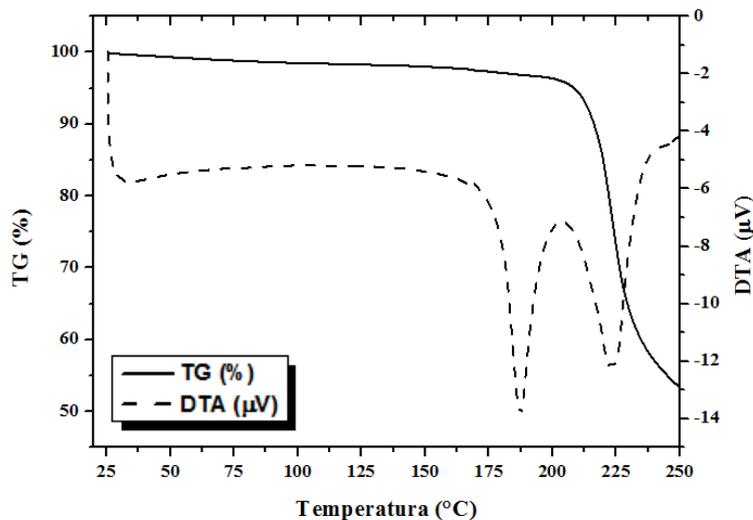
Para avaliar a exatidão da termogravimetria foi aplicado um teste-*t* pareado para checar as diferenças entre as médias dos teores de água obtidos para os dois métodos analíticos (BARROS NETO, SCARMINO e BRUNS, 2010; MILLER e MILLER, 1993; WERNIMONT, 1985).

Para avaliar a precisão do método desenvolvido as variâncias ponderadas ( $Sp^2$ ) de cada um dos métodos analíticos foram comparadas pela aplicação de um teste-*F* apropriado e pelo cálculo de intervalos de confiança para a razão entre as variâncias e para os desvios padrão ponderados ( $Sp$ ). A precisão e exatidão do método oficial (secagem em estufa) foram avaliadas pela aplicação das mesmas técnicas estatísticas. Todas as análises estatísticas foram realizadas no nível de 99,0 % de confiança usando o software “*Minitab for Windows v.16.2.2*”.

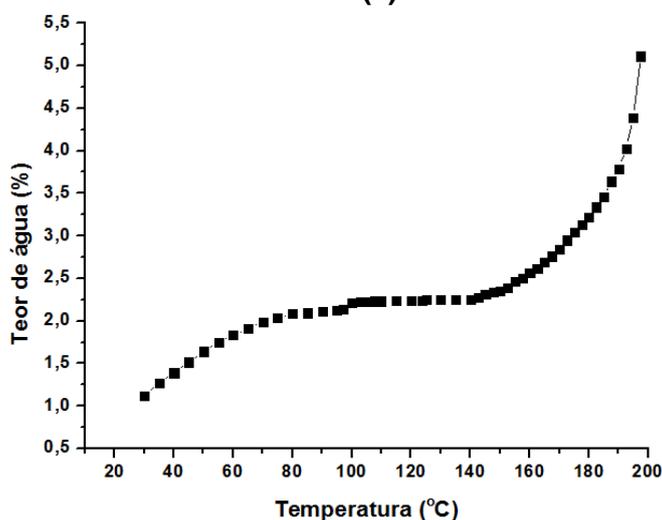
## **5.2.3 Resultados e Discussão**

### **5.2.3.1 Perfil Termogravimétrico de Secagem do Açúcar Mascavo**

Para avaliar o perfil termogravimétrico de secagem foram obtidas curvas TG/DTA da amostra de açúcar mascavo (A1) utilizada no estudo de otimização nas condições otimizadas descritas no item 5.2.2.4. O processo de secagem é característico de alimentos com altos teores de açúcares, como mostrado na Figura 5.3. Na curva TG, entre 25 °C e 250 °C foram observados três pontos de inflexão muito sutis, indicando mudanças na velocidade de perda de massa durante a secagem termogravimétrica. Este resultado pode ser atribuído à eliminação de água que está distribuída no alimento de diferentes formas. O tipo e o grau de ligação são refletidos pela temperatura de perda de massa na curva TG (HARWALKAR e MA, 1990, NIELSEN, 1994). Para melhor compreender este comportamento, plotou-se os teores de água determinados por termogravimetria versus as temperaturas de secagem como mostrado na Figura 5.3-b.



(a)



(b)

**Figura 5.3.** (a) Curvas TG e DTA da amostra de açúcar mascavo (A1) obtidas no estudo de otimização e (b) Curva de secagem termogravimétrica. (Porta amostra de alumina, atmosfera dinâmica de ar, massa de 5,0 mg, razão de aquecimento  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e vazão de gás a  $50\text{ mL min}^{-1}$ ).

A facilidade com que a água é removida dos alimentos depende de como ela existe no produto alimentício, ou seja, das suas interações com os principais componentes dos alimentos (NIELSEN, 1994). Isto tem influência sobre a separabilidade da água e na possibilidade de detectá-la por diferentes metodologias analíticas (ISENGARD, 2001). Na Figura 5.3-b, foram detectadas três regiões para a remoção de água em diferentes faixas de temperatura. Este resultado sugere que a água presente no açúcar mascavo está ligada de diferentes formas à matriz deste alimento. O comportamento sigmoide observado também foi muito semelhante ao

determinado para isotermas de dessorção de alimentos ricos em açúcar (MATHLOUTHI, 2001).

A perda de massa detectada entre 25 °C e 100 °C foi atribuída à presença de água livre. Em outras palavras, à água presente na superfície, ou em grandes cavidades ou poros da matriz do açúcar (MATHLOUTHI, 2001; ISENGARD, 2001), que é facilmente removida a temperaturas mais baixas. Entre 100 °C e 145 °C observou-se uma região linear que foi associada com a perda de água relativa à água adsorvida capilarmente ou menos rigidamente ligada ao alimento (MATHLOUTHI, 2001). A forte interação desta fração da água com os componentes do açúcar mascavo necessita de maior quantidade de calor para ser removida. Conseqüentemente, a eliminação desta fração de água irá ocorrer a temperaturas mais elevadas.

Entre 145 °C e 160 °C (Figura 5.3-b) foi detectada uma perda de massa resultante da monocamada de água mais fortemente ligada (MATHLOUTHI, 2001). Acima de 160 °C foi identificada uma perda de massa rápida que foi atribuída a produtos provenientes das reações de degradação da sacarose e outros açúcares (frutose e glicose) (SCHÖFFSKI, 2001; WROLSTAD, 2012; CUI, 2005). Diversos estudos têm sido realizados para elucidar como ocorre a decomposição dos açúcares (ROSS et al., 2013; KUMARESAN e BABU, 1997; LEE et al., 2011a; SIMKOVIC, SURINA e VRICAN, 2003; QUINTAS, BRANDÃO e SILVA, 2007; EGGLESTON e VERCELLOTTI, 2000; ORSI, 1973; SANTOS, 2011; WOJTCZAK, ANTCZAK e LISIK, 2013). A primeira etapa de decomposição térmica da sacarose é a quebra da ligação glicosídica entre a frutose e a glicose por hidrólise ácida. O íon hidrogênio ( $H^+$ ), requerido para esta reação é fornecido pela água ou pelos produtos ácidos resultantes das reações de decomposição dos açúcares redutores (glicose e frutose) e pelos efeitos dos sais. Subseqüentemente, têm sido reportadas reações de desidratação e polimerização (ROSS et al., 2013; LEE et al., 2011a; VANHAL e BLOND, 1999). Assim, na curva TG as perdas de massa que ocorrem entre 25 °C e 160 °C foram atribuídas à remoção de água da amostra analisada. Esta temperatura de 160 °C foi considerada o ponto em que a água contida na amostra de açúcar mascavo é eliminada e onde as reações de degradação citadas tornam-se mensuráveis. Esta hipótese baseia-se na mudança de inclinação da curva de secagem termogravimétrica a partir de 160 °C como mostra a Figura 5.3-b. Nielsen

(1994) observou um comportamento semelhante para outros alimentos, como farinha de trigo, farinha de milho e amido de milho em temperaturas superiores a 184 °C.

Os teores de água das outras amostras de açúcar mascavo analisadas por termogravimetria durante o estudo de validação (item 5.2.3.3) foram determinados do mesmo modo e apresentaram comportamento térmico similar. Porém, a temperatura final de secagem termogravimétrica (TFS) foi diferente entre as amostras (139–166 °C), como mostra a Tabela 5.1. Isso pode ser explicado por diferentes tipos e quantidade de impurezas presentes nas amostras de açúcar mascavo que podem acelerar diferentemente a degradação da sacarose (ROSS et al., 2013; LEE et al., 2011a; EGGLESTON et al., 1996). Para explicar essas diferenças foram determinados os teores de açúcares redutores, sais minerais (expressos como cinzas), íons metálicos (K, Na, Ca, Mg, Zn, Mn e Fe) e ácidos orgânicos (expressos como acidez) das amostras de açúcar mascavo, os quais são apresentados nas Tabelas 5.2 e 5.3. Uma correlação linear negativa significativa entre a temperatura final de secagem e os teores de cinzas ( $r = -0,580$ ;  $p = 0,023$ ) foi observada indicando que as amostras com altos teores de cinzas mostraram as menores temperaturas finais de secagem. Eggleston et al., (1996) estudaram o efeito de sais na degradação térmica de soluções concentradas de sacarose e observaram que íons como K, Na e Ca aumentam a degradação inicial da sacarose, enquanto o íon Mg aumenta a degradação subsequente. Neste estudo foi observada também uma correlação linear negativa significativa entre a temperatura final de secagem e a concentração de íons K ( $r = -0,644$ ;  $p = 0,010$ ). Um aumento na taxa de degradação da sacarose durante o aquecimento, promovido por esses íons presentes em quantidade variáveis no açúcar mascavo (NATALINO, 2006) poderia explicar as menores temperaturas finais de secagem (TFS) determinadas em algumas amostras. Foi observada também uma forte correlação linear negativa significativa entre os valores de acidez e as temperaturas finais de secagem ( $r = -0,829$ ;  $p = 0,000$ ). Isso sugere que altos teores de ácidos provenientes da matéria prima (cana de açúcar) ou dos produtos da degradação ácida da sacarose formados durante o processo de fabricação do açúcar mascavo (EGGLESTON e VERCELLOTTI, 2000) em algumas amostras podem acelerar a degradação como descrito acima e consequentemente reduzir as temperaturas finais de secagem. A

análise de correlação linear também indicou que existe uma forte correlação linear positiva significativa entre a acidez e o teor de K ( $r = 0,850$   $p = 0,000$ ). Isto indica que a presença de íons potássio em maior proporção pode acelerar a degradação inicial da sacarose como já mencionado acima. Assim, há um aumento dos produtos ácidos de degradação contribuindo para uma maior acidez em algumas das amostras analisadas de açúcar mascavo (MATHLOUTHI, 2001).

A curva DTA (Figura 5.3-a) mostrou dois eventos endotérmicos a 184 °C ( $T_{f,onset} = 176^{\circ}\text{C}$ ) e 225 °C, respectivamente. O primeiro evento foi atribuído a fusão da sacarose (ROSS et al., 2013; LEE, THOMAS e SCHMIDT, 2011b) e outros componentes presentes na amostra de açúcar mascavo. O segundo evento endotérmico foi atribuído à eliminação de produtos voláteis (água, monóxido de carbono, dióxido de carbono e hidrogênio) resultantes da degradação da sacarose e outros açúcares (KUMARESAN e BABU, 1997; ORSI, 1973). Devido ao comportamento complexo da fusão dos açúcares, no qual as reações de decomposição podem ocorrer antes ou próximo do ponto de fusão, podem ser encontrados na literatura valores para a fusão da sacarose entre 185 a 190 °C e 186 °C é geralmente o valor aceito (ROOS et al., 2013; HURTTA, PITKÄNEN e KNUUTINEN, 2004; LEE, THOMAS e SCHMIDT, 2011b; SANTOS, 2011). A origem do açúcar pode ser responsável pela grande variação dos pontos de fusão, uma vez que existem diferentes fontes (cana de açúcar e beterraba) e métodos de produção. Essas variações nos picos de fusão da sacarose têm sido relacionadas à presença de impurezas ou de polimorfismo (ROOS et al., 2013; LEE, THOMAS e SCHMIDT, 2011b). Em geral, a presença de impurezas diminui significativamente a temperatura de fusão e aumenta o pico endotérmico de fusão (LEE, THOMAS e SCHMIDT, 2011b; BECKETT et al., 2006).

No presente trabalho, a análise das curvas DTA das amostras de açúcar mascavo mostrou que o evento de fusão ocorre em uma faixa muito ampla de temperaturas ( $T_{f,pico}=177 - 186$  °C;  $T_{f,onset}=164 - 179$  °C). Uma forte correlação linear negativa significativa ( $r = - 0,846$ ;  $p = 0,000$ ) foi observada entre os teores de açúcares redutores e as temperaturas *onset* ( $T_{f,onset}$ ) atribuídas a fusão. Este comportamento pode ser explicado pela presença de açúcares redutores (frutose e glicose) em quantidades variáveis nas amostras, que fundem a temperaturas relativamente mais baixas que a sacarose (146 – 165 °C para a glicose e 102 –

132 °C para a frutose) (HURTTA, PITKÄNEN e KNUUTINEN, 2004). Outro aspecto importante a ser ressaltado nos resultados de TG/DTA é que as temperaturas finais de secagem foram menores (139 – 166 °C) do que as temperaturas atribuídas ao início da fusão ( $T_{f, onset} = 164 - 179$  °C) para todas as amostras de açúcar mascavo indicando que as reações de decomposição térmica iniciam antes da fusão e que são influenciadas pelo tipo e quantidade de impurezas presentes (Tabelas 5.1, 5.2 e 5.3).

### **5.2.3.2 Estudo de Otimização do Método Termogravimétrico**

A análise de umidade ou água em alimentos com altos teores de açúcares por métodos térmicos tem sido pouco explorada, devido ao comportamento complexo da desidratação e fusão observado para açúcares (sacarose, frutose e glicose), que podem se sobrepôr às reações de decomposição térmica. Assim, é essencial determinar as condições ótimas de análise nas quais o evento de desidratação pode ser separado dos eventos de decomposição térmica de outros componentes presentes nos alimentos.

Na literatura, tem sido observado que o estudo das condições experimentais que podem influenciar a degradação dos açúcares por métodos de análise térmica (DSC e TG/DTA), tem se dedicado à verificação da influência de variáveis instrumentais (razão de aquecimento, massa da amostra, temperatura final de aquecimento e do tempo de aquecimento), bem como de quantidades traço de impurezas orgânicas e inorgânicas (ROOS et al., 2013; EGGLESTON et al., 1996; ORSI, 1973; VANHAL e BLOND, 1999; EGGLESTON e VERCELLOTTI, 2000; HURTTA, PITKÄNEN e KNUUTINEN, 2004; LEE, THOMAS e SCHMIDT, 2011b; BECKETT et al., 2006; RICHARDS, 1986). Porém, não são encontrados trabalhos relacionados à análise da influência do material do porta amostra na degradação de açúcares. Além disso, observou-se que as pesquisas têm sido realizadas com o intuito de determinar o comportamento térmico de açúcares puros (padrões analíticos) e em nenhuma delas é avaliado o efeito de variáveis instrumentais no comportamento da desidratação de alimentos com altos teores de açúcares. Assim, neste trabalho, para a otimização do método termogravimétrico foi aplicado um planejamento fatorial  $2^2$  para investigar o efeito da mudança na razão de aquecimento e no material do porta amostra nos teores de água de amostras de

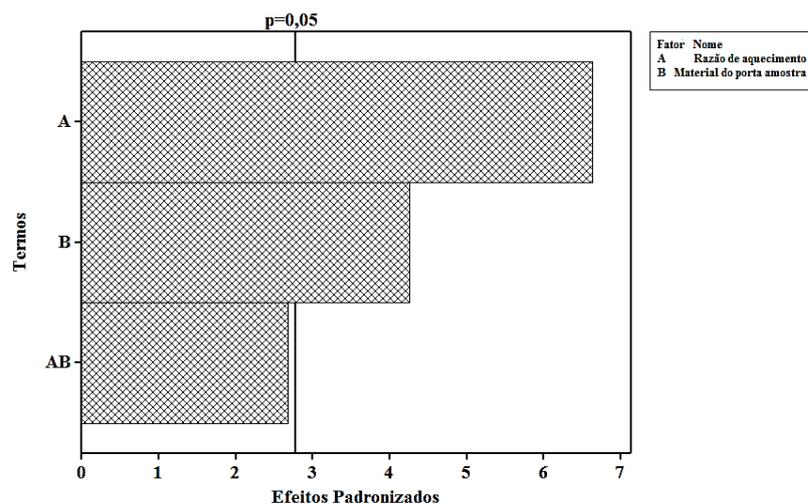
açúcar mascavo. As oito curvas TG/DTA do planejamento fatorial mostraram um perfil de secagem termogravimétrico semelhante ao visto na Figura 5-a, para a etapa de eliminação de água. Os resultados e os efeitos calculados são apresentados na Tabela 5.5.

**Tabela 5.5.** Resultados do planejamento fatorial  $2^2$  para a análise dos teores de água nas amostras de açúcar mascavo por termogravimetria

Experimentos	Razão de aquecimento ( $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ )	Material do porta amostra	Teores médios de água (g/100g) $\pm$ DP
TG1	5	Platina	$1,91 \pm 0,16$
TG2	10	Platina	$1,56 \pm 0,13$
TG3	5	Alumina	$2,53 \pm 0,05$
TG4	10	Alumina	$1,70 \pm 0,14$
<b>Efeitos</b>		<b>Estimativas <math>\pm</math> erro padrão*</b>	
<b>Média global</b>		$1,93 \pm 0,02$	
<b>Efeitos principais:</b>			
Razão de aquecimento (1)		$-0,59 \pm 0,04$	
Material do porta amostra (2)		$0,38 \pm 0,04$	
<b>Efeitos de interação de dois fatores:</b>			
(1)x(2)		$-0,24 \pm 0,04$	

\* erro padrão calculado a partir das duplicatas das curvas TG/DTA da amostra de açúcar mascavo utilizada no planejamento fatorial.

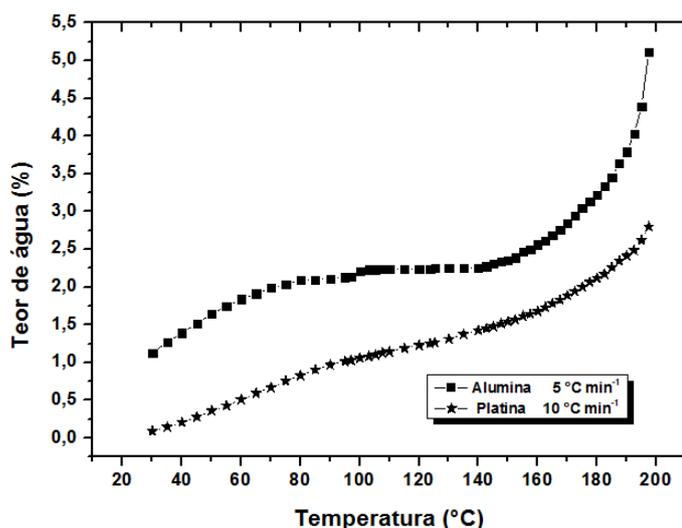
A partir da análise do teste-*t* a 95,0 % de confiança, as variáveis do planejamento fatorial (razão de aquecimento e material do porta amostra) foram consideradas significativas e não foi observado um efeito de interação importante entre elas (Tabela 5.5, Figura 5.4). Isto indica que estas variáveis podem ser otimizadas independentemente.



**Figura 5.4.** Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados do planejamento fatorial no nível de 95,0 % de confiança.

A mudança no nível da variável razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  para  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , resultou em uma diminuição de 0,59 % nos teores médios de água (Tabela 5.5 e Figura 5.4). Este comportamento pode estar associado com a composição química e tipo de processamento utilizado na obtenção do açúcar mascavo. Em vista disso, este alimento é constituído por cristais de açúcar menos refinados e que apresentam melado de cana em sua composição em quantidades variáveis. Assim, ele apresenta quantidades variáveis de impurezas, tais como sais minerais, ácidos, proteínas e açúcares tais como glicose e frutose (HARWALKAR e MA, 1990; WROLSTAD, 2012; CUI, 2005). Tais impurezas podem diminuir a estabilidade do açúcar mascavo e acelerar as reações de decomposição térmica que se sobrepõem a remoção de água deste alimento. Este efeito é mais pronunciado (TFS menor) quando se utiliza uma razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , pois se torna difícil distinguir nas curvas termogravimétricas de secagem as perdas de massa atribuídas a água contida na amostra das derivadas de reações de decomposição, independentemente do porta amostra utilizado (Figura 5.5). Assim, o uso de razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  é mais adequada para a secagem de amostras que contêm elevados teores de açúcar, uma vez que minimiza as possibilidades de introdução de erros sistemáticos nos teores de água. Este efeito também foi observado por Felsner (2001) para a secagem termogravimétrica de amostras de mel.

A mudança do material do porta amostra de platina para alumina, resultou em um aumento nos teores médios de água de cerca de 0,38 % (Tabela 5.5). Isto pode ser explicado pela diferença nas características de transferência de calor para cada tipo de material do porta amostra. Platina tem uma condutividade térmica mais elevada ( $71,6 \text{ Wm}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ) do que a alumina ( $30 \text{ Wm}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ) e, assim, proporciona um aumento na transferência de calor entre a amostra e o porta amostra. Como descrito acima, a presença de impurezas no açúcar mascavo como açúcares redutores (glicose e frutose), sais minerais e ácidos orgânicos, em diferentes proporções diminui a estabilidade do produto e as reações de degradação previamente descritas tornam-se mensuráveis em temperaturas de secagem mais baixas, em especial quando o porta amostra de platina é utilizado (Figura 5.5).



**Figura 5.5.** Curvas de secagem termogravimétricas extraídas das curvas TG/DTA. O teor de água determinado por titulação de Karl Fischer na amostra de açúcar mascavo foi de 2,59 %.

Além destes efeitos principais não foi observado um efeito de interação significativo entre as variáveis (Tabela 5.5), o que significa que os fatores podem ser analisados separadamente, pois seus efeitos são independentes dos níveis de outras variáveis.

Os resultados do planejamento fatorial sugerem que as melhores condições para a determinação termogravimétrica de água no açúcar mascavo são aquelas do experimento TG3 descrito na Tabela 5.5. Para confirmar esta hipótese foi realizada

uma análise do teor de água pelo método de titulação de Karl Fischer e aplicado um teste-*t* no nível de 95,0 % de confiança. A análise do teste-*t* ( $p > 0,05$ ) indicou que não há diferenças significativas entre os teores de água da amostra de açúcar mascavo determinados pelos dois métodos analíticos. Assim, as condições ótimas para a análise termogravimétrica foram: razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , porta amostra de alumina, atmosfera dinâmica de ar (vazão de  $50\text{ mL min}^{-1}$ ) e 5,0 mg de amostra.

### **5.2.3.3 Estudo de Validação do Método Termogravimétrico e de Estufa**

Recentemente, há um reconhecimento mundial de que os estudos de validação de métodos são necessários em qualquer laboratório que se dedica ao desenvolvimento e estabelecimento de métodos padrão. Na literatura, tem sido apontado que as características de desempenho exatidão e precisão são os aspectos mais importantes que qualquer método analítico deve abordar (ARAUJO, 2009; WERNIMONT, 1985). A exatidão refere-se ao grau de concordância entre as medidas individuais com algum valor de referência verdadeiro ou aceito; enquanto que a precisão é definida como a proximidade de medições individuais do valor médio (não necessariamente do valor verdadeiro). A determinação da exatidão permite estimar o grau em que os erros sistemáticos podem afetar um método particular, enquanto uma análise de precisão exprime numericamente o erro aleatório ou o grau de dispersão de um conjunto de medidas individuais, por meio do desvio padrão, da variância ou do coeficiente de variação (ARAUJO, 2009; WERNIMONT, 1985). Portanto, foi realizado um estudo de validação para avaliar esses dois parâmetros com o intuito de assegurar que os teores de água determinados nas amostras de açúcar mascavo pela termogravimetria são confiáveis. Os resultados da análise de diferentes amostras de açúcar mascavo por termogravimetria e pela titulação de Karl Fischer são apresentados como médias e desvios padrão na Tabela 5.6.

A exatidão de um método analítico é avaliada por diferentes estratégias como o uso de materiais de referência certificados, a comparação com métodos de referência ou por estudos de recuperação (ARAUJO, 2009). Neste trabalho, a titulação de Karl Fischer foi adotada como método de referência, devido a sua alta seletividade para análise de água em diferentes matrizes (ISENGARD, 2001). Assim,

a exatidão da termogravimetria foi avaliada por um teste-*t* pareado no nível de confiança de 99,0 %, para as diferenças entre os teores médios de água, determinados pelos métodos termogravimétrico e de titulação de Karl Fischer. Os resultados deste teste estatístico ( $t = - 0,34$ ,  $p = 0,738$ ) sugerem que não existem diferenças significativas nos teores de água obtidos pelos dois métodos analíticos. Assim, a termogravimetria mostra exatidão adequada para análise de água em amostras de açúcar mascavo.

**Tabela 5.6.** Teores médios de água e de umidade e desvios padrão correspondentes das amostras de açúcar mascavo obtidos para os três métodos analíticos investigados.

Amostras	Teores de água e de umidade (g/100g) ± DP*		
	Karl Fischer	TG/DTA	Secagem em Estufa
A1	2,59±0,08	2,53±0,05	2,71±0,03
A2	3,16±0,03	3,23±0,05	4,39± 0,01
A3	3,36±0,01	3,36±0,02	5,29±0,01
B1	1,53±0,02	1,53±0,03	2,15±0,07
B2	1,06±0,03	1,04±0,11	1,34±0,08
B3	1,19±0,01	1,07±0,13	1,47±0,01
C1	2,20±0,02	2,21±0,01	3,24 ±0,09
C2	2,46± 0,01	2,46± 0,04	3,82±0,08
C3	2,86±0,01	2,88±0,02	4,00±0,05
D1	3,35± 0,06	3,41± 0,08	4,70±0,03
D2	3,74±0,04	3,76±0,04	4,24±0,04
D3	2,13±0,03	2,11±0,02	3,74± 0,07
E1	3,54±0,01	3,58±0,05	4,23±0,06
E2	2,84±0,01	2,78±0,07	3,39±0,06
E3	3,01±0,01	3,02±0,04	3,50±0,01

\*os desvios padrão foram calculados usando as duplicatas dos teores de água e de umidade para cada método analítico investigado.

Estimativas de precisão de um método de análise podem ser obtidas através da comparação do desvio-padrão ou da variância de dois métodos analíticos para

diferentes amostras do mesmo alimento, ou pela replicação de uma amostra por um período de tempo prolongado (WERNIMONT, 1985). Outra estratégia é avaliar a influência de fatores como tempo, equipamentos, laboratórios e analistas na precisão do método (ARAUJO, 2009). Assim, para avaliar a precisão da termogravimetria um teste- $F$  apropriado foi aplicado, o qual considera a razão entre as variâncias dos métodos termogravimétricos e de titulação de Karl Fischer e foram calculados os intervalos de confiança para a razão entre as variâncias e os desvios padrão a 99,0 % de confiança.

A análise do teste- $F$  ( $F_{obs} = 3,48$ ;  $p = 0,003$ ) sugere que o método termogravimétrico mostra precisão semelhante à da titulação de Karl Fischer. Estes resultados são confirmados pelo cálculo dos intervalos de confiança para a razão entre as variâncias (0,807 – 14,915 para a termogravimetria), os quais apresentam um limite inferior menor que 1,0. Este fato e a sobreposição dos intervalos de confiança para os desvios padrão ponderados (0,041 - 0,109 para a termogravimetria e 0,022 - 0,059 para a titulação de Karl Fischer) indicam que não há diferenças significativas entre a precisão do novo método termogravimétrico proposto em relação à da titulação de Karl Fischer. Isto confirma que a técnica termogravimétrica desenvolvida neste estudo tem precisão adequada para a determinação de água em amostras de açúcar mascavo.

A secagem em estufa é o método oficial para análise de umidade em amostras de açúcar mascavo, recomendada pela ICUMSA (2005) e Codex Alimentarius (1999). Métodos de secagem em estufa são geralmente adotados como métodos padrão na análise de umidade em alimentos porque eles são fáceis de executar e de baixo custo. Na literatura é reconhecido por muitos pesquisadores que as técnicas de secagem não medem o teor de água total. O resultado é uma perda de massa nas condições aplicadas (MATHLOUTHI, 2001; ISENGARD, 2001; HEINZE e ISENGARD, 2001) e por isso não reflete, necessariamente, o teor de água verdadeiro. A água fortemente ligada escapa da detecção, e uma distinção entre as frações de água livre e de água ligada no alimento é praticamente impossível (ISENGARD, 2001). Além disso, a secagem em estufa pode apresentar diferentes fontes de erros. Estes são, por exemplo, a remoção incompleta de água, a perda de outros compostos voláteis além da água durante o período de secagem, a formação de uma crosta na superfície do produto que retarda a eliminação de água

e a formação de água por meio de reações de decomposição e a reação de Maillard (MATHLOUTHI, 2001). Portanto, para avaliar o desempenho do método oficial (secagem em estufa) em relação à titulação de Karl Fischer (método de referência) os parâmetros exatidão e precisão foram calculados usando as mesmas técnicas estatísticas aplicadas anteriormente ao método termogravimétrico. Os resultados das análises das amostras de açúcar mascavo por secagem em estufa e por titulação de Karl Fischer são apresentados como médias e desvios-padrão na Tabela 5.6.

A exatidão foi avaliada mediante a aplicação do teste-*t* pareado no nível de confiança de 99,0 %. Os resultados ( $t = 9,00$ ;  $p = 0,000$ ) sugerem que o método de secagem em estufa produz consistentemente maiores teores de água do que os determinados pela titulação de Karl Fischer (método seletivo) e que eles não representam o teor de água original (como o fazem os outros métodos). Para explicar esse comportamento, foram realizadas análises de correlação entre os teores de umidade obtidos por esta técnica e parâmetros físico-químicos, como a acidez, os teores de cinzas e de açúcares redutores.

Correlações lineares positivas entre os teores de umidade determinados pela secagem em estufa e os teores de acidez ( $r = 0,701$ ;  $p=0,004$ ) e de cinzas ( $r = 0,675$ ;  $p=0,000$ ) foram observadas. Estes resultados indicam que os erros sistemáticos na análise da água por este método são influenciados pela composição química das amostras de açúcar mascavo. Como descrito anteriormente, as impurezas (ácidos orgânicos e sais) podem acelerar a degradação da sacarose e outros açúcares presentes no açúcar mascavo, o que favorece a eliminação de outras substâncias voláteis, juntamente com a remoção de água a partir da amostra. Este efeito é pronunciado, mesmo a temperaturas mais baixas (105 °C) adotadas na estufa, e devido ao longo tempo de análise (3,0 h), em que o alimento foi submetido a este aquecimento. Este resultado é consistente com estudos anteriores em que foi observado que a degradação da sacarose aumenta com a extensão do tratamento térmico (VANHAL e BLOND, 1999; RICHARDS, 1986).

Para avaliar a precisão, um teste-*F* apropriado foi aplicado. Este considera a razão entre as variâncias dos métodos de secagem em estufa e da titulação de Karl Fischer e o cálculo dos intervalos de confiança para a razão entre as variâncias e os

desvios padrão ponderados a 99,0 % de confiança. A análise do teste- $F$  ( $F_{obs}= 2,80$ ;  $p = 0,064$ ) sugere que o método de secagem em estufa mostra precisão semelhante à da titulação de Karl Fischer. Estes resultados são corroborados pelo cálculo dos intervalos de confiança para a razão de variâncias (0,651- 12,031), que apresentam um limite inferior menor que 1,0. Este fato e também a sobreposição de intervalos de confiança para os desvios padrão ponderados (0,037-0,098 para secagem em estufa e, 0,022 – 0,059 para titulação de Karl Fischer), indicam que não há diferenças significativas entre a precisão no método de secagem em estufa em relação à titulação de Karl Fischer. Com base nos resultados do estudo de validação, pode afirmar-se que o método de secagem em estufa tem precisão comparável aos métodos de titulação de Karl Fischer e termogravimétrico. No entanto, a sua exatidão é afetada pela composição química das amostras de açúcar mascavo. Visto que o teor de água é um fator muito importante para o controle de qualidade deste alimento, e tem influência direta no sabor, textura e propriedades físicas, bem como na estabilidade durante o armazenamento, é necessária a determinação precisa e exata deste parâmetro. Assim, pelo método oficial (secagem em estufa), não se obtém resultados exatos.

### **5.3 CONCLUSÕES**

Considerando os resultados da análise multivariada foi possível determinar que somente as amostras do grupo B (menores teores de água, açúcares redutores, cor, GENE, acidez e íons metálicos) apresentaram qualidade superior às amostras dos demais fabricantes (A, C, D e E) sugerindo uma padronização da matéria prima e das condições de processamento. Observou-se também que a presença de íons metálicos, açúcares redutores, acidez e umidade favorecem o processo de degradação da sacarose e diminuem a qualidade do açúcar mascavo.

A análise do perfil de secagem termogravimétrica sugere que o açúcar mascavo tem um comportamento térmico complexo, no qual os eventos de desidratação e de fusão podem sobrepor-se a reações de decomposição térmica da sacarose e de outros componentes. A presença de sais minerais, ácidos orgânicos e açúcares redutores em quantidades variáveis foram importantes para explicar as diferenças nas temperaturas finais de secagem termogravimétrica e o comportamento de fusão deste alimento.

Os resultados do estudo de otimização realizado pelo planejamento fatorial sugerem que a razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e o uso de porta amostra de alumina são mais adequados para a secagem termogravimétrica de amostras de açúcar mascavo do que taxas de aquecimentos maiores e porta amostras de platina. Esta razão de aquecimento e o uso de um porta amostra de alumina proporcionam uma melhor transferência de calor na amostra durante a secagem, minimizando a influência das reações de degradação na remoção de água. Conseqüentemente essas condições da termogravimetria minimizam a introdução de erros sistemáticos na análise dos teores de água. Assim as condições ótimas para o método termogravimétrico são razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , porta amostra de alumina, atmosfera dinâmica de ar com vazão de  $50\text{ mL min}^{-1}$  e  $5,0\text{ mg}$  de massa de amostra.

O estudo de validação demonstrou por diferentes técnicas estatísticas que a termogravimetria mostrou exatidão e precisão adequadas para a determinação desse parâmetro físico-químico no açúcar mascavo, uma vez que não foram observados erros sistemáticos e aleatórios significativos especialmente em relação ao método de Karl Fischer. Esta metodologia pode ser considerada otimizada e validada podendo ser aplicada em análises de rotina para o controle de qualidade de amostras de açúcar mascavo. Os dados do estudo de validação do método oficial (secagem em estufa) demonstraram que a sua precisão é comparável com os outros dois métodos analíticos investigados (termogravimetria e titulação de Karl Fischer), porém a sua exatidão é afetada por erros sistemáticos cuja magnitude depende da composição química do açúcar mascavo. Em vista disto, pode afirmar-se que este método não produz resultados corretos para a análise dos teores de água deste alimento.

O uso da termogravimetria para a análise dos teores de água em açúcar mascavo pode ser vantajosa em relação aos outros métodos, tais como a secagem em estufa, a secagem por radiação infravermelha ou a titulação de Karl Fischer. Esta técnica de análise térmica não utiliza reagentes caros ou solventes tóxicos e ainda não faz uso de qualquer preparo da amostra. Além disso, permite a identificação da faixa de temperaturas em que a água é eliminada e a obtenção de informações sobre a estabilidade e o perfil de degradação que podem contribuir para a otimização dos processos de produção do açúcar mascavo.

## 5.4 Referências

ACQUISTUCCI, R.; BUCCI, R.; MAGRI, A.D.; MAGRI, A.L. Evaluation of the moisture and ash contents in wheat mills by multistep programmed thermogravimetry. *Thermochimica Acta*, v. 188, p. 51–62, 1991.

ANVISA. CNNPA - Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Normas Técnicas Especiais. Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Resolução n.12 de 1978. Acessado em: janeiro, 2015.

ARAUJO, P. Key aspects of analytical method validation and evaluation. *Journal of Chromatography B*. v. 877. p. 2224-2234. 2009.

ARAÚJO, E.R., BORGES, M.T.M.R., CECCATO-ANTONINI, S.R., VERRUMA-BERNARDI, M.R., Qualidade de açúcares mascavo produzidos em um assentamento da reforma agrária. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.22, n.4, p.617-621, 2011.

BARROS NETO, B., SCARMINO, I.S., BRUNS, R.E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria, (4th ed.), Bookman, Porto Alegre, 2010.

BECKETT, S.T., FRANCESCONI, M.G., GEARY, P. M., MACKENZIE, G., MAULNY, A.P.E.DSC study of sucrose melting. *Carbohydrate Research*, v. 341, p. 2591-2599, 2006.

BEEBE, K.R.; PELL, R.J.; SEASHLOTZ, M.B. Chemometrics: a practical guide, John Wiley & Sons: New York, 1997.

BETTANI, S.R.; LAGO, C.E.; FARIA, D.A.M.; BORGES, M.T.M.R.; VERRUMA-BERNARDI, M.R. Avaliação Físico-Química e Sensorial de Açúcares Orgânicos e Convencionais. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v. 16, p.155-162, 2014.

BRASIL. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos-CNNPA. Resolução no 12/33. Normas técnicas especiais. [Brasil]: D.O.U., 1978.

CADAVID, C.O. Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas-BPA- y Buenas Practicas de Manufactura-BPM- en la produccion de caña y panela. Rome:FAO, 199p., 2007.

CODEX. Codex standards for sugar 212. In FAO-WHO. Food Standards Programme, Codex Alimentarius (pp.1-5). Rome: Codex Alimentarius Commission, 1999.

COSTA, A. I. A., JONGEN, W.M.F. New insights into consumer-led food product development. *Trends in Food Science and Technology*, v. 17, p. 457-465, 2006.

CUI, S. W. Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties and Applications. Taylor & Francis Group. New York, USA, 2005.

EGGLESTON, G., VERCELLOTTI, J.R., EDYE, L.A., CLARKE, M.A. Effects of salts in the initial thermal degradation of concentrated aqueous solutions of sucrose. *Journal of Carbohydrate Chemistry* v. 15, p. 81-94, 1996.

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

FARIA, D. A. M. Estudo nutricional e sensorial de açúcares cristal, refinado, demerara e mascavo orgânicos e convencionais. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural) – Universidade Federal de São Carlos, Araras, SP. 2012.

FELSNER, M.L. Caracterização de Méis Monoflorais de Eucalipto e Laranja do Estado de São Paulo por Técnicas Termoanalíticas. 255 f. Tese de Doutorado. Instituto de Química – USP. 2001.

GENEROSO, W. C. BORGES, M. T. M. CECCATO-ANTONINI, S. R. MARINO, A. F. SILVA, M. V. NASSU, R. T. VERRUMA-BERNARDI, M. R. Avaliação microbiológica e físico-química de açúcares mascavo comerciais. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 68, n. 2, p 259-268, 2009.

GUERRA, M.J., MUJICA, M.V. Physical and chemical properties of granulated cane sugar “panelas”. *Food Science and Technology* v.30, p. 250-257, 2010.

HAINES, P.J. Principles of Thermal Analysis and Calorimetry. Oakland Analytical Services, Farnhurn, Surrey, The Royal Society of Chemistry UK, 2002.

HARWALKAR, V.R., & MA, C.Y. Thermal Analysis of Foods. Elsevier Science Publishers LTD. England, 1990.

HEINZE, P. & ISENGARD, H.D. Determination of the water content in different sugar syrups by halogen drying. *Food Control*, v. 12, p. 483-486, 2001.

HURTTA, M., PITKÄNEN, I., KNUUTINEN, J. Melting behavior of d-sucrose, d-glucose and d-fructose. *Carbohydrate Research*, v.339, p. 2267-2273, 2004.

IAL. Instituto Adolf Lutz. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, (4ª ed.). São Paulo – Brasil, 2008.

ICUMSA. International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis. England, 2005.

ISENGARD, H.D. Water content one of most important properties of food. *Food Control*, v. 12, p. 395-400, 2001.

ISENGARD, H.D., HEINZE, P. Determination of total water and surface water in sugars. *Food Chemistry* v. 82, p. 169-172, 2003.

JESUS, D.A. Qualidade microbiológica de amostras de açúcar mascavo. 95 f. Dissertação de mestrado. Esalq/USP Piracicaba, 2010.

KUMARESAN, R.; MOORTHY BABU, S. Crystal growth and characterization of sucrose single crystals. *Materials Chemistry and Physics*, v. 49, p. 83-86, 1997.

LEE, J.W., THOMAS, L.C, JERRELL, J., FENG, H., CADWALLADER, K.R., SCHMIDT, S.J. Investigation of thermal decomposition as the kinetic process that causes the loss of crystalline structure in sucrose using a chemical analysis approach (Part II). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 702-712, 2011a.

LEE, J.W., THOMAS, L.C, SCHMIDT, S.J. Investigation of the heating rate dependency associated with the loss of crystalline structure in sucrose, glucose and fructose using a thermal analysis approach (Part I). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 684-701, 2011b.

LOPES, C.H., BORGES, M.T.M.R. Produção de açúcar mascavo, rapadura e melado de cana. SEBRAE, Araras, 1998.

LOPES, C.H., BORGES, M.T.M.R. Proposta de normas e especificações para açúcar mascavo, rapadura e melado de cana. DTAiSER / Centro de Ciências Agrárias / Universidade de São Carlos. 10p, 2004.

MATHLOUTHI, M. Water content, water activity, water structure and the stability of foodstuffs. *Food Control*, v. 12, p. 409-417, 2001.

MILLER, J.C., MILLER, J.N. Estadística para Química Analítica, (2<sup>nd</sup> ed.), Addison-Wesley Iberoamerican. S. A., Delaware, 1993.

MINITAB, Minitab Incorporation, Version 16.2.2, USA, 2010.

NATALINO, R. Caracterização de açúcar mascavo aplicando análise de componentes principais e dados espectrométricos. 52 f. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – MG, 2006.

NIELSEN, S.S. Introduction to the Chemical Analysis of Foods. Jones and Bartlett Publishers, London, England, 1994.

OLIVEIRA, D.T, ESQUIAVETO, M.M.M., SILVA JÚNIOR, J.F. Impacto dos Itens da Especificação do Açúcar na Indústria Alimentícia. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27 (supl), p.99-102, 2007.

ORSI, F. Kinetic studies on the thermal decomposition of glucose and fructose. *Journal of Thermal Analysis*, v.5, p. 329-335, 1973.

PARAZZI, C.; JESUS, D.A.; LOPES, J. C.; VALSECHI, O.A. Análises microbiológicas do açúcar mascavo. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v.25, p.32-40, 2009.

QUINTAS, M., BRANDÃO, T.R.S., Silva, C.L.M. Modelling autocatalytic behaviour of a food model system—Sucrose thermal degradation at high concentrations. *Journal of Food Engineering*, v. 78, p. 537–545, 2007.

RICHARDS, G. N. Initial steps in thermal degradation of sucrose. *International Sugar Journal*, v. 88, p. 145-148, 1986.

ROSS, Y.H.; KAREL, M.; LABUZA, T.B.; LEVINE, H.; MATHLOUTHI, M.; REID, D.; SHALAEV, E. SLADE, L. Melting and crystallization of sugars in high-solids systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, p. 3167–3178, 2013.

SANCHEZ, V., BAEZA, R., CIAPPINI, C., ZAMORA, M.C., & CHIRIFE, J. Comparison between Karl Fischer and refractometric method for determination of water content in honey. *Food Control*, v. 21, p. 339-341, 2010.

SANTOS, L. B. Caracterização térmica de sacarose de cana-de-açúcar: amostras de padrão de referência, comercial e purificada. 117 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2011.

SCHÖFFSKI, K. New Karl Fischer reagents for the water determination in food. *Food Control*, v. 12, p. 427-429, 2001.

SHARAF, M.A.; ILLMAN, D.L.; KOWALSKI, B.R. *Chemometrics*, John Wiley & Sons, New York, 1986.

SILVA, V.M., SILVA, L.A., DE ANDRADE, J.B., VELOSO, M.C.C., SANTOS, G.V. Determination of moisture content and water activity in algae and fish by thermoanalytical techniques. *Química Nova*, v. 31, p. 901–905, 2008.

SIMKOVIC, I. SURINA, I., VRICAN, M. Primary reactions of sucrose thermal degradation. *Journal of Analytical Applied Pyrolysis*, v. 70, p. 493-504, 2003.

TOMASSETTI, M., CAMPANELLA, L., AURELI, T. Thermogravimetric analysis of some spices and commercial food products: Comparison with other analytical methods for moisture content determination (part 3). *Thermochimica Acta*, v. 143, p. 15–26, 1989.

TOMASSETO, M.Z.C., LIMA, J.F. & SHIKIDA, F.A. Desenvolvimento local e agricultura familiar: o caso da produção de açúcar mascavo em Capanema – PR. *Interações (UCDB)*, v. 10, p. 21-30, 2009.

VANHAL, I., BLOND, G. Impact of melting conditions of sucrose on its glass transition temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 47, p. 4285-4290, 1999.

VERRUMA-BERNARDI, M.R., BORGES, M.T.M.R., LOPES, C.H., DELLA-MODESTA, R.C. & CECCATO-ANTONINI, S.R. Avaliação microbiológica físico-química e sensorial de açúcares mascavo comercializados na cidade de São Carlos – SP. *Brazilian Journal of Food and Technology*, v.10, p. 205-211, 2007.

WERNIMONT, G.T. *Use of Statistics to Develop and Evaluate Analytical Methods*. First ed. AOAC International, Virginia, 1985.

WOJTCZAK, M., ANTCZAK, A., LISIK, K. Contamination of commercial cane sugars by some acids and some inorganic anions. *Food Chemistry*, v.136, p. 193-198, 2013.

WROLSTAD, R.E. Food Carbohydrate Chemistry. Wiley-Blackwell a JohnWiley & Sons Ltd.Iowa, USA, 2012.

**CAPÍTULO 6. OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM  
MELADO DE CANA**

## OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM MELADO DE CANA

O melado é considerado um alimento de grande importância em várias regiões do Brasil, pois 100 g do produto fornecem 300 calorias, além de possuir teores importantes de minerais e vitaminas em sua composição. Seu uso na alimentação humana é diversificado e varia entre as regiões, podendo ser consumido puro e em misturas com outros alimentos tais como queijos, farinhas, biscoitos, bolos, inhame e mandioca. Além disso, o melado é utilizado também como ingrediente na indústria de confeitaria, bebidas, balas e até mesmo como substituto do xarope no acondicionamento de alguns tipos de frutas em conserva (CARVALHO, 2007; SILVA, CESAR e SILVA, 2003).

Em relação às características físico-químicas, o melado poderá apresentar um máximo de 25,0 % (m/m) de umidade, acidez em solução normal máxima de 10,0 % (m/v), um mínimo de 50,0 % (m/m) de glicídios totais, no máximo 6,0 % (m/m) de cinzas (resíduo mineral fixo) e uma concentração de açúcar em torno de 65 a 74 °Brix; nas preparações microscópicas, deverá demonstrar ausência de sujidades, parasitas, larvas e insetos e seus fragmentos (CARVALHO, 2007; SILVA, CESAR e SILVA, 2003, NAJAFPOUR e SHAN, 2003). O melado de cana também apresenta em torno de 75,0 % (m/m) de matéria seca e 50,0 % (m/m) de açúcares, além de ser uma fonte rica de hidratos de carbono e sais minerais (PINTO, PEREIRA e MIZUBUTI, 2003). Como não foram encontrados estudos voltados à caracterização físico-química de amostras de melado de cana e com o intuito de obter informações importantes para explicar o comportamento térmico deste alimento, um trabalho de caracterização pela Análise de Componentes Principais (PCA) envolvendo vários parâmetros físico-químicos e íons metálicos será apresentado inicialmente neste capítulo.

O método recomendado para análise de umidade em alimentos ricos em açúcares como o melado de cana é a secagem em estufa à vácuo, sob temperatura de 60 ou 70 °C durante aproximadamente 6 horas (CECCHI, 1999). Apesar desta metodologia possuir vantagens como baixo custo e facilidade de implantação, apresenta os mesmos erros já descritos no capítulo 5. Dessa forma, a determinação exata e precisa do teor de água (ou umidade) contido neste alimento é importante

para assegurar sua qualidade e estabilidade durante a estocagem. Sendo assim, neste capítulo serão descritos também os resultados dos estudos de otimização e validação de uma nova metodologia termogravimétrica para a determinação teor de água em melado de cana.

A termogravimetria no modo isotérmico em que se mantém a temperatura constante e varia-se o tempo pode ser uma ferramenta valiosa para o desenvolvimento de métodos de secagem em estufa, pois auxilia na determinação das temperaturas e tempos ótimos de análise. Portanto, neste capítulo serão apresentados também os resultados da aplicação da termogravimetria isotérmica para o desenvolvimento de um novo método de secagem em estufa convencional para amostras de melado de cana bem como o estudo de validação da metodologia proposta.

## **6.1 Caracterização Físico – Química de Melado de Cana pela Análise de Componentes Principais**

### **6.1.1 Metodologia**

#### **6.1.1.1 Amostras**

Para o estudo foram utilizadas seis amostras de melado de cana (cinco do Brasil e uma do Canadá) de origens e lotes diferentes já descritas anteriormente no Capítulo 4, item 4.2, as quais foram mantidas em seu próprio recipiente e armazenadas em local seco e arejado até a realização das análises.

#### **6.1.1.2 Análises Físico-Químicas**

Os açúcares redutores foram determinados pelo método 177/IV, o pH pelo método 017/IV, o HMF (5-(hidróximetil) - 2-furaldeído) pelo método 175/IV, a acidez pelo método 174/IV e o °Brix pelo método 315/IV, todos descritos nos Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (IAL, 2008). As cinzas condutimétricas foram obtidas pelo método GS 1/3/4/7/8-13 e o grau de escurecimento não enzimático mensurado pelas medidas de absorbância a 420 nm (método GS 2/3-18) ambos descritos na ICUMSA (2005). A temperatura final de

secagem (TFS) das amostras foi determinada através da curva de secagem termogravimétrica obtida plotando-se as perdas de massa das curvas TG/DTG versus a temperatura no intervalo da temperatura ambiente até 250 °C, e as mesmas foram realizadas em duplicata.

#### **6.1.1.3 Determinação de Íons Metálicos**

As soluções de melado de cana utilizadas na análise dos íons metálicos foram preparadas a partir do método 393/IV dos Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (IAL, 2008). Pesou-se 0,5 g de amostra em uma cápsula de porcelana, que em seguida foi aquecida em uma chapa elétrica, carbonizada em um bico de Bunsen e por fim levada para um forno mufla por 4 h com temperatura de 550 °C, para incineração até a obtenção das cinzas. As cinzas foram solubilizadas em solução de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) 1:1 (v/v), sendo que em cada amostra de cinzas foram adicionados 3,0 mL da solução ácida e o volume foi completado com água ultrapura para 25,0 mL.

As determinações de Ca, Fe, Mg, Zn e Mn, foram realizadas em um espectrofotômetro de absorção atômica em chama – FAAS (Varian, modelo AA 220), equipado com lâmpadas de catodo oco da marca Varian, localizado no Laboratório do Grupo de Análise de Traços e Instrumentação (LabGati) da UNICENTRO. Todas as medidas de absorbância das amostras foram obtidas em triplicatas, e descontados os respectivos sinais das provas em branco. Para a atomização foi utilizada chama composta de ar/acetileno e apenas para o Ca foi utilizada a mistura óxido nitroso/acetileno e os outros parâmetros instrumentais seguiram as recomendações do fabricante.

As determinações dos elementos Na e K foram realizadas em triplicatas usando um fotômetro de chama (Micronal – modelo B462) localizado no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da UNICENTRO.

#### **6.1.1.4 Análise de Componentes Principais das Características Físico-Químicas**

Para avaliar a influência das características físico-químicas na qualidade das amostras de melado de cana investigadas foi aplicada uma Análise de Componentes Principais (ACP). A ACP foi realizada através da determinação da distância entre os

dados das amostras que foram calculados considerando-se as médias dos parâmetros físico-químicos. Realizou-se também a padronização dos dados com centralização na média. Toda a análise estatística foi realizada usando o software MATLAB (Matlab & Simulink-R2006a, OPENCADD ADVANCED TECHNOLOGY, São Paulo, Brasil).

### 6.1.2 Resultados e Discussão

Um estudo de caracterização físico-química das amostras de melado de cana pela Análise de Componentes Principais foi realizado para verificar possíveis semelhanças e/ou diferenças entre as mesmas, bem como a correlação entre as variáveis avaliadas e também para entender melhor o seu comportamento térmico. Os resultados da análise físico-química e dos íons metálicos são apresentados como médias na Tabela 6.1 e 6.2 respectivamente.

**Tabela 6.1.** Valores médios para a composição físico-química das amostras de melado de cana.

Amostras	°Brix	pH	Cinzas (%)	A. R. <sup>1</sup> (%)	GENE <sup>2</sup>	Acidez (%)	TFS <sup>3</sup> (°C)	HMF <sup>4</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	C.E. <sup>5</sup> (µs cm <sup>-1</sup> )
M1	76,3	4,6	1,49	66,6	1,42	52,4	147	536,4	0,828
M2	79,9	4,1	0,49	33,6	0,203	41,2	130	115,7	0,269
M3	82,8	3,7	0,42	54,4	0,323	60,5	120	893,1	0,233
M4	82,3	5,3	0,95	33,3	0,955	35,7	135	109,3	0,525
M5	82,7	4,3	1,36	45,7	0,920	80,1	125	593,3	0,752
M6	79,6	5,3	2,34	40,6	3,13	61,5	128	20,9	1,297

<sup>1</sup> A.R = açúcares redutores; <sup>2</sup> GENE = grau de escurecimento não enzimático medido pela absorbância a 420 nm; <sup>3</sup> TFS = temperatura final de secagem; <sup>4</sup> HMF = 5-(hidroximetil)-2-furaldeído; <sup>5</sup> C.E. = condutividade elétrica. Todas as análises foram feitas em duplicata.

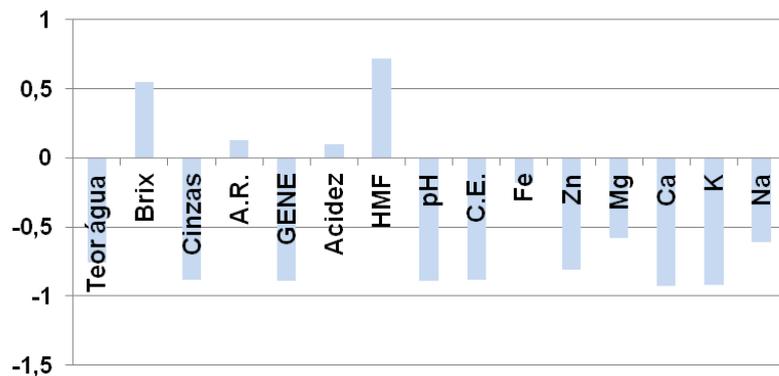
**Tabela 6.2.** Teores médios e desvios padrão em mg/100g de íons metálicos presentes nas amostras de melado de cana.

Amostras	Na	K	Ca	Mg	Mn	Fe	Zn
M1	9,3±1,3	17,7±0,5	155,7±3,1	282,6±5,4	0,61±0,01	0,56±0,03	0,81±0,03
M2	11,6±1,4	7,6±0,2	61,1±0,4	41,1±0,8	0,26±0,00	1,97±0,03	0,86±0,05
M3	6,5±1,1	2,1±1,1	17,1±0,2	51,2± 0,3	ND	0,33±0,01	0,30±0,03
M4	31,9±2,1	11,2±0,6	95,0±0,4	137,9±2,2	0,81±0,01	1,98±0,03	0,99±0,07
M5	3,3 ± 1,5	16,3±0,5	33,9±0,4	10,6±0,8	0,47±0,11	2,30±0,49	0,74±0,12
M6	24,5±1,0	29,4±0,8	274,1±0,1	138,5±0,2	0,11±0,02	1,41±0,07	1,02±0,01

ND=não detectado. As análises foram realizadas em triplicata.

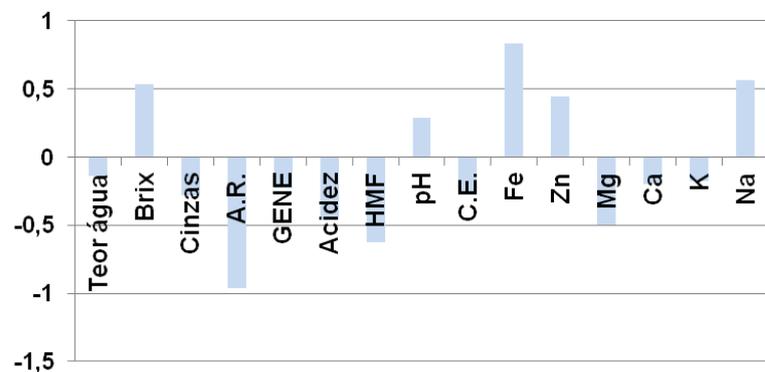
A relação entre os diferentes parâmetros físico-químicos medidos nas amostras de melado de cana foi observada através da Análise de Componentes Principais (ACP) para os dados das Tabelas 6.1 e 6.2. A Figura 6.1-a apresenta as correlações da primeira componente principal, CP1, que respondeu por 51,36 % da variabilidade nos dados. As variáveis °Brix, açúcares redutores, acidez e HMF foram as únicas que se apresentaram inversamente proporcionais a todas as demais pelo Fator 1, enquanto que, as variáveis açúcares redutores, acidez e teor de Fe foram as que menos apresentaram influência na separação das amostras de melado de cana, pois ficaram muito próximas do eixo zero. As variáveis temperatura final (TFS) de secagem e Mn foram retiradas da ACP por serem pouco significativas na separação dos dados.

Por outro lado, a segunda componente principal, CP2, explicou 23,63 % dos resultados (Figura 6.1-b) indicando que as variáveis °Brix, pH, Fe, Zn e Na se apresentaram inversamente proporcionais a todas as demais pelo Fator 2. Destas, as variáveis teor de água, pH, cinzas, Ca e K foram poucos significativas na avaliação dos dados pelo Fator 2.



CP1 = 51,36 %

(a)



CP2 = 23,63 %

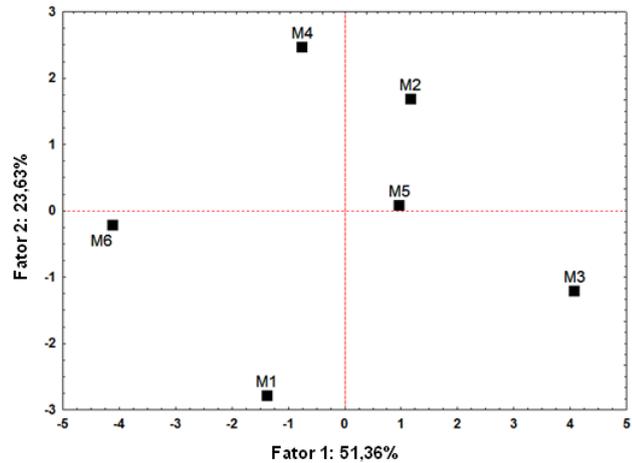
(b)

**Figura 6.1.** Pesos da primeira (a) e segunda (b) componentes principais nas amostras de melado de cana de diferentes fabricantes e lotes.

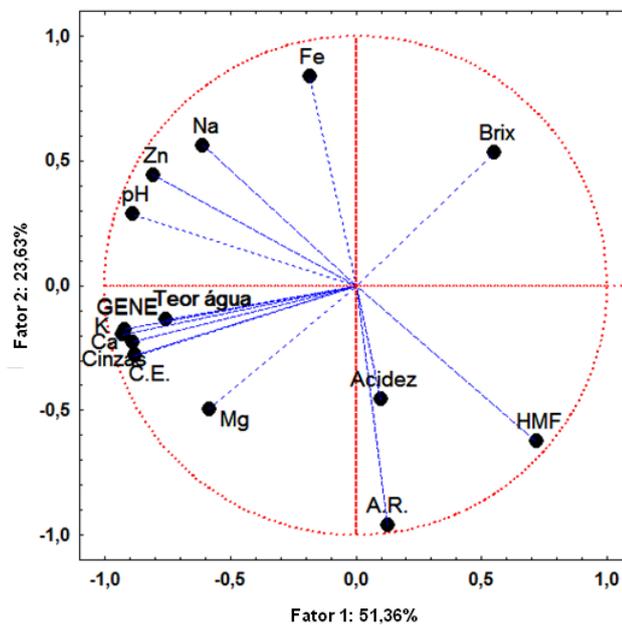
As Figuras 6.2-a e 6.2-b apresentam os pesos e escores das variáveis e amostras, respectivamente. Observou-se que as amostras foram distribuídas em quadrantes diferentes, conforme sua correlação com as variáveis. A amostra M6, que é um melaço de cana, localizada no quadrante negativo de X e Y, ficou distante das demais e se caracterizou por apresentar teores elevados de umidade, grau de escurecimento não enzimático medido pela absorbância em 420 nm (GENE), condutividade elétrica (C.E.), cinzas, pH, íons metálicos Mg, Ca e K. Esta amostra de melaço de cana é a única oriunda do Canadá e se diferenciou das demais amostras de melado de cana brasileiras (M2 a M5). Este fato pode estar relacionado a diferenças na composição do solo e da espécie de cana de açúcar usada na fabricação da amostra M6, além de processo de produção diferente. Somente a

amostra M1 mostrou perfil semelhante à amostra M6 e por isso se localizou no mesmo quadrante. Isto pode ser explicado também pelo tipo de processamento adotado na produção destas. A amostra M6 é um subproduto de refinaria de açúcar conhecido como melaço de cana e a amostra M1 de acordo com informações do fabricante é produzida em equipamentos de aço inoxidável. As demais amostras de melado (M2 a M5) foram obtidas pela evaporação do caldo de cana de forma artesanal. Nogueira et al., (2009) observaram de forma similar que há diferenças na concentração de metais em melados produzidos em diferentes recipientes. Além disso, os valores mais altos de escurecimento não enzimático (GENE), de cinzas, de condutividade elétrica (C.E.), dos íons metálicos Mg, Ca e K nas amostras M1 e M6 sugere que foram formados produtos mais avançados da reação de Maillard (ALMEIDA e BENASSI, 2011).

Outro aspecto a ser ressaltado é que os teores de cinzas são influenciados por metais como Mg, Ca e K, os quais podem afetar o grau de escurecimento não enzimático sugerindo que essas amostras de melado de cana podem ter sido aquecidas em temperaturas mais elevadas ou por longos períodos de tempo. Observou-se também correlações inversas entre o grau de escurecimento não enzimático (GENE) e os teores de açúcares redutores (A.R.) e °Brix indicando que melanoidinas podem ter sido formadas a partir da sacarose e dos açúcares redutores (OETTERER, REGITANO-D'ARCE e SPOTO, 2006).



(a)



(b)

**Figura 6.2.** Pesos (a) e escores (b) da primeira e segunda componentes principais para as amostras de melado de cana de diferentes fabricantes e lotes.

A amostra M3 localizada no quadrante positivo de X e negativo de Y, apresentou os maiores teores de HMF, de acidez e de açúcares redutores e o menor valor de pH e menores teores dos íons metálicos Na, Zn, Fe. Geralmente a formação de HMF, que é um intermediário na reação de Maillard, em alimentos com altos teores de carboidratos está relacionada a concentrações elevadas de açúcares redutores em meio ácido, presença de íons metálicos, aplicação de altas temperaturas durante o processamento ou estocagem e longos períodos de armazenamento (ANAM e DART, 1995; SPANO et al., 2006; KHALIL, SULAIMAN e

GAN 2010; BELITZ et al., 2009). Íons metálicos como Zn, Mg, Fe contribuem para a formação de HMF agindo como catalisadores na degradação de açúcares simples em presença de ácidos como o ácido glucônico, especialmente em altas temperaturas (ANAM e DART, 1995). Neste estudo também se observou que na PC1 o HMF é inversamente proporcional ao grau de escurecimento não enzimático (GENE) para as amostras de melado e melaço de cana analisadas (Figura 6.1). Sugere-se então que o GENE esteja relacionado com o avanço na reação de Maillard, visto que o HMF (coloração amarela) é um intermediário da reação, possibilitando a conversão deste contaminante para obtenção dos produtos finais da reação, como as melanoidinas (pigmentos de coloração castanha) o que resultará em um aumento no grau de escurecimento não enzimático (OETTERER, REGITANO-D'ARCE e SPOTO, 2006).

A amostra M4 é caracterizada pelos teores elevados dos íons metálicos Zn, Fe e Na e baixos valores de pH. Os valores de pH podem indicar qual foi a forma de inversão da sacarose utilizada na produção do melado de cana (com o uso de ácido ou de enzima). Melados invertidos com enzimas apresentarão pH próximo do pH natural do caldo de cana (pH = 5,5) enquanto que a inversão com o uso de ácido apresentará pH próximo de 3,0 (SILVA, 2012). Dentre as amostras analisadas, somente a amostra M5 descrevia em seu rótulo a utilização do ácido cítrico e seu pH foi de 4,3. Para as amostras M1, M4 e M6 foram obtidos valores de pH próximos de 5,0 sugerindo uma inversão por enzima e as amostras M2 e M3 mostraram valores de pH mais ácidos (pH < 4,0) sugerindo uma inversão ácida. As amostras M2 e M4 apresentaram valores de açúcares redutores mais baixos em relação às demais amostras, enquanto que as amostras M2 e M5 foram separadas pelos valores elevados de °Brix. A quantidade de açúcares redutores pode variar no melado de cana em virtude de alguns fatores tais como: o grau de maturação da cana, o grau de inversão durante a produção do melado e o grau de escurecimento não enzimático. Outro fator que influencia na quantidade de açúcares redutores é a inversão da sacarose durante o processo de produção do melado. A utilização de altas temperaturas e de cana madura resultará em menores valores de açúcares redutores e maior valor de °Brix (MINGUETI, 2012).

## **6.2 Otimização e Validação da Termogravimetria para a Determinação de Água em Melado de Cana**

### **6.2.1 Materiais**

Para o estudo de otimização da metodologia termogravimétrica foi escolhida a amostra de melado codificada como M1 e empregaram-se discos de papel de fibra de vidro (Celm) de aproximadamente 5,0 mm de diâmetro. Para o estudo de validação foram utilizadas todas as amostras de melado de cana (M1 a M6) descritas no capítulo 4, item 4.2.

### **6.2.2 Métodos**

#### **6.2.2.1 Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTA)**

As curvas TG/DTA das amostras de melado de cana foram obtidas em um sistema simultâneo TG/DTA da Seiko, modelo Exstar 6000 series, sob atmosfera dinâmica de ar sintético ( $50 \text{ mL min}^{-1}$ ), massas de amostra de aproximadamente 5,0 mg, porta amostra de alumina ( $50 \mu\text{L}$ ) para a amostra e referência até a temperatura final de  $250 \text{ }^\circ\text{C}$  localizado no Laboratório Multiusuário do CIMPE do Campus Cedeteg na UNICENTRO. O forno do TG/DTA foi pré-equilibrado a temperatura ambiente e cada amostra foi pesada rapidamente para minimizar a absorção ou liberação de umidade. Como referência inerte utilizou-se um disco de papel de fibra de vidro (Celm) com diâmetro aproximado de 5,0 mm. Os outros parâmetros experimentais foram definidos de acordo com os níveis do planejamento fatorial apresentados na Tabela 6.3. As curvas TG/DTA foram realizadas em duplicata.

#### **6.2.2.2 Determinação de Água por Titulação de Karl Fischer**

O teor de água foi determinado por uma titulação volumétrica de Karl Fischer com um titulador Q349-1 da Quimis, utilizando reagente de Karl Fischer sem piridina (Biotec, Brasil) e metanol anidro (JT Baker, EUA), de acordo com método 014/IV dos Métodos Físico-Químicos para a Análise de Alimentos (IAL, 2008). Todas as medidas foram realizadas em duplicata.

### 6.2.2.3 Otimização do Método Termogravimétrico por Planejamento Fatorial

Para a otimização do método termogravimétrico foi aplicado um fatorial  $2^2$  para investigar a influência das variáveis taxa de aquecimento e papel de fibra de vidro nos teores de água de melado de cana. As curvas TG/DTG e DTA foram obtidas em duplicata e em ordem aleatória para todas as combinações dos níveis das variáveis apresentadas na Tabela 6.3.

**Tabela 6.3.** Variáveis e níveis do planejamento fatorial  $2^2$  para a determinação termogravimétrica do teor de água em melado de cana.

Variáveis	Nível (-)	Nível (+)
Razão de aquecimento	5°C min <sup>-1</sup>	10°C min <sup>-1</sup>
Papel de fibra de vidro	sem	com

Os efeitos das variáveis do planejamento fatorial foram calculados por:

$$E_f = (\bar{R}_+) - (\bar{R}_-)$$

em que  $(\bar{R}_+)$  e  $(\bar{R}_-)$  são as diferenças das médias dos níveis (+) e (-), respectivamente das variáveis envolvidas.

Os efeitos das variáveis nos teores de água da amostra de melado de cana (M1) foram testados para a significância estatística no nível de 95,0 % pelo cálculo do erro padrão e pelo teste-*t*. A análise estatística dos dados do planejamento fatorial foi realizada empregando-se o software “*Minitab for Windows v.16*”.

### 6.2.2.4 Validação do Método Termogravimétrico

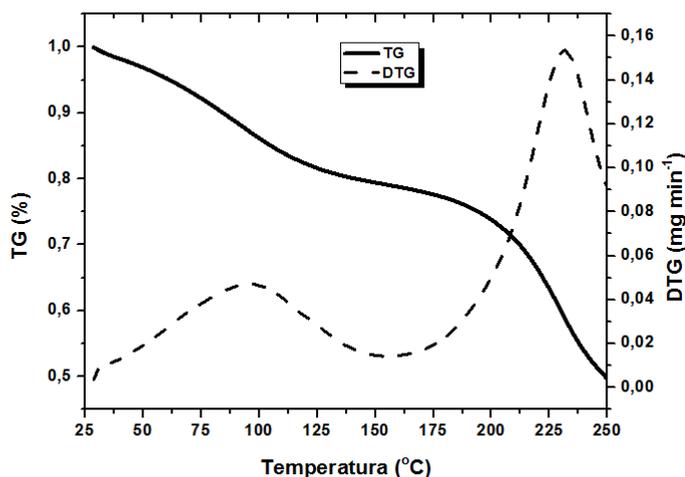
Para o estudo de validação foram calculados dois parâmetros: precisão e exatidão. Ambos foram determinados através da comparação do método termogravimétrico desenvolvido com o método de titulação de Karl Fischer (método de referência). Para avaliar a precisão da termogravimetria foi realizada uma comparação entre as variâncias ponderadas ( $S_p^2$ ) de cada um dos métodos analíticos através da aplicação de um teste-*F* adequado, e pelo cálculo do intervalo de confiança para a razão entre variâncias e intervalo de confiança para os desvios padrão ponderados ( $S_p$ ) no nível de confiança de 95 %. Para avaliar a exatidão da termogravimetria foi aplicado: um teste-*t* pareado para as diferenças médias nos

teores de água obtidos para os métodos analíticos. Toda a análise estatística foi realizada utilizando o software estatístico "Minitab for Windows v.16".

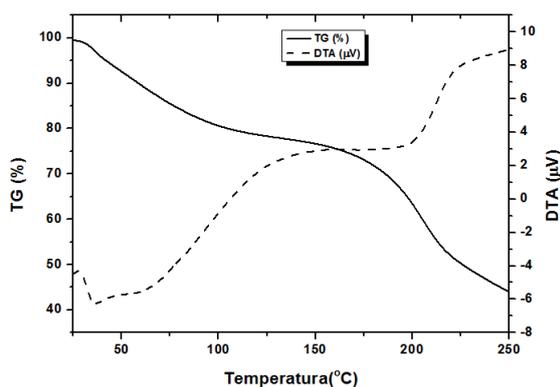
## 6.2.3 Resultados e Discussão

### 6.2.3.1 Perfil termogravimétrico de secagem

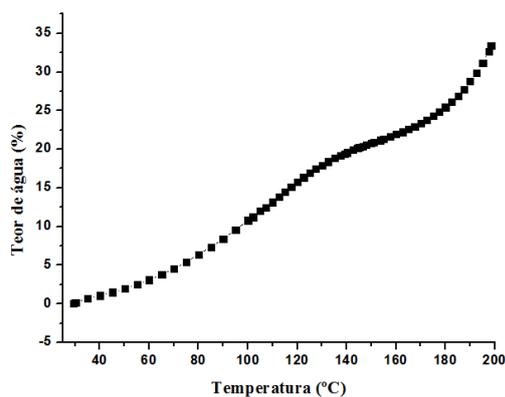
Nas curvas TG/DTG da amostra de melado, M1, utilizada no estudo de otimização da metodologia termogravimétrica, entre 25 °C e 250 °C, observou-se um evento de perda de massa que foi atribuída a eliminação de água e o início das reações de decomposição dos carboidratos e outros componentes da matriz (Figura 6.3). Na curva DTG observa-se que a desidratação ocorre com maior velocidade a 100 °C e finaliza próximo de 170 °C. Na curva DTA (Figura 6.4 a) foi observado um evento endotérmico bem amplo entre 25 e 130 °C que demonstra que o melado de cana tem uma fração de água fracamente ligada aos seus componentes. Para melhor visualizar as perdas das diferentes frações de água presentes na amostra de melado de cana (M1) foi construído um gráfico de secagem termogravimétrica traçando-se os teores de água versus a temperatura de secagem (Figura 6.4 b).



**Figura 6.3.** Perfil de secagem termogravimétrica da amostra de melado de cana (M1).



(a)



(b)

**Figura 6.4.** (a) Curvas TG e DTA da amostra de melado de cana (M1) analisada no estudo de otimização (b) Curva de secagem termogravimétrica. (Porta amostra de alumina, papel de fibra de vidro, atmosfera dinâmica de ar, massa de 5,0 mg, razão de aquecimento  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e vazão de gás a  $50\text{ mL min}^{-1}$ ).

Na Figura 6.4 (b), três perdas de massa foram detectadas, sugerindo que a água presente no melado de cana está ligada aos demais componentes (açúcares, ácido e minerais) de diferentes formas. A perda de massa entre  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  foi atribuída à água livre, presente na superfície da matriz, facilmente removível. A perda de massa entre  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$  indica a água fortemente ligada à matriz do alimento a qual depende de uma temperatura mais elevada para ser removida. Entre  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $170\text{ }^{\circ}\text{C}$  foi observada uma perda de massa que foi atribuída à água da monocamada. Acima de  $170\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a rápida perda de massa é atribuída aos produtos voláteis da degradação dos açúcares presentes nessa matriz, como sacarose, frutose e glicose. O comportamento sigmoide observado é muito similar ao determinado nas isotermas de dessorção para alimentos ricos em açúcar (MATHLOUTHI, 2001; ROSS et al., 2013; ORSI, 1973; DUCAT et al., 2015).

Os teores de água das outras amostras de melado de cana (M2 a M6) analisadas por termogravimetria durante o estudo de validação foram determinadas do mesmo modo e apresentaram comportamento térmico similar. Porém, a temperatura final de secagem (TFS) mostrou-se diferente entre as amostras avaliadas (120-147 °C). Como já observado para o açúcar mascavo no capítulo 5, item 5.1.2, a presença de impurezas de diversos tipos e em quantidades variáveis podem acelerar a degradação dos açúcares presentes no melado de cana (sacarose, frutose e glicose) (ROSS et al., 2013; LEE et al., 2011; EGGLESTON et al., 1996; EGGLESTON e VERCELLOTTI, 2000). Para avaliar como a composição físico-química das amostras de melado de cana pode afetar a TFS foram realizadas análises de correlação considerando todas as amostras (M1 a M6) e os parâmetros físico-químicos apresentadas nas Tabelas 6.1 e 6.2.

Uma correlação linear positiva significativa entre a temperatura final de secagem (TFS) e o pH ( $r = 0,647$ ;  $p = 0,023$ ) foi observada indicando que as amostras com pH maiores, mostraram as maiores temperaturas finais de secagem. Foi observada também uma correlação linear negativa significativa entre os valores de acidez e as temperaturas finais de secagem ( $r = - 0,648$ ;  $p = 0,023$ ). Isso sugere que altos teores de ácidos provenientes da matéria prima (cana de açúcar) ou dos produtos da degradação ácida da sacarose formados durante o processo de fabricação do melado de cana (EGGLESTON e VERCELLOTTI, 2000) em algumas amostras podem acelerar a degradação e conseqüentemente reduzir as temperaturas finais de secagem. Além disso, uma correlação linear negativa entre a TFS e o teor de HMF foi verificada ( $r = - 0,590$ ;  $p = 0,044$ ) indicando que os produtos de degradação da reação de Maillard influenciam também nas temperaturas finais de secagem de amostras de melado de cana. O HMF é um contaminante que tem seus níveis aumentados quando o alimento é submetido a processos térmicos severos (ASKAR, 1948; BATH e SINGH, 1999; FALLICO et al., 2004; KHALIL, SULAIMAN e GAN, 2010). Na presença de uma solução aquosa, o primeiro passo na decomposição térmica da sacarose é o fracionamento da ligação glicosídica produzindo os açúcares glicose e frutose que formam HMF em reações de desidratação (LEE et al., 2011; ROSS et al., 2013). Com relação aos íons metálicos e a TFS observou-se duas correlações lineares negativas importantes, uma entre a TFS e o Fe ( $r = - 0,603$ ;  $p = 0,038$ ) e outra da TFS com Na ( $r = - 0,562$ ;  $p = 0,057$ ).

Eggleston et al., (1996) estudaram o efeito de sais na degradação térmica de soluções concentradas de sacarose e observaram que íons como K, Na e Ca aumentam a degradação inicial da sacarose. O íon metálico  $Fe^{2+}$  atua como catalisador em reações secundárias de escurecimento dos açúcares, através de reações químicas com compostos fenólicos por ação das enzimas fenoloxidasas formando quinonas, o que pode levar a um aumento de cor do produto final (OLIVEIRA, ESQUIAVETO e SILVA JÚNIOR, 2007; BETTANI et al., 2014).

### 6.2.3.2 Estudo de Otimização do Método Termogravimétrico

Para a otimização do método termogravimétrico foi aplicado um planejamento fatorial  $2^2$  para investigar a influência da razão de aquecimento e do uso de papel de fibra de vidro nos teores de água de melado de cana. As oito curvas TG/DTA obtidas no planejamento fatorial mostraram um perfil de secagem termogravimétrico semelhante para a etapa de eliminação de água. Os resultados do planejamento fatorial e os efeitos calculados estão apresentados nas Tabelas 6.4 e 6.5.

**Tabela 6.4.** Planejamento fatorial  $2^2$  para a análise dos teores de água nas amostras de melado de cana por termogravimetria.

Ensaio	Razão de aquecimento ( $^{\circ}C\ min^{-1}$ )	Papel de fibra de vidro	Teor médio de água (g/100g) $\pm$ DP*
TG1	5	sem	21,78 $\pm$ 0,13
TG2	10	sem	16,30 $\pm$ 0,42
TG3	5	com	20,57 $\pm$ 0,09
TG4	10	com	22,68 $\pm$ 0,05

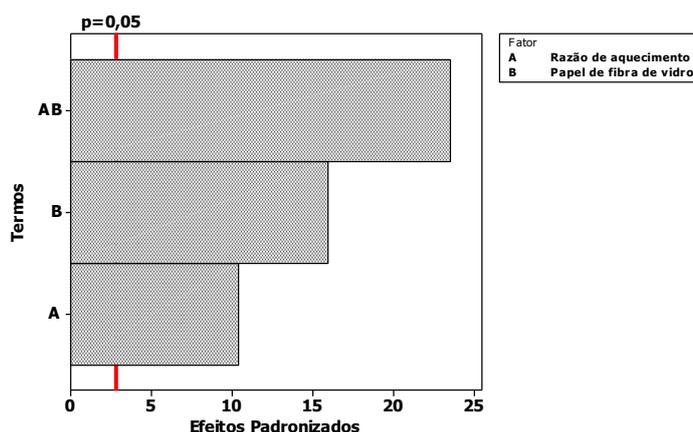
\* desvios padrão calculados a partir de duplicatas das curvas TG/DTA

**Tabela 6.5.** Efeitos e seus erros padrão calculados para os teores de água nas amostras de melado de cana por termogravimetria para o planejamento fatorial 2<sup>2</sup>.

Efeitos	Estimativas ± Erro Padrão*
<b>Média global</b>	20,34 ± 0,04
<b>Efeitos principais:</b> Razão de aquecimento (1) Papel de fibra de vidro (2)	-1,67 ± 0,08 2,57 ± 0,08
<b>Efeito da interação de dois fatores: (1) x (2)</b>	3,78 ± 0,08

\* erro padrão calculado a partir de duplicatas das curvas TG/DTA

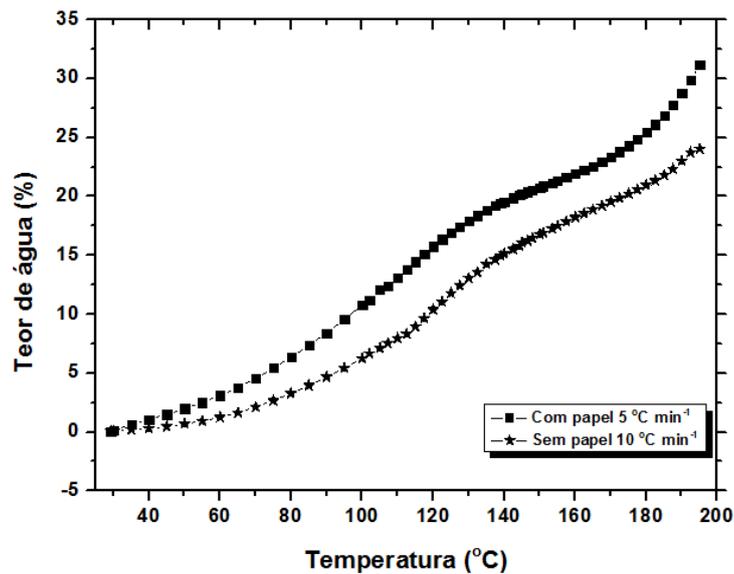
A partir da análise do teste-*t* a 95,0 % de confiança, as variáveis do planejamento fatorial (razão de aquecimento e papel de fibra de vidro) foram consideradas significativas e um efeito de interação importante foi observado entre elas (Tabela 6.5, Figura 6.5), indicando que estas variáveis não podem ser otimizadas independentemente. O efeito de interação significativo entre as variáveis (razão de aquecimento e papel de fibra de vidro) pode ser explicado mais facilmente pela inclinação das linhas ilustradas na Figura 6.6.



**Figura 6.5.** Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados do planejamento fatorial no nível de 95,0 % de confiança.

A mudança no nível da variável razão de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup> para 10 °C min<sup>-1</sup>, resultou em uma diminuição de 1,67 % nos teores médios de água do

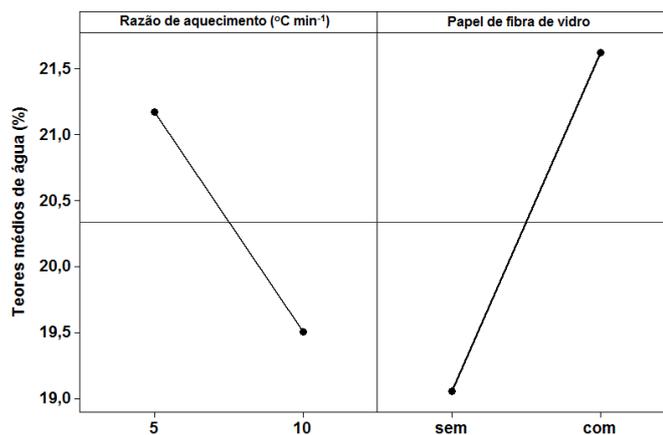
melado de cana (Tabela 6.5 e Figura 6.5). O efeito negativo da razão de aquecimento sugere que o uso de razões de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  em termogravimetria resulta em teores médios de água menores do que aqueles obtidos com razões de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  (Figura 6.6 e 6.7). Razões de aquecimento altas podem resultar em distribuição não uniforme de temperatura na amostra o que conduz a eliminação incompleta de água. Isto é consequência da contração resultante da liberação de umidade. Uma das possíveis causas da contração é o *case hardening* (formação de uma película dura e quase impermeável na superfície do produto), particularmente comum em alimentos com altas concentrações de açúcares dissolvidos e outros solutos. Os solutos movem-se do centro para a superfície do produto juntamente com a água; na superfície a água evapora e os solutos se depositam, fechando os poros. A combinação da contração com o fechamento dos poros impede a migração da maior parte da umidade remanescente no seu interior, resultando em secagem não uniforme e na queda das velocidades de secagem. Podem ocorrer também juntamente com a desidratação reações de escurecimento, particularmente a reação de Maillard e de caramelização e a perda de compostos voláteis (VILLADIEGO et al., 2012). Em vista desses resultados, sugere-se que razões de aquecimento mais baixas sejam mais adequadas e já necessárias para a eliminação de água nesse alimento, minimizando as chances de introdução de erros sistemáticos neste tipo de determinação.



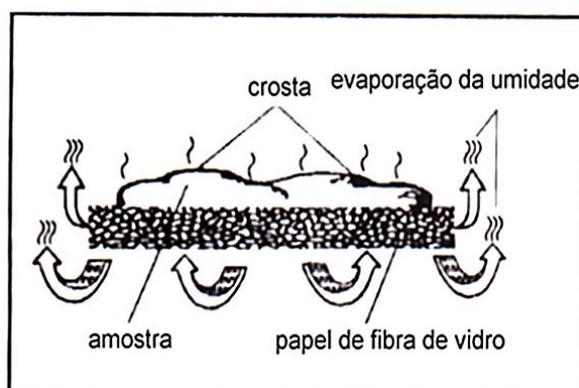
**Figura 6.6.** Curvas de secagem termogravimétricas extraídas das curvas TG/DTA. O teor de água determinado por titulação de Karl Fischer na amostra de melado de cana (M1) foi de 20,52 %.

Normalmente o papel de fibra de vidro já vem sendo empregado por outros métodos de secagem, tais como a secagem por radiação infravermelha e secagem por radiação de micro-ondas e menos frequentemente em termogravimetria (HEINZE e ISENGARD, 2001; KNOCHEL, DASCHNER e TAUTE, 2001; FELSNER, 2001).

A aplicação inédita do papel de fibra de vidro nos experimentos termogravimétricos realizados nesse trabalho resultou em um aumento de 2,57 % nos teores de água. Isso indica que o papel de fibra de vidro melhora a transferência de calor durante a secagem termogravimétrica, pois permite uma distribuição uniforme da amostra em seus capilares reduzindo o efeito de *case hardening*, facilitando assim a eliminação da água (Figura 6.8). O efeito do papel de fibra de vidro (Tabela 6.5) na determinação termogravimétrica de água produziu teores de água mais elevados do que os obtidos sem a sua utilização. Amostras ricas em açúcar como o melado de cana tendem a formar uma crosta quando aquecidas (Figura 6.8) o que dificulta a eliminação de água. O papel atua como uma esponja, promovendo uma distribuição uniforme da amostra nos capilares; isto permite que a superfície respire e evita a formação de crosta, a qual pode interferir na análise (NIELSEN, 1994).



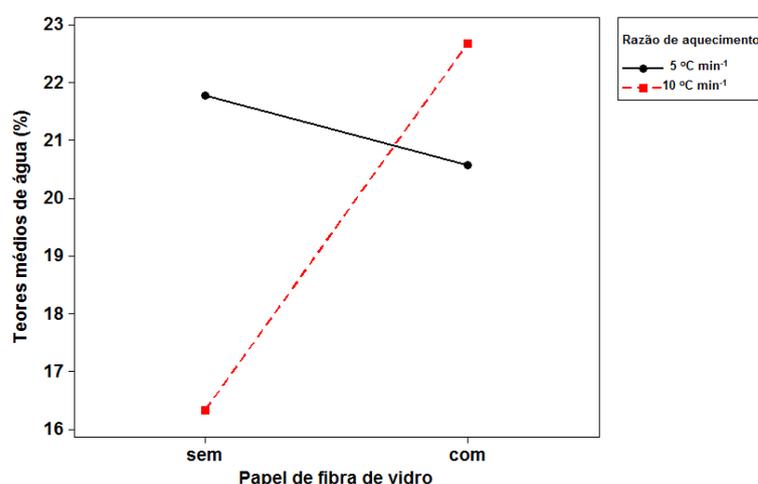
**Figura 6.7.** Gráfico dos efeitos principais do planejamento fatorial para a otimização do método termogravimétrico para análise do teor água em melado de cana.



**Figura 6.8.** Diagrama esquemático da ação do papel de fibra de vidro na secagem de amostras ricas em açúcar (Fonte: FELSNER et al., 2004)

Foi observado também um efeito de interação significativo entre a razão de aquecimento e o papel de fibra de vidro, o qual é ilustrado na Figura 6.9. Sem o uso de papel de fibra de vidro observa-se um comportamento distinto em relação às razões de aquecimento investigadas (5 e 10 ° C min<sup>-1</sup>). Quando se utiliza a razão de aquecimento de 10 ° C min<sup>-1</sup> os teores de água da amostra de melado de cana são mais baixos do que quando se emprega a razão de aquecimento de 5 ° C min<sup>-1</sup>. Em razões de aquecimento mais altas a transferência de calor é mais rápida, promovendo um aquecimento maior das camadas superficiais do alimento, o que favorece a formação de crosta que impede a eliminação completa de água. Em razões de aquecimento mais baixas a transferência de calor da superfície para o

interior do alimento ocorre de forma gradual permitindo a saída da água. No entanto, como a transferência de calor ocorre por condução, isto é, da superfície para o interior ainda há a formação de crosta e juntamente com a água são liberados voláteis decorrentes de reações de degradação. Com o uso do papel de fibra de vidro a transferência de calor entre o porta amostra e o alimento se torna mais gradual independente da razão de aquecimento pois a amostra fica distribuída em seus capilares. No entanto, em razões de aquecimento mais altas as reações de degradação do melado de cana são favorecidas resultando em teores mais elevados de água.



**Figura 6.9.** Gráfico de interação entre a razão de aquecimento e o papel de fibra de vidro.

Os resultados do planejamento fatorial sugerem que as melhores condições para a determinação termogravimétrica de água no melado de cana são aquelas do experimento TG3 descrito na Tabela 6.4. Para confirmar esta hipótese foi realizada uma análise de água pelo método de titulação de Karl Fischer (método de referência) e aplicado um teste-*t* no nível de 95,0 % de confiança. A análise do teste-*t* ( $t_{obs} = 0,59$ ;  $p = 0,617$ ) indicou que não há diferenças significativas entre os teores de água da amostra de melado de cana (M1) determinados pelos dois métodos analíticos. Assim, as condições ótimas para a análise termogravimétrica foram: razão de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup>, porta amostra de alumina, papel de fibra de vidro, atmosfera dinâmica de ar de 50 mL min<sup>-1</sup> e massas de 5,0 mg.

### 6.2.3.3 Validação do Método Termogravimétrico

A validação da metodologia analítica foi realizada através da comparação dos teores de água obtidos para diferentes amostras de melado de cana pelo método termogravimétrico proposto e pela titulação de Karl Fischer (Tabela 6.6). A exatidão do método termogravimétrico foi avaliada através de um teste-*t* pareado no nível de 95,0 % de confiança, para as diferenças entre as médias dos teores de água determinados pelos dois métodos analíticos, termogravimetria e titulação de Karl Fischer para as amostras de melado investigadas neste estudo. Os resultados deste teste estatístico ( $t_{obs} = - 0,66$ ;  $p = 0,523$ ) sugerem que não existem diferenças significativas nos teores de água obtidos pelos dois métodos analíticos para esta matriz. Portanto, o método termogravimétrico apresenta exatidão adequada para a análise de água em melado de cana.

**Tabela 6.6.** Teores médios de água e desvios padrão determinados por termogravimetria e pela titulação de Karl Fischer para as amostras de melado de cana.

Amostras	Teores de água (g/100g) ± DP*	
	Karl Fischer	TG/DTA
M1	20,52±0,08	20,57±0,09
M2	18,60±0,04	18,58±0,08
M3	14,01±0,06	14,03±0,06
M4	17,41±0,02	17,35 ±0,08
M5	16,73±0,06	17,71±0,06
M6	18,83±0,09	18,78±0,10

\*Desvios padrão calculados a partir de duplicatas de cada amostra para cada método analítico

Para avaliar a precisão do método termogravimétrico foi aplicado um teste-*F* que considera a razão entre as variâncias dos métodos termogravimétrico e a titulação de Karl Fischer. Calcularam-se os intervalos de confiança para a razão entre as variâncias e para os desvios padrão ponderados no intervalo de 95,0 % de confiança. A análise do teste-*F* ( $F_{obs} = 1,28$ ;  $p = 0,685$ ) sugere que a

termogravimetria e o método de titulação de Karl Fischer possuem precisão similar para a determinação dos teores de água em amostras de melado de cana. Esses resultados são confirmados pelo cálculo do intervalo de confiança para a razão entre as variâncias (0,370 – 4,461), o qual apresentam limite inferior menor que 1,0. Este fato indica que não existem diferenças significativas de precisão entre o método termogravimétrico otimizado com relação à titulação de Karl Fischer (método de referência). Os resultados dos testes estatísticos aplicados confirmam que a técnica termogravimétrica desenvolvida tem precisão adequada para a determinação de água em amostras de melado de cana.

### **6.3 Aplicação da Termogravimetria em Modo Isotérmico para o Desenvolvimento de um Novo Método de Secagem em Estufa para Melado de Cana**

Como já descrito anteriormente, a determinação de umidade em alimentos contendo altos teores de açúcares é normalmente realizada por secagem em estufa à vácuo, em que a temperatura de secagem é reduzida pela aplicação de vácuo a 60 ou 70 °C como uma alternativa para minimizar o impacto de reações de decomposição nos resultados. No entanto, este é um método relativamente demorado (tempo de análise > 6,0 h) e que não garante que toda a água contida no alimento será removida (CECCHI, 1999; NIELSEN, 1994).

A termogravimetria quando realizada nos modos dinâmico e isotérmico permite determinar qual a melhor relação de temperatura e tempo de secagem, o que pode facilitar o desenvolvimento de um método de secagem em estufa convencional. Com este objetivo neste trabalho foram realizadas curvas termogravimétricas isotérmicas nas temperaturas de 70 e 105 °C nas condições otimizadas no item 6.2.2.

#### **6.3.1 Metodologia**

##### **6.3.1.1 Amostras**

Para o estudo de otimização da metodologia para secagem em estufa convencional foi escolhida a amostra de melado codificada como M1 e empregaram-

se discos de papel de fibra de vidro de aproximadamente 70,0 mm de diâmetro e cápsulas de alumínio com tampa com diâmetro de 70,0 mm. Para o estudo de validação foram utilizadas todas as amostras de melado de cana (M1 a M6) descritas no capítulo 4, item 4.2.

### **6.3.1.2 Métodos**

#### **6.3.1.2.1 Termogravimetria no Modo Isotérmico**

A análise termogravimétrica no modo isotérmico foi realizada utilizando-se um sistema simultâneo TG/DTA da Seiko, modelo Exstar 6000 series localizado no Laboratório Multiusuário do CIMPE, no Campus Cedeteg da Unicentro. Os ensaios termogravimétricos isotérmicos foram realizados em temperaturas de 70 °C e 105 °C até 240 minutos, com razão de aquecimento de 25 °C min<sup>-1</sup> até alcançar-se a temperatura da isoterma (70 e 105 °C). As curvas foram obtidas em atmosfera dinâmica de ar, com massas de amostra de aproximadamente 5,0 mg, porta amostra de alumina (50 µL) em discos de papel de fibra de vidro (Celm) de diâmetro igual a 5,0 mm. Os outros parâmetros experimentais foram definidos de acordo com os níveis do planejamento fatorial apresentados na Tabela 6.3 mostrada no item 6.2.2.3.

#### **6.3.1.2.2 Secagem em Estufa Convencional**

A secagem em estufa convencional foi realizada em uma estufa Odontobrás 1.4 localizada no Laboratório do Grupo de Análises de Traços e Instrumentação (LabGati) da Unicentro. Utilizaram-se cápsulas de alumínio de 70,0 mm de diâmetro com a inserção do papel de fibra de vidro (Celm) de igual diâmetro, por um período de 90 minutos a temperatura de 70 °C e massas de aproximadamente 1,0 g. Essas condições de análise foram previamente otimizadas pela aplicação de planejamento fatorial descrito no item 6.3.1.2.3.

#### **6.3.1.2.3 Otimização do Método de Secagem em Estufa Convencional por Planejamento Fatorial**

Para o estudo de otimização da metodologia de secagem em estufa convencional foi aplicado um planejamento fatorial 2<sup>3</sup> para investigar a influência das

variáveis temperatura (70 e 105 °C), tempo (90 e 150 min) e papel de fibra de vidro (sem e com) nos teores de umidade a 95,0 % de confiança (Tabela 6.7).

**Tabela 6.7.** Variáveis e níveis do planejamento fatorial  $2^3$  para a determinação de umidade em melado de cana por secagem em estufa convencional.

Variáveis	Nível (-)	Nível (+)
Temperatura	70 °C	105 °C
Tempo	90 minutos	150 minutos
Papel de fibra de vidro	sem	com

A significância dos efeitos foi verificada pela análise do erro padrão e pelo gráfico de Pareto. A análise estatística de todos os dados foi realizada utilizando-se o software estatístico *Minitab for Windows versão 16*.

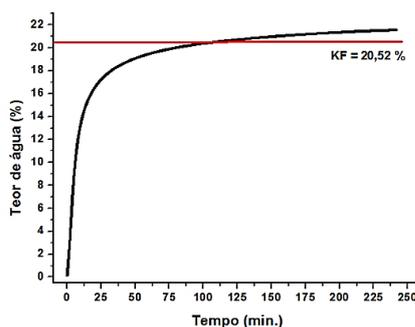
#### 6.3.1.2.4 Validação do Método de Secagem em Estufa Convencional

Para o estudo de validação do método de secagem em estufa convencional foram calculados dois parâmetros: exatidão e precisão de acordo com as diretrizes da AOAC (WERMIMONT, 1985). Ambos foram determinados através da comparação do método desenvolvido para secagem em estufa convencional com o método de titulação de Karl Fischer, que neste trabalho foi adotado como método referência. Para avaliar a exatidão da secagem em estufa convencional foi aplicado um teste-*t* pareado para as diferenças médias dos teores de água/umidade obtidos para os dois métodos analíticos (BARROS NETO, SCARMINO e BRUNS, 2010; MILLER e MILLER, 1993; WERNIMONT, 1985). Para avaliar a precisão do método desenvolvido as variâncias ponderadas ( $S_p^2$ ) de cada um dos métodos analíticos foram comparadas pela aplicação de um teste-*F* apropriado e pelo cálculo de intervalos de confiança para a razão entre as variâncias e para os desvios padrão ponderados ( $S_p$ ). Todas as análises estatísticas foram realizadas a 95,0 % de confiança usando o software *Minitab for Windows v.16*.

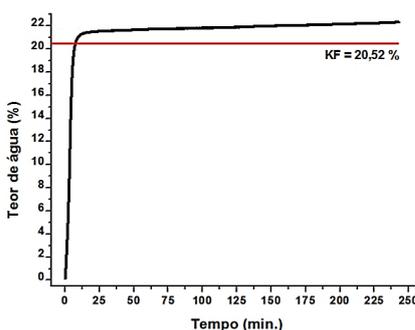
## 6.3.2 Resultados e Discussão

### 6.3.2.1 Termogravimetria em Modo Isotérmico

A amostra de melado de cana (M1) empregada para a otimização do método termogravimétrico em modo dinâmico (item 6.2.3.2) foi utilizada também para o estudo de otimização de um método de secagem em estufa convencional, fazendo uso de dados da termogravimetria em modo isotérmico. Na Figura 6.10 são ilustradas as curvas termogravimétricas obtidas para esta amostra de melado de cana nas temperaturas de 70 e 105 °C. Essas temperaturas foram escolhidas por se tratarem das temperaturas geralmente utilizadas nos métodos de secagem em estufa à vácuo e convencional, respectivamente, para a análise desse parâmetro físico-químico (IAL, 2008).



(a)



(b)

**Figura 6.10.** Curvas TG no modo isotérmico da amostra M1 realizadas em temperaturas de (a) 70 °C e (b) 105 °C por 240 minutos em atmosfera dinâmica de ar, massas de 5,0 mg, porta amostra de alumina e papel de fibra de vidro. A linha vermelha representa o teor de água determinado pelo método de titulação de Karl Fischer (método de referência) para a amostra M1.

A análise das curvas TG isotérmicas (Figura 6.10) indica uma forte influência da temperatura de secagem na remoção completa da água da amostra de melado de cana (M1). Observa-se que na temperatura de 105 °C são obtidos teores de umidade mais altos (21,80 %) do que os determinados pela titulação de Karl Fischer (20,52 %) quando as perdas de massa se tornam aproximadamente constantes em 180 minutos. Outro resultado interessante que pode ser visualizado na Figura 6.9 b, é que os teores de umidade já ultrapassaram o valor determinado pelo método de referência antes de se atingir a temperatura isotérmica. Este comportamento pode ser explicado pelo fato de que em temperaturas mais elevadas pode ocorrer a formação de crosta e as reações de degradação deste alimento são favorecidas, introduzindo erros sistemáticos neste tipo de determinação. Por outro lado, as curvas isotérmicas realizadas a 70 °C (Figura 6.10-a) mostraram que em torno de 90 minutos de aquecimento são obtidos teores de umidade (20,47 %) comparáveis aos da titulação de Karl Fischer (20,52 %) para a amostra M1. Porém, tempos mais longos de aquecimento nesta temperatura podem favorecer as reações de decomposição dos açúcares ou as reações de Maillard (GASPAR e LUCENA, 2009) e interferir neste tipo de determinação.

### **6.3.2.2 Otimização de um Novo Método de Secagem em Estufa**

Para otimizar um método de secagem em estufa para amostras de melado de cana considerando os resultados da análise termogravimétrica em modo isotérmico foi aplicado um planejamento fatorial  $2^3$  para determinar as melhores condições de temperatura de secagem, tempo de secagem e utilização de papel de fibra de vidro. Os resultados e os efeitos calculados são apresentados nas Tabelas 6.8 e 6.9.

**Tabela 6.8.** Planejamento fatorial 2<sup>3</sup> para a análise do teor de umidade de melado de cana por secagem em estufa convencional.

<b>Ensaio<sup>**</sup></b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo (min.)</b>	<b>Papel de fibra de vidro</b>	<b>Teor médio de umidade (g/100g) ± DP*</b>
SE1	70	90	sem	20,52 ± 0,16
SE2	105	90	sem	22,36 ± 0,03
SE3	70	150	sem	21,16 ± 0,40
SE4	105	150	sem	24,27 ± 0,06
SE5	70	90	com	20,65 ± 0,10
SE6	105	90	com	23,46 ± 0,60
SE7	70	150	com	21,93 ± 0,30
SE8	105	150	com	24,68 ± 0,24

\* desvios padrão calculados a partir das triplicatas dos ensaios; SE= secagem em estufa.

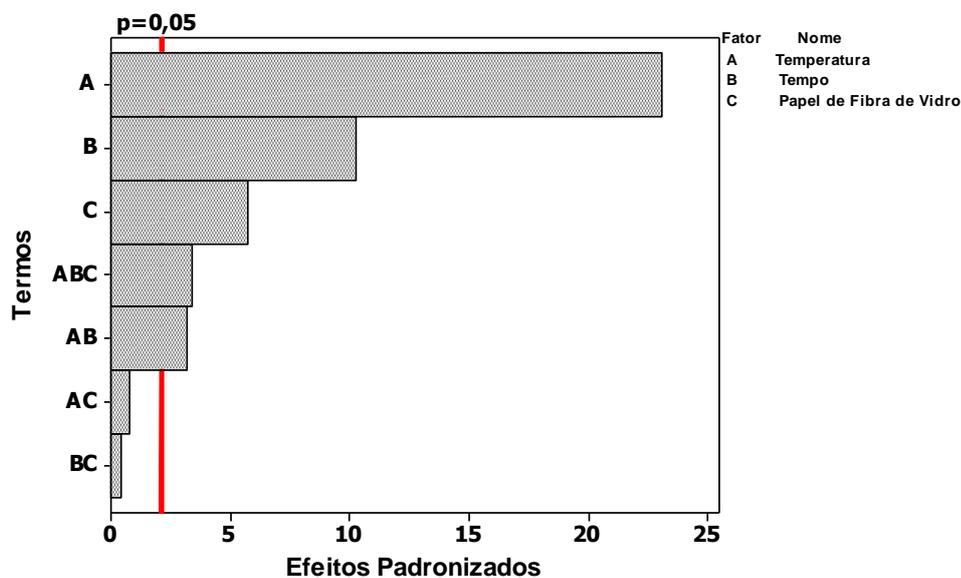
**Tabela 6.9.** Efeito e seus erros padrão calculados para o planejamento fatorial 2<sup>3</sup> para determinação de umidade em melado de cana por secagem em estufa convencional.

<b>Efeitos</b>	<b>Estimativas ± Erro padrão*</b>
<b>Média Global</b>	<i>22,35 ± 0,03</i>
<b>Efeitos principais:</b>	
Temperatura (1)	<i>2,69 ± 0,06</i>
Tempo (2)	<i>1,20 ± 0,06</i>
Papel de fibra de vidro (3)	<i>0,67 ± 0,06</i>
<b>Efeitos de interação:</b>	
(1)X (2)	<i>0,37 ± 0,06</i>
(1)X(3)	<i>0,09 ± 0,06</i>
(2)X(3)	<i>0,05 ± 0,06</i>
(1)X(2)X(3)	<i>- 0,40 ± 0,06</i>

\*Erro padrão calculado a partir das triplicatas dos ensaios de secagem em estufa.

Os resultados da análise do planejamento fatorial (Tabela 6.9, Figura 6.11) sugerem que todas as variáveis investigadas (temperatura de secagem, tempo de secagem e papel de fibra de vidro) são significativas bem como os efeitos de

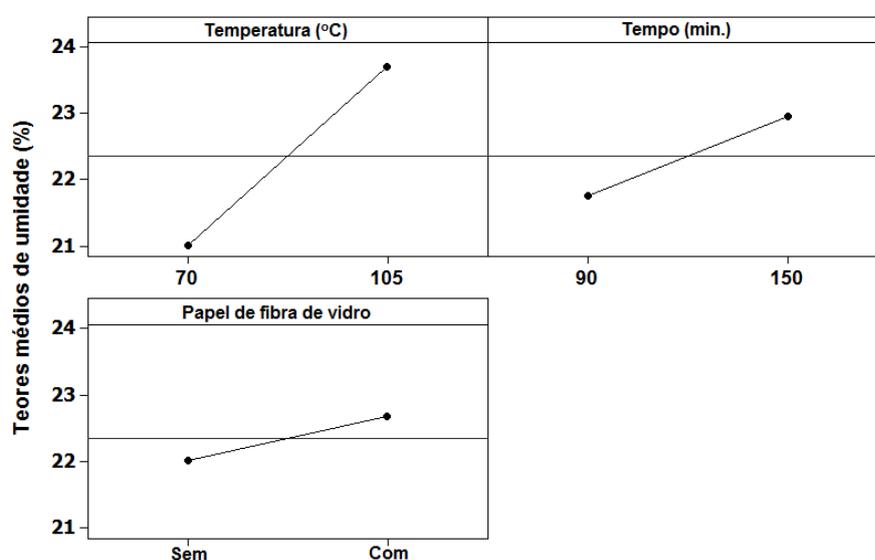
interação entre temperatura e tempo de secagem e entre temperatura, tempo e papel de fibra de vidro no nível de 95,0 % de confiança. O aumento da temperatura de secagem e do tempo de secagem bem como o uso do papel de fibra de vidro resultou em teores de umidade mais elevados. Isto sugere a liberação de voláteis oriundos da degradação dos açúcares presentes no melado de cana juntamente com a remoção de água. Estes resultados são concordantes com os obtidos no estudo termogravimétrico isotérmico (Figura 6.10).



**Figura 6.11.** Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados do planejamento fatorial no nível de 95,0 % de confiança.

A mudança da temperatura de 70 para 105 °C resultou em um aumento de 2,69 % nos teores de umidade e o aumento do tempo de secagem de 90 para 150 minutos em um aumento de 1,20 % (Tabela 6.9, Figuras 6.11, 6.12 e 6.13). O aumento da temperatura e do tempo de secagem favorecem as reações de degradação dos açúcares que inserem erros sistemáticos na análise. Um exemplo disso é a formação de HMF, um intermediário da reação de Maillard, decorrente de concentrações elevadas de açúcares redutores em meio ácido, aplicação de altas temperaturas durante o processamento ou estocagem e longos períodos de armazenamento (SPANNO et al., 2006; KHALIL, SULAIMAN e GAN 2010; BELITZ, et.al, 2009). Segundo Nielsen (1994), os açúcares iniciam sua degradação em temperaturas superiores a 100 °C, por isso os teores de umidade são elevados

quando utiliza-se a temperatura de 105 °C quando comparados aos valores obtidos a 70 °C. Além disso, com o aumento da temperatura são liberados compostos voláteis provenientes das reações de degradação de açúcares. O aquecimento prolongado de açúcares pode fazer com que a extensão das reações de degradação aumente produzindo liberação de produtos voláteis, e conseqüentemente resultando no aumento dos teores de umidade (ROSS et al.,2013; LEE et al., 2011; HURTA, PITKÄNEN E KNUUTINEN, 2004).



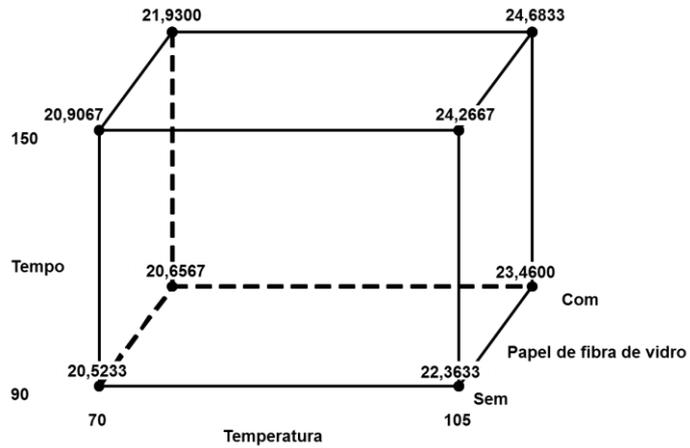
**Figura 6.12.** Gráfico dos efeitos principais do planejamento fatorial para a otimização do método de estufa para análise do teor água em melado de cana.

O uso de papel de fibra de vidro na secagem em estufa convencional proporcionou um aumento de 0,67 % nos teores de umidade da amostra de melado de cana M1 (Tabela 6.9, Figuras 6.11, 6.12 e 6.13). Pode ser visto na Figura 6.14 que sem a utilização do papel de fibra de vidro na secagem em estufa ocorre à formação de crosta. Como o filme da amostra formado na cápsula de alumínio é fino, provavelmente juntamente com a água contida na mesma também são liberados voláteis oriundos de reações de degradação. Com a utilização do papel de fibra de vidro (Figura 6.14) observa-se que a amostra está distribuída de forma homogênea no papel e que não há formação de crosta. No entanto, com o uso do papel foram obtidos teores mais elevados de umidade. Este comportamento foi diferente do determinado na termogravimetria. Isto pode ser explicado considerando-se dois

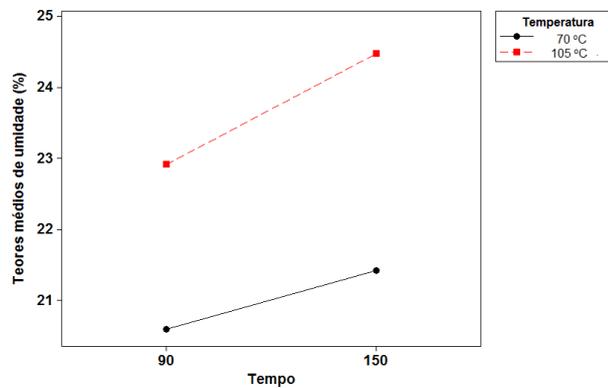
fatores distintos. Na termogravimetria faz-se uso de atmosfera dinâmica de gás que durante a etapa de desidratação remove os voláteis liberados do meio favorecendo assim a secagem da amostra. Na estufa por sua vez, não há remoção da água liberada e esta pode ser adsorvida pelo papel de fibra de vidro, que apresenta em sua composição grupos hidrofílicos como os silicatos. Outro aspecto que deve ser considerado é que com o uso do papel de fibra de vidro a transferência de calor entre a amostra e o porta-amostra é melhor do que sem a sua utilização favorecendo a secagem. Assim, os tempos e temperaturas de secagem necessitam ser otimizados para evitar que altas temperaturas ou longos tempos de exposição da amostra ao calor favoreçam as reações de degradação de açúcares como a sacarose e interfiram na análise de umidade (ROSS et al., 2013; LEE et al., 2011; HURTA, PITKÄNEN e KNUUTINEN, 2004).

Além dos efeitos principais também foram observados efeitos de interação entre a temperatura e o tempo de secagem e entre a temperatura de secagem, o tempo de secagem e o papel de fibra de vidro (Figura 6.12) o que sugere que as variáveis não podem ser otimizadas de forma independente.

A análise da Figura 6.13a sugere que temperaturas mais baixas (70°C) e menores tempos de secagem (90 minutos) são mais recomendados para a análise de umidade em melado de cana com ou sem a utilização do papel de fibra de vidro. Como pode ser observado na Figura 6.14 com o uso do papel de fibra de vidro não há formação de crosta e a transferência de calor entre a cápsula e a amostra é mais homogênea, favorecendo assim a secagem. Sem a utilização do papel de fibra de vidro ocorre o efeito de *case hardening* como já descrito anteriormente e as reações de degradação da superfície da amostra com liberação de voláteis são acentuadas (VILLADIEGO et al., 2012). Em temperaturas e tempos de secagem mais elevados (105 °C e 150 minutos) e com o uso do papel pode-se verificar teores de umidade mais elevados (Figura 6.10) o que indica que além da água contida na amostra outros voláteis decorrentes de reações de degradação estão sendo eliminados durante a secagem. Como já descrito anteriormente, o aumento da temperatura e tempo de secagem favorece a degradação dos açúcares com eliminação de voláteis juntamente com a água contida na amostra (Figura 6.13b) (ROSS et al., 2013; LEE et al., 2011; HURTA, PITKÄNEN E KNUUTINEN, 2004). Este comportamento é concordante com os resultados obtidos no estudo isotérmico.



(a)



(b)

**Figura 6.13.** (a) Gráfico de interação entre a temperatura de secagem, tempo de secagem e papel de fibra de vidro (b) Gráfico de interação entre a temperatura de secagem e o tempo de secagem.



(a)

(b)

**Figura 6.14.** Aspecto das amostras de melado de cana após secagem em estufa (a) com o uso de papel de fibra de vidro e (b) sem uso do papel de fibra de vidro, ambos a 70 °C e 90 minutos de secagem.

Quando os teores de umidade obtidos no planejamento fatorial são comparados ao valor determinado pela titulação de Karl Fischer (20,52 %  $\pm$  0,08) observa-se que as melhores condições de análise para secagem em estufa convencional são aquelas apresentadas nos experimentos SE1 e SE5 da Tabela 6.8, isto é, temperatura e tempo de secagem de 70 °C e 90 minutos respectivamente, com ou sem o emprego de papel de fibra de vidro. Como se observou uma distribuição da amostra no papel que não favorece a formação de crosta durante a secagem em estufa convencional (Figura 6.14) foram consideradas como otimizadas as seguintes condições de análise: temperatura de secagem de 70 °C, tempo de secagem de 90 minutos, massas de amostra de 1,0 g e cápsulas de alumínio com tampa contendo discos de papel de fibra de vidro de 70,0 mm de diâmetro.

### **6.3.2.3 Validação do Novo Método de Secagem em Estufa**

A validação da metodologia analítica proposta foi realizada através da comparação da medida dos teores de água/umidade entre o método de secagem em estufa convencional e a titulação de Karl Fischer (Tabela 6.10). A exatidão do método de estufa foi avaliada através de um teste-*t* pareado no nível de 95 % de confiança, para as diferenças entre os teores de água/umidade determinados pelos dois métodos analíticos. Os resultados deste teste estatístico ( $t_{obs} = - 0,33$ ;  $p = 0,747$ ) sugerem que não existem diferenças significativas nos teores de água obtidos pelos métodos analíticos para esta matriz. Assim, o novo método de secagem em estufa apresenta exatidão adequada para análise de umidade em amostras de melado de cana.

**Tabela 6.10.** Teores médios de água/umidade determinados por titulação de Karl Fischer e secagem em estufa convencional para as amostras de melado de cana.

Amostras	Teores de água/umidade (g/100g) ± DP*	
	Karl Fischer	Secagem em Estufa
<b>M1</b>	20,52 ± 0,08	20,59±0,18
<b>M2</b>	18,60 ± 0,04	18,69±0,21
<b>M3</b>	14,01±0,06	13,91±0,06
<b>M4</b>	17,41±0,02	17,29±0,26
<b>M5</b>	16,73±0,06	16,67±0,18
<b>M6</b>	18,83±0,09	18,87±0,19

\* desvios padrão calculados a partir de duplicatas dos ensaios

Para avaliar a precisão do método de secagem em estufa foi aplicado um teste-*F* que considera a razão entre as variâncias dos métodos de secagem em estufa e a titulação de Karl Fischer. Calcularam-se os intervalos de confiança para a razão entre as variâncias e os desvios padrão no intervalo de 95,0 % de confiança. A análise do teste-*F* ( $F_{obs} = 3,23$ ;  $p = 0,224$ ) sugere que a secagem em estufa e o método de Karl Fischer possuem precisão similar para a determinação dos teores de umidade em amostras de melado de cana. Esses resultados são confirmados pelo cálculo do intervalo de confiança para a razão entre as variâncias (0,453 – 23,112), o qual apresenta limite inferior menor que 1,0. Isto indica que não existem diferenças significativas de precisão entre o método de secagem em estufa otimizado com relação à titulação de Karl Fischer (método de referência). Os cálculos confirmam que a técnica de secagem em estufa convencional desenvolvida tem precisão adequada para a determinação de umidade em amostras de melado de cana.

#### 6.4 CONCLUSÃO

A análise de componentes principais mostrou que as amostras de melado de cana podem sofrer influência da composição química, principalmente dos açúcares redutores, da acidez, da condutividade elétrica bem como do processamento térmico aplicado às amostras. Este último fator torna-se importante pela necessidade de um

controle de qualidade e padronização do processo de produção do melado de cana, para garantir sua segurança alimentar e evitar possíveis fraudes.

A análise do perfil de secagem termogravimétrica sugere que o melado de cana tem um comportamento térmico complexo. Os resultados dos estudos de otimização realizados pelo planejamento fatorial sugerem que a razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e o uso de papel de fibra de vidro são mais adequados para a secagem termogravimétrica deste tipo de alimento. Essas condições fornecem uma melhor transferência de calor na amostra durante a secagem, minimizando a influência das reações de degradação na remoção da água contida no alimento e conseqüentemente o efeito de *case hardening* ou formação de crosta que inserem erros sistemáticos neste tipo de determinação.

O estudo de validação demonstrou por diferentes técnicas estatísticas que a termogravimetria mostrou exatidão e precisão adequadas para a determinação desse parâmetro físico-químico nas amostras de melado de cana, uma vez que não foram observados erros sistemáticos e aleatórios significativos.

A utilização da análise termogravimétrica para a determinação dos teores de água em melado de cana pode ser vantajosa em relação aos outros métodos, tais como a secagem em estufa a vácuo, a secagem por radiação infravermelha ou a titulação de Karl Fischer. Esta técnica de análise térmica não utiliza reagentes caros ou solventes tóxicos e ainda não faz uso de qualquer preparo de amostra, além de ser mais rápida do que a secagem em estufa a vácuo. Além disso, permite a identificação da faixa de temperaturas em que a água é eliminada e a obtenção de informações sobre a estabilidade e o perfil de degradação que podem contribuir para a otimização dos processos de produção do melado de cana.

A otimização a partir da termogravimetria isotérmica e planejamento fatorial sugeriu que é possível aplicar um método de secagem em estufa convencional para a análise de umidade em melado de cana. Os resultados do estudo de validação do novo método de secagem em estufa convencional demonstraram por técnicas estatísticas que o mesmo apresenta exatidão e precisão adequadas quando comparado ao método de titulação de Karl Fischer. Esse método de secagem em estufa é vantajoso, pois utiliza instrumentação e insumos de baixo custo e poderia ser aplicado em laboratórios de controle de qualidade, por órgãos de fiscalização ou por indústrias de pequeno porte.

## 6.5 Referências

- ALMEIDA, M. B.; BENASSII, M. de T. Atividade antioxidante e estimativa do teor de melanoidinas em cafés torrados comerciais. *Semina: Ciências Agrárias*. v. 32. p. 1893-1900. 2011.
- ANAM, O.O.; DART, R.K. Influence of Metal Ions on Hydroxymethylfurfural Formation on Honey. *Analytical Proceedings Including Analytical Communications*. v.32,p. 515-517, 1995.
- ASKAR, A. Flavour changes during production and storage of fruit juices. *Fluessiges Obst*. v. 51, p. 564–569, 1984.
- BARROS NETO, B., SCARMINO, I.S., BRUNS, R.E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria, (4th ed.), Bookman, Porto Alegre, 2010
- BATH, P.K., SINGH N. A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chemistry* v. 67. p. 389–397,1999.
- BELITZ, H.D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. Food Chemistry. 4 eds. Lichtenbergstraße: Springer, 2009.
- BETTANI, S.R.; LAGO, C.E.; FARIA, D.A.M.; BORGES, M.T.M.R.; VERRUMBERNARDI, M.R. Avaliação Físico-Química e Sensorial de Açúcares Orgânicos e Convencionais. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v. 16, p.155-162, 2014.
- CARVALHO, R. F. Beneficiamento dos derivados da cana de açúcar (melado e açúcar mascavo) 21p. (Dossiê Técnico) – Rede de Tecnologia da Bahia-RETEC/BA, Bahia, 2007.
- CECCHI, H.M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Editora da Unicamp: Campinas, 1999.
- DUCAT, G.; FELSNER, M.L.; COSTA NETO, P.R.; QUINAIA, S.P. Development and In House Validation of a New Thermogravimetric Method for Water Content Analysis in Soft Brown Sugar. *Food Chemistry*, v. 177, p.158-164, 2015.
- EGGLESTON, G., VERCELLOTTI, J.R., EDYE, L.A., CLARKE, M.A. Effects of salts in the initial thermal degradation of concentrated aqueous solutions of sucrose. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, v.15, p. 81-94, 1996.
- EGGLESTON, G., VERCELLOTTI, J.R. Degradation of sucrose, glucose and fructose in concentrated aqueous solutions under constant pH conditions at elevated temperature. *Journal of Carbohydrate Chemistry*. v.19, p. 1305-1318, 2000.
- FALLICO, B.; ZAPPALÀ, M.; ARENA, E.; VERZERA, A. Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry* v. 85. p. 305–313. 2004.

FELSNER, M.L. Caracterização de Méis Monoflorais de Eucalipto e Laranja do Estado de São Paulo por Técnicas Termoanalíticas, São Paulo, Tese de Doutorado. Instituto de Química – USP. 255p, 2001.

FELSNER; M.L.; CANO; C.B.; MATOS; J.R.; ALMEIDA-MURADIAN; L.B.; BRUNS; R.E. Optimization of Thermogravimetric Analysis of Ash Content in Honey. *Journal Brazilian Chemical Society* v. 15, p. 797-802, 2004.

GASPAR, E. M. S. M.; LUCENA, A. F. F.; Improved HPLC methodology for food control – furfurals and patulin as markers of quality. *Food Chemistry* v. 114. p. 1576–1582. 2009.

HEINZE, P. & ISENGARD, H.D. Determination of the water content in different sugar syrups by halogen drying. *Food Control*. v. 12, p. 483-486, 2001.

HURTTA, M., PITKÄNEN, I., KNUUTINEN, J. Melting behavior of d-sucrose, d-glucose and d-fructose. *Carbohydrate Research* v.339, p. 2267-2273, 2004

IAL. Instituto Adolf Lutz. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, (4<sup>a</sup> ed.). São Paulo – Brasil, 2008.

ICUMSA. International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis. England, 2005.

KHALIL, M. I.; SULAIMAN, S. A.; GAN, S. H. High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food and Chemical Toxicology*. v. 48. p. 2388–2392. 2010.

KNOCHEL, R.; DASCHNER, F.; TAUTE, W. Resonant microwave sensors for instantaneous determination of moisture in foodstuffs. *Food Control*. v. 12, p. 447-458, 2001

LEE, J.W., THOMAS, L.C, JERRELL, J., FENG, H., CADWALLADER, K.R., SCHMIDT, S.J. Investigation of thermal decomposition as the kinetic process that causes the loss of crystalline structure in sucrose using a chemical analysis approach (Part II). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 59, p. 702-712, 2011.

MATHLOUTHI, M. Water content, water activity, water structure and the stability of foodstuffs. *Food Control*, v. 12, p. 409-417, 2001.

MATLAB & Simulink-R2006a, OPENCADD ADVANCED TECHNOLOGY, São Paulo, Brasil.

MINGUETI, F. F. Influência dos sistemas de produção, convencional e orgânico, na qualidade da cana-de-açúcar (*saccharum spp*) e do açúcar mascavo. 76 p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e desenvolvimento rural)- Universidade Federal de São Carlos, Araras, SP, 2012.

MILLER, J.C., MILLER, J.N. Estadística para Química Analítica, (2nd ed.), Addison-Wesley Iberoamerican. S. A., Delaware, 1993.

MINITAB, Minitab Incorporation, Version 16.2.2, USA, 2010.

NAJFPOUR, G.D.; SHAN, C.P. ENZYMATIC HYDROLYSIS OF MOLASSES. *BIORESOURCE TECHNOLOGY*, V. 86, P. 91-94, 2003.

NIELSEN, S.S. *Introduction to the Chemical Analysis of Foods*. Jones and Bartlett Publishers, London, England, 1994.

NOGUEIRA, F. S.; FERREIRA, K.S., CARNEIRO JÚNIOR, J. DE B.; PASSONI, L. C. Minerais em melados e em caldos de cana. *Ciência e Tecnologia de Alimento*, Campinas, v. 29, p. 727–731, 2009.

OETTERER, M., REGITANO-D'ARCE, M.A.B., SPOTO, M.H.F., *Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Barueri-SP: Manole, 2006.

OLIVEIRA, D.T, ESQUIAVETO, M.M.M., SILVA JÚNIOR, J.F. Impacto dos Itens da Especificação do Açúcar na Indústria Alimentícia. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27 (supl), p.99-102, 2007.

ORSI, F. Kinetic studies on the thermal decomposition of glucose and fructose. *Journal of Thermal Analysis*, v.5, p. 329-335, 1973.

PINTO, A. P.; PEREIRA, E. S.; MIZUBUTI, I. Y. Características nutricionais e formas de utilização da cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 24, p. 73-84, 2003.

ROSS, Y.H.; KAREL, M; LABUZA, T.B.; LEVINE, H.; MATHLOUTHI, M.; REID, D.; SHALAEV, E. SLADE, L. Melting and crystallization of sugars in high-solids systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, p. 3167–3178, 2013.

SILVA, F.C.; CESAR, M. A. A.; SILVA, C.A.B. Pequenas indústrias rurais da cana-de-açúcar: melado, rapadura e açúcar mascavo. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 155 p. 2003.

SILVA. M. M. P., Caracterização da produção e avaliação de indicadores de qualidade tecnológica de amostras de melado do estado de São Paulo. 57 p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e desenvolvimento rural) – Universidade Federal de São Carlos, Araras, SP, 2012.

SPANO, N.; CASULA, L.; FLORIS, I.; PANZANELLI, A.; PILO, M. I.; PIU, P. C.; SCANU, R.; TAPPARO, A.; SANNA, G. An RP-HPLC determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey: The case of strawberry tree honey. *Talanta*. v. 68. p. 1390-1395, 2006.

VILLADIEGO; A.M.D.; et al., *Fundamentos de Estabilidade de Alimentos*; Embrapa Brasília, DF, 2012.

WERNIMONT, G.T. *Use of Statistics to Develop and Evaluate Analytical Methods*. first ed. AOAC International, Virginia, 1985.

**CAPÍTULO 7. OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM  
XAROPES**

## OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM XAROPES

Os xaropes de glicose são resultantes da hidrólise do amido de milho e são empregados como agente aromatizante, umectante, adoçante e conservante na indústria de alimentos. São utilizados como ingredientes em alimentos para bebê, produtos de panificação, coberturas, bebidas, condimentos entre outros (BERDANIER, DWYER e FELDMAN, 2008; CAUVAIN e YOUNG, 2000).

Na indústria de panificação e confeitaria moderna, o açúcar invertido é muitas vezes substituído por xaropes de glicose, conhecidos como xaropes de milho, ou seja, o amido é a matéria prima para a sua fabricação. Esse ingrediente é inserido nas receitas de bolo, pois permite a retenção da umidade, fazendo com que os bolos permaneçam assim mais macios e saborosos (COULTATE, 2002).

Dependendo do método de hidrólise utilizado diversas composições e propriedades funcionais podem ser obtidas nos xaropes. O grau de hidrólise é expresso como equivalente de dextrose (DE), definida como a quantidade de açúcares redutores presentes expressos em dextrose e é calculado como uma porcentagem do total de matéria seca. Xaropes de glicose possuem um DE maior que 20 e menor que 80 (DEMAN, 1999).

O método comumente utilizado para determinar a umidade neste tipo de alimento é método refratométrico de Chataway, revisado por Wedmore, que utiliza a medida de índice de refração da amostra para ser convertida em porcentagem de umidade (IAL, 2008). A estufa à vácuo também pode ser utilizada, porém o tempo para a determinação é longo (>6,0 h) (NAKNEAN e MEENUNE, 2011). Métodos alternativos para determinação deste parâmetro em amostras de xaropes têm sido empregados, como a secagem por radiação infravermelha (HEINZE e ISENGARD, 2001) e a titulação de Karl Fischer (ISENGARD e HEINZE, 2003).

Devido ao comportamento térmico complexo, uma caracterização físico-química das amostras de xarope foi realizada para compreender melhor esse comportamento.

## **7.1 Caracterização Físico – Química de Xaropes pela Análise de Componentes Principais**

### **7.1.1 Metodologia**

#### **7.1.1.1 Amostras**

Para o estudo foram utilizadas cinco amostras de xarope de milho (X1 a X5) e uma amostra de xarope de bordo (X6) de origens e lotes diferentes já descritas anteriormente no Capítulo 4, item 4.3, as quais foram mantidas em seu próprio recipiente e armazenadas em local seco e arejado até a realização das análises.

#### **7.1.1.2 Análises Físico-Químicas**

Os açúcares redutores foram determinados pelo método 177/IV, o pH pelo método 017/IV, o HMF (5-(hidróximetil)-2-furaldeído) pelo método 175/IV, a acidez pelo método 174/IV e o grau Brix pelo método 315/IV, descritos em Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (IAL, 2008), as cinzas condutimétricas pelo método GS 1/3/4/7/8-13, o grau de escurecimento não enzimático mensurado pelas medidas de absorvância a 420 nm pelo método GS 2/3-18, descritos no ICUMSA (2005). A temperatura final de secagem (TFS) das amostras foi determinada através da curva de secagem termogravimétrica obtida plotando-se as perdas de massa das curvas TG/DTG versus a temperatura no intervalo da temperatura ambiente até 250 °C, e as mesmas foram realizadas em duplicata.

#### **7.1.1.3 Análise de Componentes Principais das Características Físico-Químicas**

Para avaliar a influência das características físico-químicas na qualidade das amostras de xaropes investigadas foi aplicada uma Análise de Componentes Principais (ACP). A ACP foi realizada através da determinação da distância entre os dados das amostras que foram calculados considerando-se as médias dos parâmetros físico-químicos. Realizou-se também a padronização dos dados com centralização na média. Toda a análise estatística foi realizada usando o software

MATLAB (Matlab & Simulink-R2006a, OPENCADD ADVANCED TECHNOLOGY, São Paulo, Brasil).

### 7.1.2 Resultados e Discussão

Um estudo de caracterização físico-química das amostras de xaropes pela Análise de Componentes Principais foi realizado para verificar possíveis semelhanças e/ou diferenças entre as mesmas, bem como a correlação entre as variáveis avaliadas e também para entender melhor o seu comportamento térmico. Os resultados da análise físico-química são apresentados como médias na Tabela 7.1.

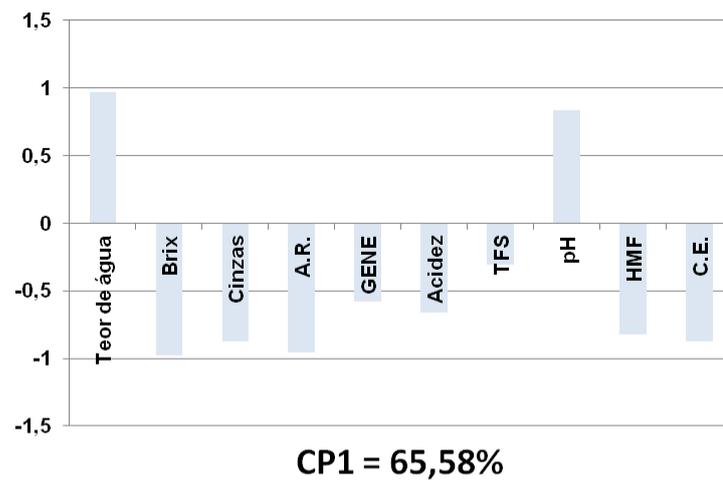
**Tabela 7.1.** Valores médios para a composição físico-química das amostras de xaropes.

Amostras	° Brix	pH	Cinzas (g/100g)	A.R. <sup>1</sup> (g/100g)	GENE <sup>2</sup>	Acidez (%)	TFS <sup>3</sup> (°C)	C.E. <sup>4</sup> ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ )	HMF <sup>5</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )
X1	82,88	4,35	0,44	60,74	0,194	3,88	137	0,244	1655,9
X2	79,30	4,37	0,32	59,45	0,210	5,34	147	0,176	1086,9
X3	84,68	2,65	0,55	64,72	0,140	45,02	138	0,305	1627,95
X4	79,32	5,00	0,47	40,32	0,090	1,45	140	0,258	50,37
X5	77,82	3,72	0,39	37,87	0,002	2,91	130	0,215	30,7
X6	67,38	5,89	0,20	0,00	0,06	2,89	135	0,110	0,00

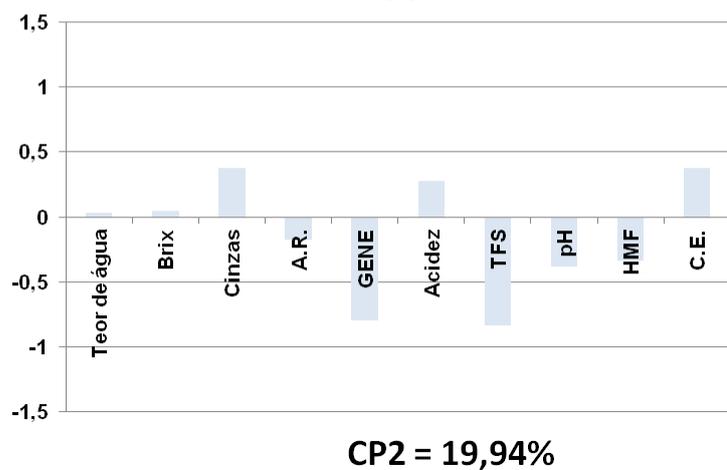
<sup>1</sup> A.R = açúcares redutores; <sup>2</sup> GENE = grau de escurecimento não enzimático medido pela absorbância a 420 nm; <sup>3</sup> TFS = temperatura final de secagem; <sup>4</sup> C.E. = condutividade elétrica; <sup>5</sup> HMF = 5-(hidroximetil)-2-furaldeído. Todas as análises foram feitas em duplicata.

A relação entre os diferentes parâmetros físico-químicos medidos nas seis amostras de xarope foi observada através da Análise dos Componentes Principais para os dados descritos na Tabela 7.1. A Figura 7.1-a apresenta as correlações da primeira componente principal, CP1, que respondeu por 65,58 % da variabilidade nos dados. As variáveis teor de água e pH foram as únicas que se apresentaram inversamente proporcionais a todas as demais pelo Fator 1, enquanto que, a variável TFS (temperatura final de secagem) foi a que menos apresentou influência na separação das amostras de xarope

Por outro lado, a segunda componente principal, CP2, explicou 19,94 % dos resultados (Figura 7.1-b) indicando que as variáveis teor de água, °Brix, cinzas, acidez e condutividade elétrica se apresentaram inversamente proporcionais a todas as demais pelo Fator 2. Destas, as variáveis teor de água, °Brix, açúcares redutores, acidez, pH e HMF foram poucos significativas na avaliação dos dados pelo Fator 2.



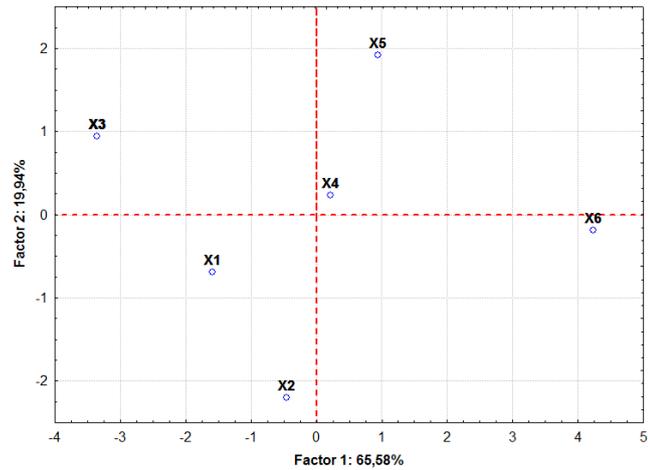
(a)



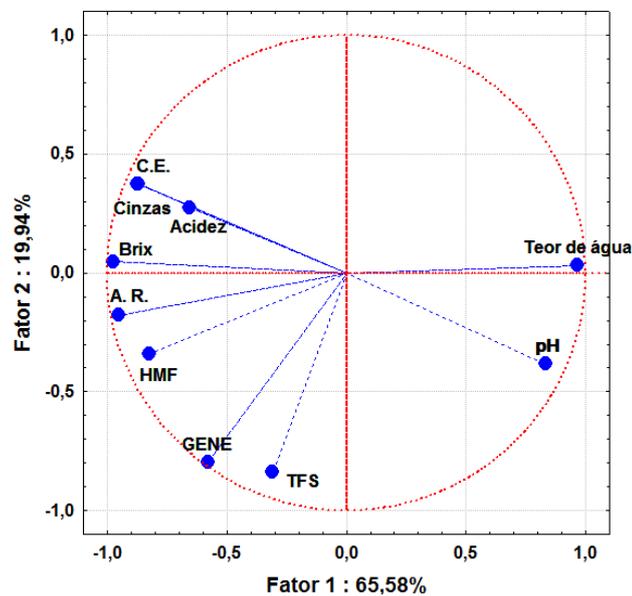
(b)

**Figura 7.1.** Pesos da primeira (a) e segunda (b) componentes principais nas amostras de xaropes.

As Figuras 7.2-a e 7.2-b apresentam os pesos e escores das variáveis e amostras, respectivamente. Observou-se que as amostras foram distribuídas em quadrantes diferentes, conforme sua correlação com as variáveis.



(a)



(b)

**Figura 7.2.** Pesos (a) e escores (b) da primeira e segunda componentes principais para as amostras de xaropes.

As amostras provenientes dos EUA e do Canadá (X4, X5 e X6) separaram-se das amostras oriundas do Brasil (X1, X2 e X3), pois estavam dispostas em quadrantes opostos. Essas amostras (X4 a X6) apresentaram os maiores teores de água e os menores teores de açúcares redutores, grau de escurecimento não enzimático e de HMF. As amostras de xarope de glicose X4 e X5 estão em um quadrante oposto ao das variáveis HMF e grau de escurecimento não enzimático (GENE), indicando que estas apresentam um teor menor deste contaminante; verifica-se também que essas amostras apresentaram os maiores teores de umidade, diminuindo, portanto, a velocidade de formação de HMF (FALLICO et al.,

2004). Sugere-se que as amostras de xarope (X4 e X5) foram submetidas, provavelmente a um processamento enzimático. Este processamento ocorre com temperatura adequada e controlada, garantindo assim um melhor controle da qualidade do produto a ser comercializado, pois valores elevados de temperatura destroem as enzimas por desnaturação, inibindo irreversivelmente sua atividade (PINTO, 2009; FALLICO et al., 2004).

A amostra de xarope proveniente do Canadá (X6), assim como as amostras X4 e X5, encontra-se em um quadrante oposto ao da variável HMF, apresentando um teor deste contaminante abaixo do limite de detecção (LD). Esta amostra é um xarope de bordo, descrita no Capítulo 4, item 4.3, conhecido como *maple syrup* e *sirop d'érable* nos Estados Unidos e no Canadá. Esta amostra encontra-se no quadrante oposto ao de HMF, açúcares redutores e grau de escurecimento não enzimático (Figura 7.2) sugerindo que esta apresenta os menores valores destas variáveis. Observa-se pela Tabela 7.1 que a amostra X6 não apresenta açúcares redutores em sua composição, elevados teores de água e altos valores de pH, fatores que são importantes para explicar a não quantificação de HMF, pois altas concentrações de açúcares redutores e de água em meio ácido são essenciais para a formação deste composto (KHALIL et al., 2010). Risner et al., (2006) também analisaram um xarope de bordo e de forma similar, obtiveram valores de HMF abaixo do limite de detecção (LD).

As amostras de xarope X1 a X3 provenientes do Brasil apresentaram os maiores teores de acidez, de açúcares redutores, de condutividade elétrica, de Brix e conseqüentemente os maiores teores de HMF se comparadas às amostras X4 a X6, (Tabela 7.1), o que pode ser atribuído a fatores como: composição química, processo de obtenção dos xaropes e tempo de estocagem. Assim, verifica-se que as amostras de xarope (Tabela 7.1) oriundas do Brasil apresentaram elevadas concentrações de açúcares redutores (59,45 a 64,72 %), enquanto que as amostras de xarope provenientes dos Estados Unidos (X4 e X5) mostraram teores menores (37,87 a 40,32 %). Nota-se então que os teores de açúcares redutores presentes nas amostras de xarope de glicose têm grande influência na formação de HMF.

Com relação à TFS as amostras X1 e X2 que possuem os maiores teores de HMF, açúcares redutores e GENE são também as que apresentam maiores valores

de TFS quando comparadas as amostras do Canadá (X4 a X6). O aumento dos açúcares redutores pode proporcionar maior viscosidade ao meio e aumentar a interação da água com estes compostos, o que dificulta a liberação de água durante a secagem, elevando assim a TFS.

## **7.2 Otimização e Validação da Termogravimetria para a Determinação de Água em Xarope**

### **7.2.1 Materiais**

Para o estudo de otimização da metodologia termogravimétrica foi escolhida a amostra de xarope codificada como X1 e empregaram-se discos de papel de fibra de vidro de aproximadamente 5,0 mm de diâmetro. Para o estudo de validação foram utilizadas todas as amostras de xarope (X1 a X6) descritas no capítulo 4, item 4.3.

### **7.2.2 Métodos**

#### **7.2.2.1 Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTA)**

As curvas TG/DTA das amostras de xaropes foram obtidas em um sistema simultâneo TG/DTA da Seiko, modelo Exstar 6000 series, sob atmosfera dinâmica de ar sintético ( $50 \text{ mL min}^{-1}$ ), massas de amostra de aproximadamente 3,0 mg, porta amostra de alumina (50  $\mu\text{L}$ ) para a amostra e referência até a temperatura final de 250 °C localizado no Laboratório Multiusuário do CIMPE, Campus Cedeteg da Unicentro. O forno do TG/DTA foi pré-equilibrado a temperatura ambiente e cada amostra foi pesada rapidamente para minimizar a absorção ou liberação de umidade. Como referência inerte utilizou-se um disco de papel de fibra de vidro (Celm) com diâmetro aproximado de 5,0 mm. Os outros parâmetros experimentais foram definidos de acordo com os níveis do planejamento fatorial apresentados na Tabela 7.2.

#### **7.2.2.2 Determinação de Água por Titulação de Karl Fischer**

O teor de água foi determinado por uma titulação volumétrica de Karl Fischer com um titulador Q349-1 da Quimis, utilizando reagente de Karl Fischer sem piridina

(Biotec, Brasil) e metanol anidro (JT Baker, EUA), de acordo com método 014/IV dos Métodos Físico-Químicos para a Análise de Alimentos (IAL, 2008). Todas as medidas foram realizadas em duplicata.

### 7.2.2.3 Otimização do Método Termogravimétrico por Planejamento Fatorial

Para a otimização do método termogravimétrico foi aplicado um fatorial  $2^2$  para investigar a influência das variáveis taxa de aquecimento e papel de fibra de vidro no teor de água de xarope. As curvas TG/DTG e DTA foram obtidas em duplicata e em ordem aleatória para todas as combinações dos níveis das variáveis apresentadas na Tabela 7.2.

**Tabela 7.2.** Variáveis e níveis do planejamento fatorial  $2^2$  para a determinação termogravimétrica do teor de água em xaropes.

Variáveis	Nível (-)	Nível (+)
Razão de aquecimento	5°C min <sup>-1</sup>	10°C min <sup>-1</sup>
Papel de fibra de vidro	sem	com

Os efeitos das variáveis do planejamento fatorial foram calculados por:

$$E_f = (\bar{R}_+) - (\bar{R}_-)$$

em que  $(\bar{R}_+)$  e  $(\bar{R}_-)$  são as diferenças das médias dos níveis (+) e (-), respectivamente das variáveis envolvidas.

Os efeitos das variáveis nos teores de água da amostra de xarope foram testados para a significância estatística no nível de 95,0 % pelo cálculo do erro padrão e pela análise do gráfico de Pareto. A análise estatística dos dados do planejamento fatorial foi realizada empregando-se o software “*Minitab for Windows v.16*”.

### 7.2.2.4 Validação do Método Termogravimétrico

Para o estudo de validação foram calculados dois parâmetros: precisão e exatidão. Ambos foram determinados através da comparação do método termogravimétrico desenvolvido com a titulação de Karl Fischer (método de

referência). Para avaliar a precisão da termogravimetria foi realizada uma comparação entre as variâncias ponderadas ( $S_p^2$ ) de cada um dos métodos analíticos através da aplicação de um teste- $F$  adequado, e pelo cálculo do intervalo de confiança para a razão entre variâncias e intervalo de confiança para os desvios padrão ponderados ( $S_p$ ) no nível de confiança de 95,0 %. Para avaliar a exatidão da termogravimetria foi aplicado: um teste- $t$  pareado para as diferenças médias dos teores de água obtidos para os métodos analíticos. Toda a análise estatística foi realizada utilizando o software estatístico "*Minitab para Windows v.16*".

## **7.2.3 Resultados e Discussão**

### **7.2.3.1 Perfil termogravimétrico de secagem**

Analisando-se as curvas TG/DTG da amostra de xarope (X1), utilizada no estudo de otimização da metodologia termogravimétrica, entre 25 °C e 250 °C pode-se sugerir que a água contida neste alimento está sendo eliminada em três etapas distintas. A primeira etapa de perda de massa foi observada entre 25 °C e 70 °C. A segunda perda de massa ocorreu entre 70 °C e 120 °C e a última perda de massa foi observada entre 120 °C e 170 °C. Acima de 170 °C foi verificada uma perda de massa rápida decorrente do início das reações de decomposição dos carboidratos e outros componentes da matriz (Figura 7.3). Na curva DTG observa-se que a desidratação ocorre com maior velocidade a 120 °C e finaliza próximo de 170 °C. Na curva DTA (Figura 7.4 a) foi observado um evento endotérmico estreito entre 100 e 155 °C que demonstra que o xarope tem uma fração de água fortemente ligada aos seus componentes. Para melhor visualizar as perdas das diferentes frações de água presentes na amostra de xarope (X1) foi construído um gráfico de secagem termogravimétrica traçando-se os teores de água versus a temperatura de secagem (Figura 7.4 b).

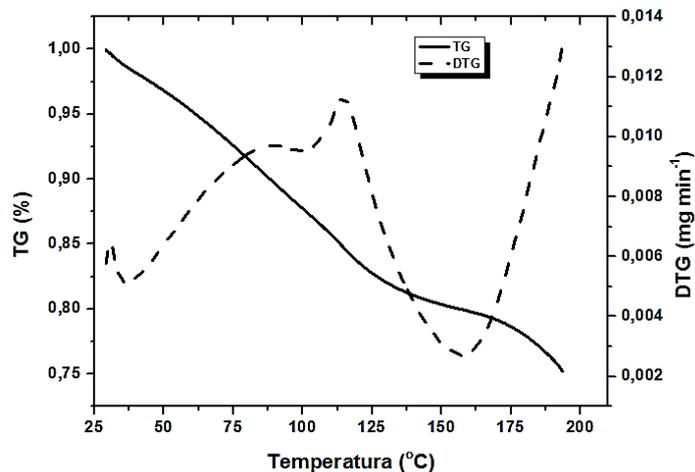
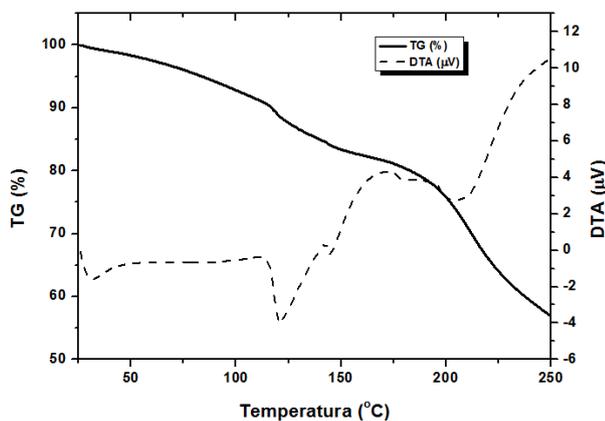
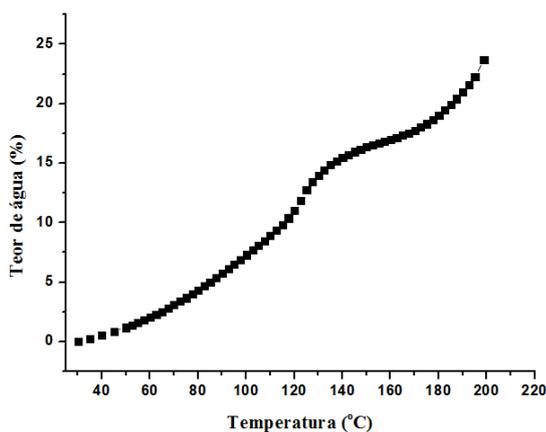


Figura 7.3. Perfil de secagem termogravimétrica da amostra de xarope (X1).



(a)



(b)

Figura 7.4. (a) Curvas TG e DTA da amostra de xarope de glicose (X1) analisadas no estudo de otimização (b) Curva de secagem termogravimétrica. (Porta amostra de alumina, papel de fibra de vidro, atmosfera dinâmica de ar, massa de 3,0 mg, razão de aquecimento  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e vazão de gás a  $50\text{ mL min}^{-1}$ ).

Na Figura 7.4 (b), três perdas de massa foram detectadas, sugerindo que a água presente no xarope está ligada aos demais componentes (açúcares) de formas diferentes. Tem-se uma perda de massa mais lenta até 70 °C que pode ser atribuída a água livre, presente na superfície da matriz, facilmente removível. A perda de massa mais rápida entre 70 °C e 120 °C indica uma fração de água mais fortemente ligada a matriz do alimento a qual depende de uma temperatura mais elevada para ser removida. Entre 120 °C e 170 °C iniciam-se as perdas de massa da água da monocamada. Acima de 170 °C, a rápida perda de massa é atribuída aos produtos voláteis da degradação dos açúcares presentes nessa matriz, como frutose e glicose (MATHLOUTHI, 2001; ROSS et al., 2013; KUMARESAN e BABU, 1997; LEE et al., 2011; SIMKOVIC, SURINA, e VRICAN, 2003; QUINTAS e BRANDÃO, 2003; ORSI, 1973; . EGGLESTON et al., 1996, DUCAT et al., 2015).

Para melhor avaliar o comportamento térmico de secagem das amostras de xarope foram realizadas correlações da composição físico-química. Uma correlação linear positiva entre GENE e a temperatura final de secagem ( $r = 0,545$ ;  $p = 0,067$ ) foi verificada indicando que quanto maior a temperatura final de secagem maior a concentração de compostos coloridos como as melanoidinas, que conseqüentemente são formados a partir do HMF e aumentam o grau de escurecimento do produto. Correlações lineares positivas fortes ( $r = 0,801$ ;  $p = 0,002$ ) foram determinadas entre o teor de açúcares redutores e o teor de HMF nas amostras de xarope, e também entre o HMF e o GENE ( $r = 0,837$ ;  $p = 0,001$ ), indicando que os açúcares redutores durante o processamento e a estocagem dos xaropes se degradam produzindo HMF, que é um intermediário da reação de Maillard, o qual pode ser facilmente convertido em pigmentos castanhos, o que eleva o grau de escurecimento não enzimático. Além disso, também foi observada uma correlação linear positiva entre a acidez e o teor de HMF ( $r = 0,579$ ;  $p = 0,049$ ). A formação de HMF, que é um intermediário na reação de Maillard, em alimentos com altos teores de carboidratos como os xaropes está relacionada a concentrações elevadas de açúcares redutores em meio ácido, aplicação de altas temperaturas durante o processamento ou estocagem e longos períodos de armazenamento (SPANNO et al., 2006; KHALIL, SULAIMAN e GAN 2010; BELITZ, et.al, 2009). Sendo assim, observa-se que o avanço na reação de Maillard com o escurecimento do produto e produção de compostos mais estáveis como as melanoidinas, a partir dos

açúcares redutores em meio ácido, resulta em um aumento da temperatura final de secagem dos xaropes.

### 7.2.3.2 Estudo de Otimização do Método Termogravimétrico

Para a otimização do método termogravimétrico foi aplicado um planejamento fatorial  $2^2$  para investigar a influência da razão de aquecimento e do uso de papel de fibra de vidro nos teores de água de xaropes. As oito curvas TG/DTA obtidas com o planejamento mostraram um perfil de secagem termogravimétrico semelhante para a etapa de eliminação de água. Os resultados do planejamento fatorial e os efeitos calculados são apresentados nas Tabelas 7.3 e 7.4.

**Tabela 7.3.** Planejamento fatorial  $2^2$  para a análise do teor de água de xarope por termogravimetria

Ensaio	Razão de aquecimento ( $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ )	Papel de fibra de vidro	Teor médio de água (g/100g) $\pm$ DP*
TG1	5	sem	14,00 $\pm$ 0,42
TG2	10	sem	4,44 $\pm$ 0,14
TG3	5	com	15,25 $\pm$ 0,04
TG4	10	com	16,08 $\pm$ 0,23

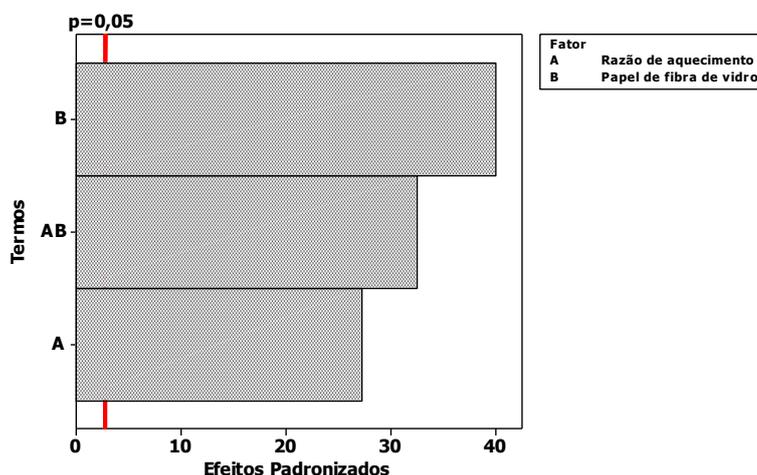
\* desvio padrão calculado a partir das duplicatas das curvas TG/DTA

**Tabela 7.4.** Efeitos e seus erros padrão calculados para o teor de água nas amostras de xarope por termogravimetria para o planejamento fatorial  $2^2$

Efeitos	Estimativas $\pm$ Erro Padrão*
<b>Media global</b>	12,46 $\pm$ 0,04
<b>Efeitos principais:</b> Razão de aquecimento (1) Papel de fibra de vidro (2)	-4,39 $\pm$ 0,08 6,43 $\pm$ 0,08
<b>Efeito da interação de dois fatores:</b> (1) x (2)	5,22 $\pm$ 0,08

\* erro padrão calculado a partir das duplicatas das curvas TG/DTA

A partir da análise do teste-*t* a 95,0 % de confiança, as variáveis do planejamento fatorial (razão de aquecimento e papel de fibra de vidro) foram consideradas significativas e um efeito de interação importante foi observado entre elas (Tabela 7.4, Figura 7.5), indicando que estas variáveis não podem ser otimizadas independentemente. O efeito de interação significativo entre as variáveis (razão de aquecimento e papel de fibra de vidro) pode se explicado mais facilmente pela inclinação das linhas ilustradas na Figura 7.6.

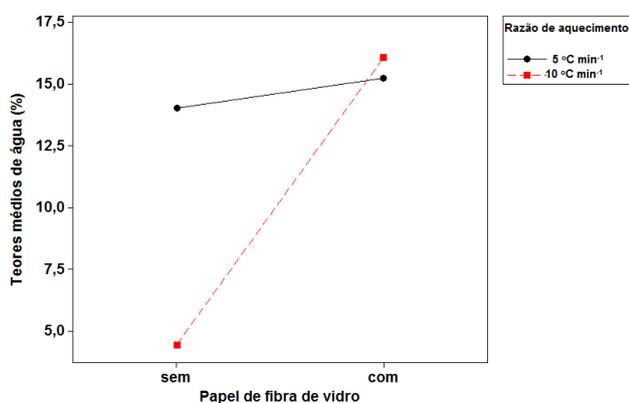


**Figura 7.5.** Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados do planejamento fatorial no nível de 95,0 % de confiança

A mudança no nível da variável razão de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup> para 10 °C min<sup>-1</sup>, resultou em uma diminuição de 4,39 % nos teores médios de água da

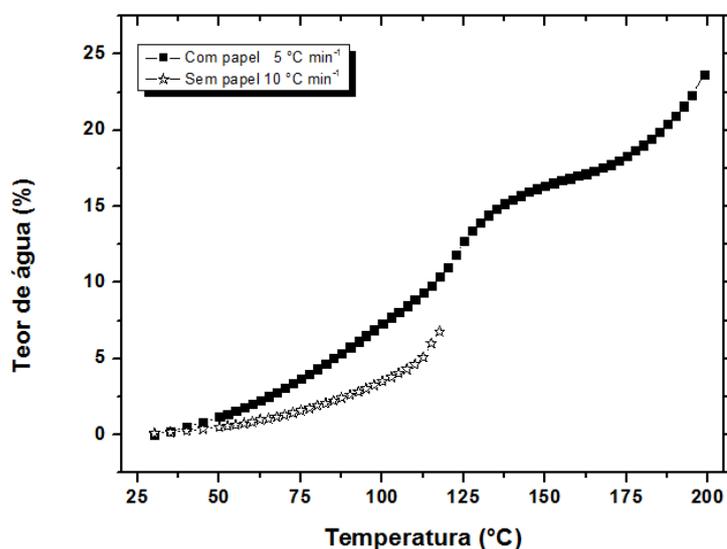
amostra de xarope (X1) (Tabela 7.4 e Figura 7.5). O efeito negativo da razão de aquecimento sugere que o uso de razões de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  em termogravimetria resultam em teores médios de água menores do que aqueles obtidos com razões de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  (Figura 7.6). Razões de aquecimento altas podem promover a distribuição não uniforme da temperatura na amostra o que conduz a eliminação incompleta de água. Isto é consequência da contração resultante da liberação de umidade. Uma das possíveis causas da contração é o *case hardening* (formação de uma película dura e quase impermeável na superfície do produto), particularmente comum em alimentos com altas concentrações de açúcares dissolvidos e outros solutos como descrito no capítulo 6 (VILLADIEGO et al., 2012).

Para a amostra de xarope (X1) investigada no planejamento fatorial foi verificado, como ilustrado, na Figura 7.6 que a mesma entrava em ebulição antes da saída completa da água quando se fazia uso de razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  ocorrendo à projeção do cadinho para dentro do forno do equipamento do TG/DTA quando a temperatura era elevada acima de  $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Em vista disso, a secagem termogravimétrica da amostra de xarope no experimento TG2 (Tabela 7.3) foi realizada somente até  $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Este resultado demonstra que a desidratação termogravimétrica de xaropes é muito sensível a razão de aquecimento adotada. Em vista desses resultados, sugere-se que razões de aquecimento mais baixas sejam mais adequadas e já necessárias para a eliminação de água nesse alimento, minimizando as chances de introdução de erros sistemáticos neste tipo de determinação.



**Figura 7.6.** Gráfico de interação entre a razão de aquecimento e o papel de fibra de vidro.

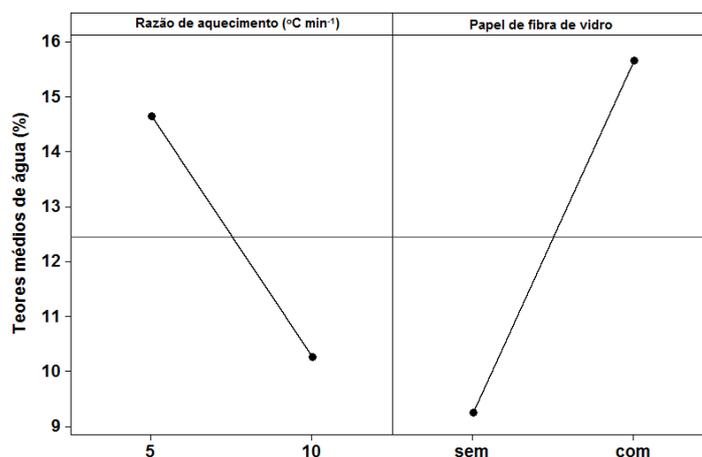
A aplicação inédita do papel de fibra de vidro nos experimentos termogravimétricos realizados nesse trabalho proporcionou um aumento nos teores de água de 6,43 %. Isso indica que o papel de fibra de vidro melhora a transferência de calor durante a secagem termogravimétrica, pois permite uma distribuição uniforme da amostra em seus capilares reduzindo o efeito de *case hardening*, minimizando o efeito de borbulhamento e facilitando assim a eliminação completa da umidade (Figura 7.7). Desta forma o emprego do papel de fibra de vidro (Tabela 7.4) na determinação dos teores de água em xarope resultou em valores mais elevados para esse parâmetro físico-químico quando comparados aos obtidos sem a sua utilização. Como já descrito anteriormente amostras ricas em açúcares como xarope tendem a formar uma crosta quando aquecidas o que dificulta a eliminação de água. O papel atua como uma esponja, promovendo uma distribuição uniforme da amostra nos capilares; isto permite que a superfície respire e evita ou minimiza a formação de crosta, a qual pode interferir na análise (NIELSEN, 1994; FELSNER, 2001; FELSNER et al., 2004).



**Figura 7.7.** Curvas de secagem termogravimétricas extraídas das curvas TG/DTA. O teor de água determinado por titulação de Karl Fischer na amostra de xarope (X1) foi de 15,21 %.

Foi observado também um efeito de interação significativo entre a razão de aquecimento e o papel de fibra de vidro, que aumentou o teor de água em 5,22 %

como ilustrado nas Figuras 7.7 e 7.8. Sem a utilização do papel de fibra de vidro foi verificado que ocorre borbulhamento da amostra o que pode levar a projeção do cadinho para dentro do forno do equipamento de TG/DTA, muito antes da eliminação completa da água especialmente quando se utilizam razões de aquecimento mais altas, como a de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . Por essa razão foram determinados teores muito baixos de água na amostra de xarope (X1) nesta razão de aquecimento sem o uso do papel (experimento TG2 da Tabela 7.3) quando comparados aos obtidos com o seu emprego (experimento TG4 da Tabela 7.3). Por outro lado, com a aplicação do papel de fibra de vidro são obtidos teores maiores de água quando se faz uso da razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  em relação aos determinados com a razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . Como já observado, em capítulos anteriores, mesmo com o uso do papel de fibra de vidro, que permite uma transferência mais uniforme de calor na amostra, razões de aquecimento mais altas favorecem as reações de degradação dos açúcares produzindo compostos voláteis que são liberados juntamente com a água contida na amostra. Desta forma, razões de aquecimento mais baixas e a aplicação do papel de fibra de vidro são mais indicadas e já necessárias para a secagem termogravimétrica de xaropes.



**Figura 7.8.** Gráfico dos efeitos principais do planejamento fatorial para a otimização do método termogravimétrico para análise de água em xaropes.

Os resultados do planejamento fatorial sugerem que as melhores condições para a determinação termogravimétrica de água em xaropes são aquelas do experimento TG3 descrito na Tabela 7.3. Para confirmar esta hipótese foi realizada

uma análise de água pelo método de Karl Fischer e aplicado um teste-*t* no nível de 95 % de confiança. A análise do teste-*t* ( $t_{obs} = 0,60$ ;  $p = 0,658$ ) indicou que não há diferenças significativas entre os teores de água da amostra de xarope determinados pelos dois métodos analíticos. Assim, as condições ótimas para a análise termogravimétrica foram: razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , porta amostra de alumina, papel de fibra de vidro, atmosfera dinâmica de ar (com vazão de  $50\text{ mL min}^{-1}$ ) e massas de 3,0 mg de amostra.

### 7.2.3.3 Validação do Método Termogravimétrico

A validação da metodologia analítica foi realizada através da comparação dos teores de água obtidos pelo método termogravimétrico proposto e a titulação de Karl Fischer (Tabela 7.5) para todas as amostras de xarope investigadas (X1 a X6). A exatidão do método termogravimétrico foi avaliada através de um teste-*t* pareado no nível de 95,0 % de confiança, para as diferenças entre as médias entre os teores de água determinados pelos dois métodos analíticos, termogravimetria e titulação de Karl Fischer. Os resultados deste teste estatístico ( $t_{obs} = -0,40$ ;  $p = 0,693$ ) sugerem que não existem diferenças significativas nos teores de água obtidos pelos dois métodos analíticos para esta matriz. Portanto, o método termogravimétrico apresenta exatidão adequada para a análise de água em xaropes.

Para avaliar a precisão do método termogravimétrico foi aplicado um teste-*F* que considera a razão entre as variâncias dos métodos termogravimétrico e a titulação de Karl Fischer. Calcularam-se os intervalos de confiança para a razão entre as variâncias e os desvios padrão no intervalo de 95,0 % de confiança. A análise do teste-*F* ( $F_{obs} = 1,03$ ;  $p = 0,958$ ) sugere que a termogravimetria e a titulação de Karl Fischer possuem precisão similar para a determinação dos teores de água em xaropes. Esses resultados são confirmados pelo cálculo dos intervalos de confiança para a razão entre as variâncias (0,297 – 3,589), o qual apresenta limite inferior menor que 1,0. Este fato indica que não existem diferenças significativas de precisão entre o método termogravimétrico otimizado com relação à titulação de Karl Fischer (método de referência). Os cálculos confirmam que a técnica termogravimétrica desenvolvida tem precisão adequada para a determinação de água em amostras de xarope.

**Tabela 7.5.** Teores médios de água e desvios padrão determinados por termogravimetria e pela titulação de Karl Fischer para as amostras de xaropes investigadas.

Amostras	Teores de água (g/100g) ± DP*	
	Karl Fischer	TG/DTA
X1	15,21±0,08	15,25±0,04
X2	19,46±0,03	19,47±0,03
X3	15,22±0,05	15,17±0,02
X4	20,59±0,03	20,52 ±0,08
X5	21,84±0,06	21,83±0,08
X6	32,24±0,07	32,20±0,07

\*Desvios padrão calculados a partir das duplicatas de cada amostra para cada método analítico

### 7.3 Conclusões

A análise de componentes principais mostrou que as amostras de xarope sofrem influência da composição química, principalmente dos açúcares redutores, da acidez e do teor de HMF especialmente nas amostras de xarope brasileiras (X1 a X3), pois as amostras de xaropes dos EUA e do Canadá (X4 a X6) apresentaram os menores teores de açúcares redutores e do contaminante HMF indicando que essas são processadas em temperaturas adequadas e controladas. A análise de componentes principais demonstrou uma relação entre o grau de escurecimento não enzimático e a temperatura final de secagem, isto é, quando os produtos coloridos aumentam decorrentes das reações de degradação dos açúcares redutores em meio ácido, a interação da água com a amostra também aumenta fazendo com que a temperatura final de secagem seja maior.

A análise do perfil de secagem termogravimétrica sugere que os xaropes têm um comportamento térmico complexo. Em relação aos outros alimentos investigados (açúcar mascavo, melado de cana e produtos de frutas) as amostras de xarope apresentam uma maior dependência da razão de aquecimento adotada durante o processo de secagem termogravimétrico. Os resultados dos estudos de otimização realizados pelo planejamento fatorial indicam que a razão de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup> e o uso de papel de fibra de vidro são mais adequados para a secagem

termogravimétrica deste tipo de alimento. Essas condições de análise fornecem uma melhor transferência de calor na amostra durante a secagem termogravimétrica, minimizando a influência das reações de degradação na remoção da água contida no xarope. As amostras de xarope foram as mais sensíveis estudadas nesse trabalho com relação ao uso do papel de fibra de vidro e a razão de aquecimento, pois não foi possível analisá-las na razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e sem o uso do papel. Foi ainda necessário diminuir a massa geralmente utilizada de 5,0 mg para 3,0 mg para minimizar o efeito de borbulhamento da amostra e consequente projeção do cadinho para dentro do forno TG/DTA.

O estudo de validação demonstrou por diferentes técnicas estatísticas que a termogravimetria mostrou exatidão e precisão adequadas para a determinação desse parâmetro físico-químico nas amostras, uma vez que não foram observados erros sistemáticos e aleatórios significativos.

A utilização da análise termogravimétrica para a determinação dos teores de água em xaropes pode ser vantajosa em relação aos outros métodos existentes na literatura, tais como a secagem em estufa a vácuo, a secagem por radiação infravermelha ou a titulação de Karl Fischer. Esta técnica de análise térmica não utiliza reagentes caros ou solventes tóxicos e ainda não faz uso de qualquer preparo de amostra, além de ser mais rápida do que a secagem em estufa a vácuo. Além disso, permite a identificação da faixa de temperaturas em que a água é eliminada e a obtenção de informações sobre a estabilidade e o perfil de degradação que podem contribuir para a otimização dos processos de produção de xaropes.

#### **7.4 Referências**

BELITZ, H.D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. Food Chemistry. 4 ed. Lichtenbergstraße: Springer, 2009.

BERDANIER, C.D.; DWYER, J.; FELDMAN, E.B. Handbook of Nutrition and Food. Second ed. USA: Taylor & Francis Group, 2008.

CAUVAIN, S.; YOUNG, L. Bakery Food Manufacture e Quality: Water Control and Effects. Oxford: Blackwell Science, 2000.

COULTATE, T.P. Food the Chemistry of Its Components. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2002.

DEMAN, J.M. Principles of Food Chemistry. Third ed. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publication, 1999.

DUCAT, G.; FELSNER, M.L.; COSTA NETO, P.R.; QUINAIA, S.P. Development and In House Validation of a New Thermogravimetric Method for Water Content Analysis in Soft Brown Sugar. *Food Chemistry*, v. 177, p.158-164, 2015.

EGGLESTON, G., VERCELLOTTI, J.R., EDYE, L.A., CLARKE, M.A. Effects of salts in the initial thermal degradation of concentrated aqueous solutions of sucrose. *Journal of Carbohydrate Chemistry* v. 15, p. 81-94, 1996.

FALLICO, B.; ZAPPALÀ, M.; ARENA, E.; VERZERA, A. Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*. v. 85. p. 305–313. 2004.

FELSNER, M.L. Caracterização de Méis Monoflorais de Eucalipto e Laranja do Estado de São Paulo por Técnicas Termoanalíticas, São Paulo, Tese de Doutorado. Instituto de Química – USP. 255p, 2001.

FELSNER; M.L.; CANO; C.B.; MATOS; J.R.; ALMEIDA-MURADIAN; L.B.; BRUNS; R.E. Optimization of Thermogravimetric Analysis of Ash Content in Honey. *Journal Brazilian Chemical Society*. v. 15, p. 797-802, 2004.

HEINZE, P. & ISENGARD, H.D. Determination of the water content in different sugar syrups by halogen drying. *Food Control*. v. 12, p. 483-486, 2001.

IAL. Instituto Adolf Lutz. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, (4<sup>a</sup> ed.). São Paulo – Brasil, 2008.

ICUMSA. International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis. England, 2005.

ISENGARD, H.D., HEINZE, P. Determination of total water and surface water in sugars. *Food Chemistry* v. 82, p. 169-172, 2003.

KHALIL, M. I.; SULAIMAN, S. A.; GAN, S. H. High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food and Chemical Toxicology*. v. 48. p. 2388–2392. 2010.

KUMARESAN, R.; MOORTHY BABU, S. Crystal growth and characterization of sucrose single crystals. *Materials Chemistry and Physics*, v. 49, p. 83-86, 1997.

LEE, J.W., THOMAS, L.C, JERRELL, J., FENG, H., CADWALLADER, K.R., SCHMIDT, S.J. Investigation of thermal decomposition as the kinetic process that causes the loss of crystalline structure in sucrose using a chemical analysis approach (Part II). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 702-712, 2011.

MATLAB & Simulink-R2006a, OPENCADD ADVANCED TECHNOLOGY, São Paulo, Brasil

MATHLOUTHI, M. Water content, water activity, water structure and the stability of food stuffs. *Food Control*, v. 12, p. 409-417, 2001.

MINITAB, Minitab Incorporation, Version 16.2.2, USA, 2010.

NAKNEAN, P., MEENUE, M. Characteristics and antioxidant activity of palm sugar syrup produced in Songkhla Province, Southern Thailand. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*. v.4, p.204-212, 2011.

NIELSEN, S.S. Introduction to the Chemical Analysis of Foods. Jones and Bartlett Publishers, London, England, 1994.

ORSI, F. Kinetic studies on the thermal decomposition of glucose and fructose. *Journal of Thermal Analysis*, v.5, p. 329-335, 1973.

PINTO, M. P. Optimização dos processos de produção de xaropes de glucose e dextrose monohidratada. 40 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

QUINTAS, M., BRANDÃO, T.R.S., Silva, C.L.M. Modelling autocatalytic behaviour of a food model system—Sucrose thermal degradation at high concentrations. *Journal of Food Engineering*, v. 78, p. 537–545, 2007.

RISNER, C. H.; KISER, M. J.; DUBE, M. F. An Aqueous High-Performance Liquid Chromatographic Procedure for the Determination of 5-Hydroxymethylfurfural in Honey and Other Sugar-containing Materials. *Journal of Food Science*. v. 71. n. 3. p. 179-184. 2006

ROSS, Y.H.; KAREL, M; LABUZA, T.B.; LEVINE, H.; MATHLOUTHI, M.; REID, D.; SHALAEV, E. SLADE, L. Melting and crystallization of sugars in high-solids systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, p. 3167–3178, 2013.

SIMKOVIC, I. SURINA, I., VRICAN, M. Primary reactions of sucrose thermal degradation. *Journal of Analytical Applied Pyrolysis*, v. 70, p. 493-504, 2003.

SPANO, N.; CASULA, L.; FLORIS, I.; PANZANELLI, A.; PILO, M. I.; PIU, P. C.; SCANU, R.; TAPPARO, A.; SANNA, G. An RP-HPLC determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey: The case of strawberry tree honey. *Talanta*. v. 68. p. 1390-1395, 2006.

VILLADIEGO; A.M.D.; et al, Fundamentos de Estabilidade de Alimentos; Embrapa Brasília, DF, 2012.

**CAPÍTULO 8. OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM  
GELEIAS E SUCOS DE FRUTAS**

## **OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM GELEIAS E SUCOS DE FRUTAS**

A comercialização e o consumo de frutas processadas e seus derivados, especialmente dos sucos de frutas tem crescido nos últimos anos, sendo o Brasil o maior produtor e exportador dos países em desenvolvimento. Isto se deve em parte pela busca de uma alimentação saudável e também pelo avanço na tecnologia de alimentos, que torna possível o processamento de frutas e seu armazenamento em embalagens práticas que podem ser levadas ao congelamento (MAIA, 2000). Além disso, é bem conhecido que as características físico-químicas de frutas processadas, incluindo os sucos, variam de acordo com as variedades ou espécies de fruta, maturidade, e como resultado de efeitos ambientais e climáticos da estação de crescimento (PINHEIRO et al., 2006).

Os sucos de frutas são alimentos que apresentam elevados teores de água, e por isso, estão expostos a inúmeras alterações uma vez que a água é o principal veículo para reações deteriorativas de natureza química ou bioquímica. A umidade ou água de um alimento está relacionada diretamente com sua estabilidade, qualidade e composição química, afetando o seu armazenamento, embalagens e processamento. Sendo assim, a determinação de umidade ou de água é um dos parâmetros físico-químicos mais importantes e analisados em alimentos. No entanto, a determinação precisa da umidade ou de água é muito difícil, uma vez que a água ocorre nos alimentos em diferentes formas (ALDRIEGUE et al., 2002; OLIVEIRA et al., 1999).

Os métodos mais utilizados para determinação de água/umidade nos sucos e geleias de frutas são os métodos em estufa, que se baseiam no cálculo do teor de umidade pela perda de massa do alimento com secagem à temperatura controlada (VLACHOS e KARAPANTSIOS, 2000; HEINZE e ISENGARD, 2001) e que, embora simples, são demorados e os tempos de secagem podem durar horas.

Na literatura existem métodos alternativos para a determinação do teor de água para frutas desidratadas (NIJHUIS et al., 1998; GIANGIACOMO, 2006; KARATHANOS, 1999). Neste capítulo é apresentado um novo método analítico para a determinação do teor de água nessas amostras, isto é importante para verificar a quantidade precisa e exata do teor de água nesses alimentos. Não é de nosso

conhecimento nenhum esforço anterior para otimizar e validar esta técnica para a análise de água em amostras de sucos e geleias de frutas.

## **8.1 Caracterização Físico – Química de Geleias e Sucos pela Análise de Componentes Principais**

### **8.1.1 Metodologia**

#### **8.1.1.1 Amostras**

As amostras de sucos de frutas e geleias foram obtidas e estocadas como descrito no capítulo 4, itens 4.4 e 4.5. Para a obtenção das curvas DTA foi usada como referência um disco de papel de fibra de vidro (Celm), com diâmetro de 5,0 mm.

#### **8.1.1.2 Análises Físico-Químicas**

As análises físico-químicas realizadas para as amostras de sucos e geleias de frutas foram açúcares redutores (método 038/IV), pH (método 017/IV), acidez titulável (método 310/IV), sólidos solúveis (°Brix) (315/IV) descritas nos Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (IAL, 2008), condutividade elétrica (método GS 2/3/9-17) descrita nos métodos da ICUMSA (2005). A temperatura final de secagem (TFS) das amostras foi determinada através da curva de secagem termogravimétrica obtida plotando-se as perdas de massa das curvas TG/DTG versus a temperatura no intervalo da temperatura ambiente até 250 °C, e as mesmas foram realizadas em duplicatas.

#### **8.1.1.3 Análise de Componentes Principais das Características Físico-Químicas**

Para avaliar a influência das características físico-químicas na qualidade das amostras de sucos e geleias de frutas foi aplicada uma Análise de Componentes Principais (ACP). A ACP foi realizada através da determinação da distância entre os dados das amostras que foram calculados considerando-se as médias dos parâmetros físico-químicos. Realizou-se também a padronização dos dados com

centralização na média. Toda a análise estatística foi realizada usando o software MATLAB (Matlab & Simulink-R2006a, OPENCADD ADVANCED TECHNOLOGY, São Paulo, Brasil).

### 8.1.2 Resultados e Discussão

Um estudo de caracterização físico-química das amostras de sucos e geleias de frutas foi realizado pela Análise de Componentes Principais para verificar possíveis semelhanças e/ou diferenças entre as mesmas, bem como a correlação entre as variáveis avaliadas e também para entender melhor o seu comportamento térmico. Os resultados das análises físico-químicas são apresentados como médias das replicatas na Tabela 8.1.

**Tabela 8.1.** Teores médios para a composição físico-química das amostras de sucos e geleias de frutas.

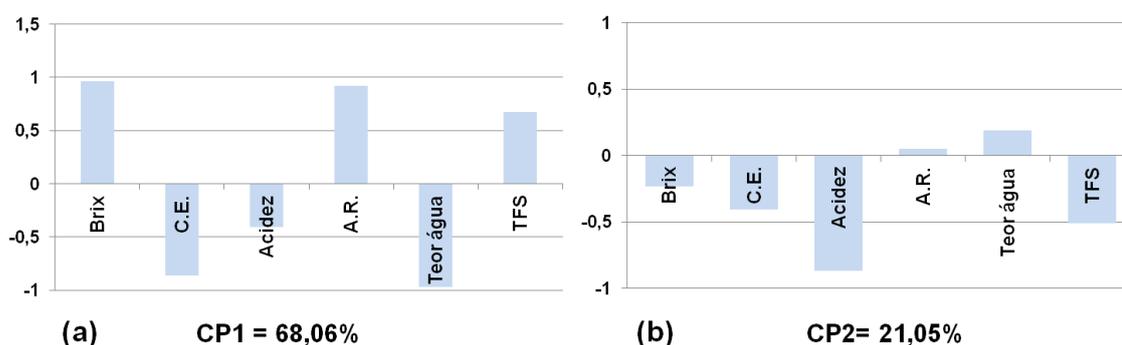
Amostras	°Brix	C.E. (mS)	pH	Acidez Total Titulável (%)	A.R. <sup>***</sup> (g/100g)	Teor de água (%)	TFS <sup>***</sup> (°C)
S1	16,50	1,34	3,05	0,310	12,92	87,56	73
S2	12,80	1,52	3,36	0,203	5,10	88,43	74
S3	11,50	1,66	3,56	0,210	12,00	87,98	80
S4	17,74	2,80	2,75	1,33	2,23	88,28	83
S5	13,00	3,26	3,13	0,656	3,43	92,86	120
S6	16,24	2,17	2,73	1,30	8,23	85,33	90
S7	17,90	5,21	2,75	2,11	4,95	88,60	88
S8	8,75	3,02	3,16	0,746	10,61	88,87	87
S9	24,00	2,46	2,76	0,681	14,57	83,69	113
S10	16,75	2,28	3,15	0,432	15,94	84,14	83
G1	67,20	0,910	3,07	0,767	44,06	31,27	101
G2	67,18	0,485	3,03	0,586	42,07	31,59	118

Amostras	°Brix	C.E. (mS)	pH	Acidez Total Titulável (%)	A.R.** (g/100g)	Teor de água (%)	TFS*** (°C)
G3	67,38	0,602	2,69	0,245	56,50	31,92	109
G4	67,20	0,476	3,29	0,290	43,78	31,83	99
G5	67,18	0,706	3,16	0,754	30,06	31,92	144
G6	67,49	0,685	3,10	0,789	25,49	31,47	124
G7	67,49	0,715	2,96	0,790	29,56	31,80	145

\*C.E. = condutividade elétrica; \*\*A.R. = açúcares redutores; \*\*\*TFS = temperatura final de secagem. Todas as análises foram feitas em duplicata.

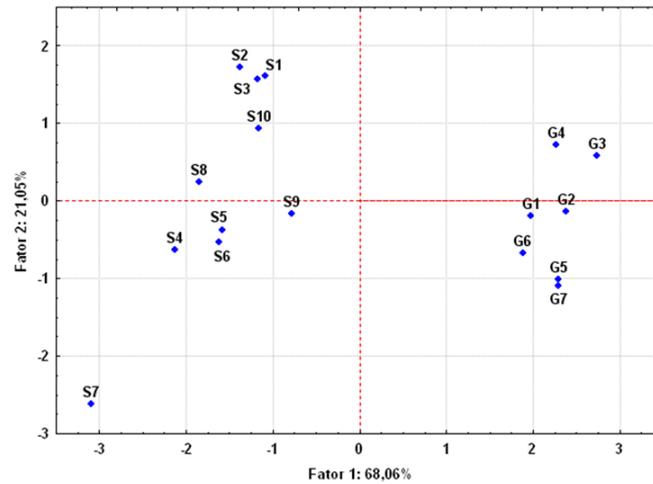
A Figura 8.1 apresenta as correlações da primeira componente principal, CP1, que respondeu por 68,06 % da variabilidade dos dados. As variáveis condutividade elétrica, acidez e teor de água se apresentaram inversamente proporcionais as demais pelo Fator 1.

Por outro lado, a segunda componente principal, CP2, explicou 21,05 % dos resultados (Figura 8.1) indicando que as variáveis açúcares redutores e teor de água estão inversamente correlacionada a todas as outras na avaliação dos dados pelo Fator 2. A variável pH foi removida da análise de dados pois a mesma não auxiliava na separação das amostras de produtos de frutas.

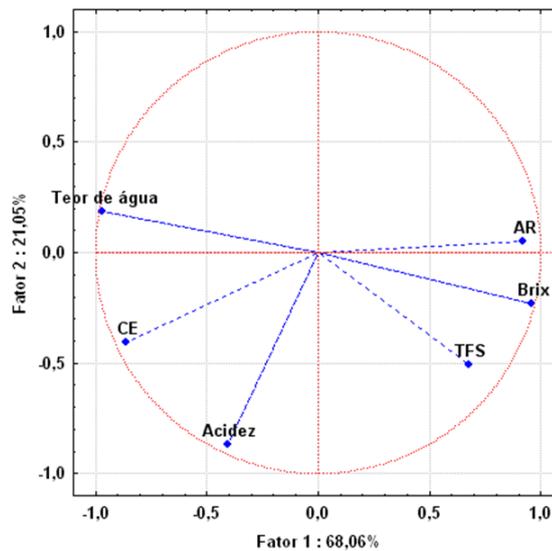


**Figura 8.1.** Pesos da primeira (a) e segunda (b) componentes principais nas amostras de sucos e geleias de frutas.

As Figuras 8.2-a e 8.2-b apresentam os pesos e escores das variáveis e amostras, respectivamente. Observou-se que as amostras foram distribuídas em quadrantes diferentes, conforme sua correlação com as variáveis.



(a)



(b)

**Figura 8.2.** Pesos (a) e escores (b) da primeira e segunda componentes principais para as amostras de sucos e geleias de frutas de diferentes fabricantes e lotes.

As amostras de sucos designadas de S1 a S10 se agruparam no eixo negativo de X pelo Fator 1. Essas amostras foram separadas pelos teores de água, acidez e condutividade elétrica. Já as geleias, amostras G1 a G7, se agruparam no eixo positivo de X pelo Fator 1 e foram influenciados pelos maiores teores de

açúcares redutores, °Brix e temperatura final de secagem. Analisando os gráficos da Figura 8.2. as amostras G1, G2, G3 e G4 se caracterizam pelos teores mais elevados de A.R. enquanto que as demais geleias pelos altos valores de °Brix e de temperatura final de secagem (TFS).

A amostra de suco S7 ficou mais afastada das outras devido aos valores mais elevados de acidez total titulável e de condutividade elétrica. Essa amostra é de suco de maracujá concentrado, por isso sua acidez é alta, mas este valor está dentro dos limites estabelecidos na legislação para este parâmetro que é de no mínimo 2,5 % (BRASIL, 2000). As amostras S4 a S7 apresentaram os valores mais altos de acidez e de condutividade elétrica (C.E), e os sucos S1, S2, S3, S8 e S10 apresentaram os valores mais baixos de todos os parâmetros físico-químicos investigados.

## **8.2 Otimização e Validação da Termogravimetria para a Determinação de Água em Sucos e Geleias de Frutas**

### **8.2.1 Materiais**

Para o estudo de otimização da metodologia termogravimétrica foi escolhida a amostra de suco codificada como S1 e de geleia codificada como G6 e empregaram-se discos de papel de fibra de vidro (Celm) de aproximadamente 5,0 mm de diâmetro. Para o estudo de validação foram utilizadas todas as amostras de sucos e geleias de frutas descritas no capítulo 4, itens 4.4 e 4.5.

### **8.2.2 Métodos**

#### **8.2.2.1 Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG/DTA)**

As curvas TG/DTG e DTA das amostras de sucos e geleias de frutas, foram obtidas em um sistema simultâneo TG/DTA da Seiko, modelo Exstar 6000 series, sob atmosfera dinâmica de ar sintético ( $50 \text{ mL min}^{-1}$ ), massas de amostra de aproximadamente 5,0 mg, porta amostras de alumina (50  $\mu\text{L}$ ) para a amostra e referência até a temperatura final de 250 °C localizado no Laboratório Multiusuário do CIMPE do Campus Cedeteg na UNICENTRO. O forno do TG/DTA foi pré-

equilibrado a temperatura ambiente e cada amostra foi pesada rapidamente para minimizar a absorção ou liberação de umidade. Como referência inerte utilizou-se um disco de papel de fibra de vidro (Celm) com diâmetro aproximado de 5,0 mm. Os outros parâmetros experimentais foram definidos de acordo com os níveis do planejamento fatorial apresentados na Tabela 8.2 mostrada no item 8.2.2.3. As curvas TG/DTA foram realizadas em duplicata.

### 8.2.2.2 Determinação de Água por Titulação de Karl Fischer

O teor de água foi determinado por uma titulação volumétrica de Karl Fischer com um titulador Q349-1 da Quimis, utilizando reagente de Karl Fischer sem piridina (Biotec, Brasil) e metanol anidro (JT Baker, EUA), de acordo com o método 014/IV dos Métodos Físico-Químicos para a Análise de Alimentos (IAL, 2008). Todas as medidas foram realizadas em duplicata.

### 8.2.2.3 Otimização do Método Termogravimétrico por Planejamento Fatorial

Para a otimização do método termogravimétrico sob atmosfera dinâmica de ar foi aplicado um planejamento fatorial  $2^2$  em que foi investigada a influência das variáveis razão de aquecimento e papel de fibra de vidro nos teores de água das amostras de sucos e de geleia de frutas. As curvas TG/DTG e DTA foram obtidas em duplicata e em ordem aleatória para todas as combinações dos níveis das variáveis apresentadas na Tabela 8.2.

**Tabela 8.2.** Variáveis e níveis do planejamento fatorial  $2^2$  para a determinação termogravimétrica do teor de água em sucos e geleias de frutas.

Variáveis	Nível (-)	Nível (+)
Razão de aquecimento	5 °C min <sup>-1</sup>	10 °C min <sup>-1</sup>
Papel de fibra de vidro	sem	com

Os efeitos das variáveis do planejamento fatorial foram calculados por:

$$E_f = (\bar{R}_+) - (\bar{R}_-)$$

em que  $(\bar{R}_+)$  e  $(\bar{R}_-)$  são as diferenças das médias dos níveis (+) e (-), respectivamente das variáveis envolvidas.

A significância estatística dos efeitos das variáveis nos teores de água dos produtos de frutas estudados foi avaliada pelo cálculo do erro padrão no nível de 95,0 % e pela análise do gráfico de Pareto. Para verificar as condições ótimas da análise termogravimétrica foi aplicado um teste-*t* aos teores médios de água obtidos pela aplicação da melhor condição de análise sugerida pelo planejamento fatorial e pelo método de titulação de Karl Fischer no nível de 95,0% de confiança (BARROS; BRUNS e SCARMINO, 2010; MILLER e MILLER, 1993; WERNIMONT, 1985). Toda a análise estatística dos dados foi realizada usando o software “*Minitab for Windows v.16.2.2*”.

#### **8.2.2.4 Validação do Método Termogravimétrico**

Para o estudo de validação do método termogravimétrico foram calculados dois parâmetros: exatidão e precisão de acordo com as diretrizes da AOAC (Wernimont, 1985). Os dois parâmetros foram determinados pela comparação dos resultados do método termogravimétrico desenvolvido com os valores da titulação de Karl Fischer (método de referência). Para avaliar a exatidão da termogravimetria foi aplicado um teste-*t* pareado para as diferenças médias dos teores de água obtidos para os dois métodos analíticos (BARROS NETO, SCARMINO & BRUNS, 2010; MILLER & MILLER, 1993; WERNIMONT, 1985). Para avaliar a precisão do método desenvolvido as variâncias ponderadas ( $Sp^2$ ) de cada um dos métodos analíticos foram comparadas pela aplicação de um teste-*F* apropriado e pelo cálculo de intervalos de confiança para a razão entre as variâncias e para os desvios padrão ponderados ( $Sp$ ). Todas as análises estatísticas foram realizadas a 95,0 % de confiança usando o software “*Minitab for Windows v.16.2.2*”.

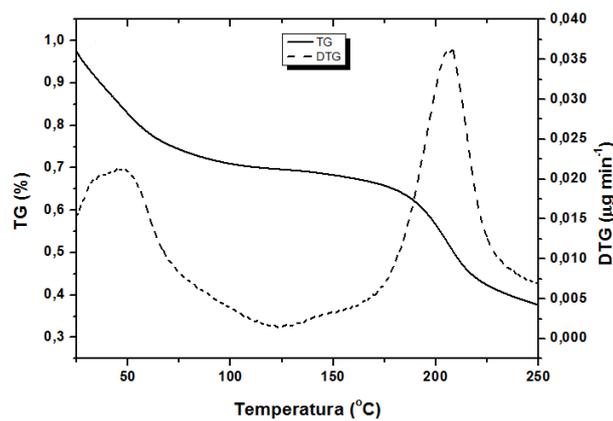
#### **8.2.3 Resultados e Discussão**

##### **8.2.3.1 Perfil termogravimétrico de secagem**

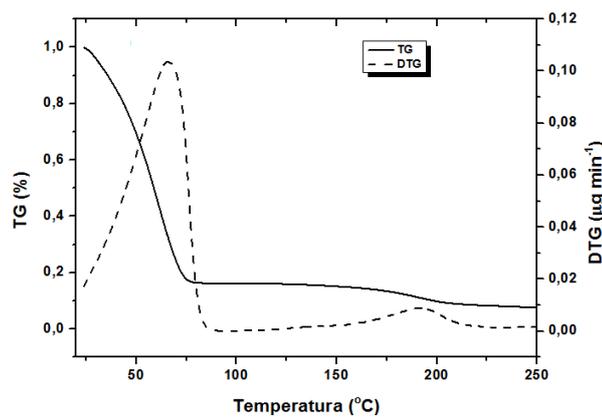
Nas curvas TG/DTG de amostras de sucos e de geleias de frutas, entre 25 °C e 250 °C, observou-se dois pontos de inflexão que indicam as mudanças na

velocidade das perdas de massas durante a etapa de desidratação (Figura 8.3). O perfil de secagem das amostras de geleia foi característico aos de alimentos com altos teores de açúcares como ilustrado na Figuras 8.4 (a). Já para a amostra de suco de frutas, observa-se um comportamento distinto Figura 8.5 (a) onde se verifica apenas um ponto de inflexão da etapa de desidratação, mostrando que a água está fracamente ligada a esta matriz.

Para melhor visualizar o processo de secagem dos sucos e geleias de frutas construiu-se curvas de secagem termogravimétrica traçando-se os teores de água versus a temperatura (Figura 8.4 b e 8.5 b). Para a geleia observou-se a formação similar de isothermas de dessorção para alimentos ricos em açúcar, já para o suco ocorre à saída de água em uma etapa distinta.

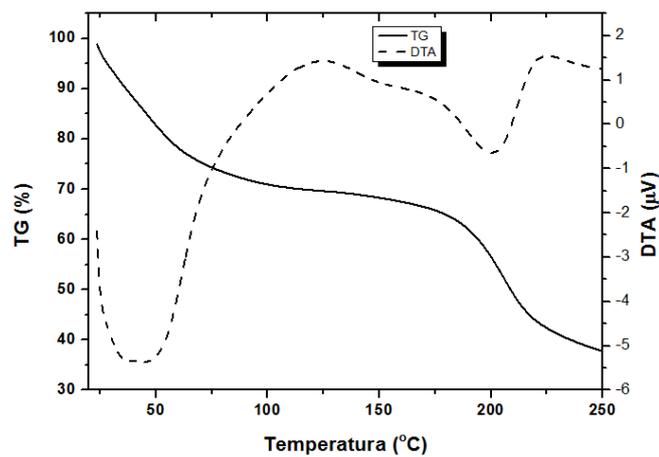


(a)

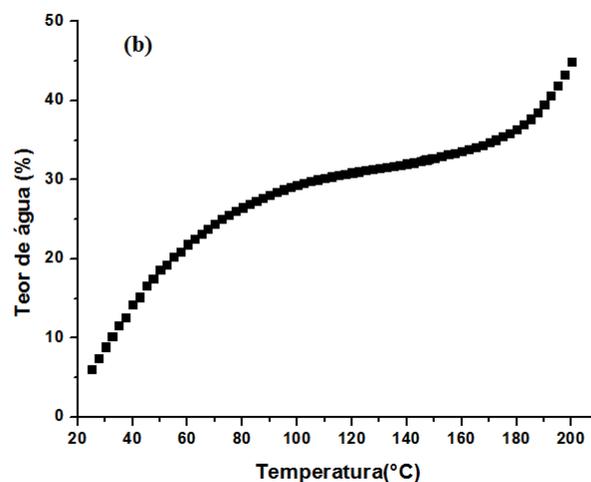


(b)

**Figura 8.3.** Perfil de secagem termogravimétrica: (a) da amostra de geleia de fruta G6 e (b) da amostra de suco de fruta S1.

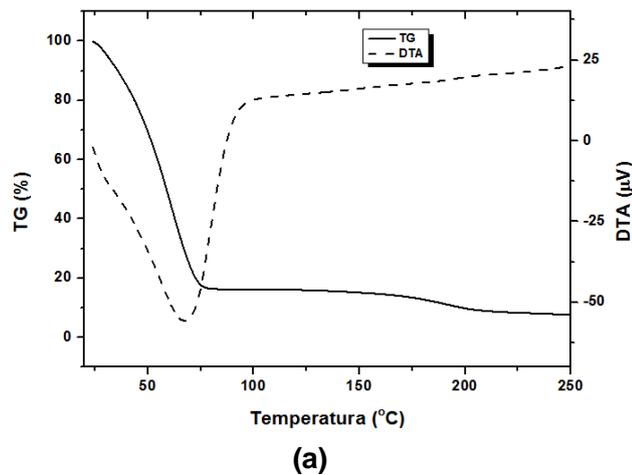


(a)

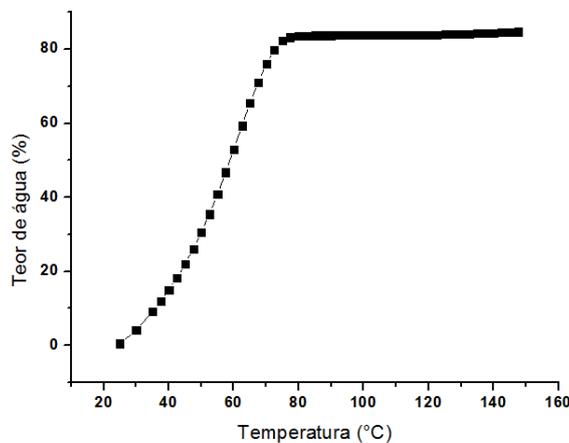


(b)

**Figura 8.4.** (a) Curvas TG e DTA da amostra de geleia de fruta (G6) analisada no estudo de otimização (b) Curva de secagem termogravimétrica. (Porta amostra de alumina, papel de fibra de vidro, atmosfera dinâmica de ar, massa de 5,0 mg, razão de aquecimento  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e vazão de gás a  $50\text{ mL min}^{-1}$ ).



(a)



(b)

**Figura 8.5.** (a) Curvas TG e DTA da amostra de suco de fruta (S1) analisada no estudo de otimização (b) Curva de secagem termogravimétrica. (Porta amostra de alumina, papel de fibra de vidro, atmosfera dinâmica de ar, massa de 5,0 mg, razão de aquecimento  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e vazão de gás a  $50\text{ mL min}^{-1}$ ).

Na Figura 8.4 (b), para a amostra de geleia de fruta (G6), três perdas de massa foram detectadas, sugerindo que a água presente nessa matriz está ligada de formas diferentes. A perda de massa entre  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  é atribuída a água livre, presente na superfície da matriz, facilmente removível. A perda de massa entre  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$  indica a água fortemente ligada a matriz do alimento a qual depende de uma temperatura mais elevada para ser removida. Entre  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $175\text{ }^{\circ}\text{C}$  seria a perda de água da monocamada. Acima de  $175\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a rápida perda de massa é atribuída aos produtos voláteis da degradação dos açúcares presentes nessa matriz, como sacarose, frutose e glicose. O comportamento sigmoide observado é muito similar ao determinado nas isotermas de desorção para alimentos ricos em açúcar

(MATHLOUTHI, 2001; NIELSEN, 1994; SCHÖFFSKI, 2001; DUCAT et al., 2015) e verificado para os alimentos descritos nos capítulos 5, 6 e 7.

Os teores de água para as outras amostras de geleias de frutas analisadas por termogravimetria durante o estudo de validação foram determinados do mesmo modo e apresentaram comportamento térmico similar, com mudanças na temperatura final de secagem (TFS), conforme visualizado na Tabela 8.1.

Para a amostra de suco (S1) ilustrada na Figura 8.5 (b) a perda rápida de massa entre 25 °C e 80 °C foi atribuída a água livre, presente na superfície da matriz, facilmente removível. Entre 80 e 120°C foi observada uma região linear na curva de secagem termogravimétrica indicando a liberação de uma pequena fração de água mais fortemente ligada a matriz. Acima de 120°C observa-se uma perda de massa mais rápida proveniente de reações de degradação dos componentes do alimento. Sendo assim, é evidente que o suco de frutas apresenta um comportamento térmico de secagem diferente do observado para os demais alimentos investigados e descrito em capítulos anteriores, outro exemplo disso é a temperatura final de secagem dos sucos, que variou de 73 a 120 °C, valores bem menores que dos outros alimentos investigados.

Para compreender melhor o comportamento térmico de secagem dos produtos de frutas investigados foram realizadas análises de correlação entre parâmetros físico-químicos. Uma forte correlação linear positiva foi constatada ( $r = 0,704$ ;  $p = 0,002$ ) entre o °Brix e a temperatura final de secagem (TFS). Além disso, verificou-se também uma correlação linear positiva entre os teores de açúcares redutores e a TFS ( $r = 0,458$ ;  $p = 0,064$ ) e também uma correlação linear negativa entre os teores de água e a TFS ( $r = -0,680$ ;  $p = 0,003$ ). Este comportamento pode ser explicado considerando-se as diferenças de composição entre os produtos de frutas investigados. Para as geleias de frutas foram determinados os valores mais altos para a TFS e estas também apresentaram os maiores teores de açúcares redutores e de °Brix quando comparadas aos valores determinados para os aos sucos de frutas. Isto sugere que nas geleias de frutas, a água está fortemente ligada a matriz e precisa de temperaturas mais elevadas para ser removida. Já nos sucos de frutas devido à baixa quantidade de açúcares redutores e outros solutos a interação da água presente em grandes quantidades com estes componentes é

fraca (MATHLOUTHI, 2001). Desta forma, o que se observa então é que a água é eliminada rapidamente e se constitui basicamente da fração de água livre. Por isso a curva de secagem termogravimétrica dos sucos de frutas (Figura 8.5b) apresenta somente duas regiões, sendo diferente da observada para as geleias de frutas (Figura 8.4b) e para os outros alimentos descritos nos capítulos anteriores.

### 8.2.3.2 Estudo de Otimização do Método Termogravimétrico

Para a otimização do método termogravimétrico foi aplicado um planejamento fatorial  $2^2$  para investigar a influência da razão de aquecimento e do uso de papel de fibra de vidro nos teores de água das amostras de suco e geleia de frutas. As oito curvas TG/DTA obtidas com o planejamento mostraram um perfil de secagem termogravimétrico semelhante para a etapa de eliminação de água. Os resultados do planejamento fatorial e os efeitos calculados estão apresentados nas Tabelas 8.3 e 8.4.

**Tabela 8.3.** Planejamento fatorial  $2^2$  para a análise dos teores de água nas amostras de geleia e suco de frutas por termogravimetria.

Ensaio	Razão de aquecimento ( $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ )	Papel de fibra de vidro	Teor médio de água (g/100g) $\pm$ DP* para a geleia G6	Teor médio de água (g/100g) $\pm$ DP* para o suco S1
TG1	5	sem	28,29 $\pm$ 0,21	83,58 $\pm$ 0,06
TG2	10	sem	28,58 $\pm$ 0,31	81,27 $\pm$ 0,14
TG3	5	com	31,45 $\pm$ 0,06	83,73 $\pm$ 0,04
TG4	10	com	28,41 $\pm$ 0,28	82,97 $\pm$ 0,01

\* desvios padrão calculados a partir das duplicatas das curvas TG/DTA.

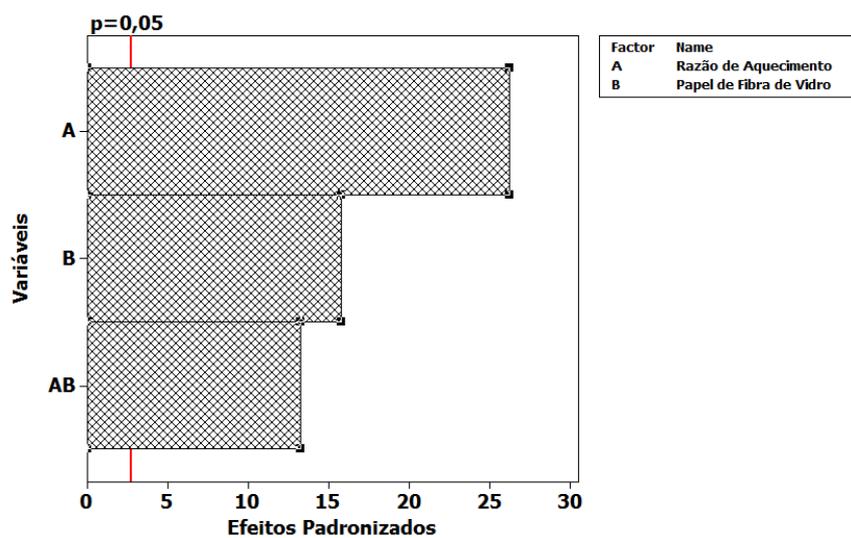
**Tabela 8.4.** Efeitos e seus erros padrão calculados para os teores de água nas amostras de suco e geleia de frutas por termogravimetria para o planejamento fatorial  $2^2$ .

Efeitos	Estimativas $\pm$ Erro Padrão* para Geleias de Frutas	Estimativas $\pm$ Erro Padrão* para Sucos de Frutas
---------	---	---

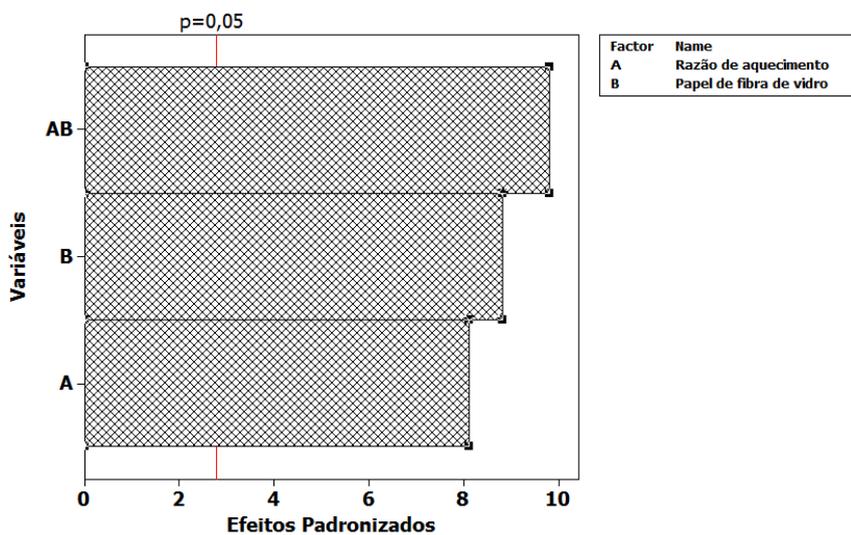
<b>Media global</b>	<i>29,18 ± 0,04</i>	<i>82,88 ± 0,04</i>
<b>Efeitos principais:</b>		
Razão de aquecimento (1)	<i>-1,38 ± 0,08</i>	<i>-1,54 ± 0,08</i>
Papel de fibra de vidro (2)	<i>1,49 ± 0,08</i>	<i>0,93 ± 0,08</i>
<b>Efeito da interação de dois fatores: (1) x (2)</b>	<i>-1,67 ± 0,08</i>	<i>0,78 ± 0,08</i>

\* erro padrão calculado a partir das duplicatas das curvas TG/DTA.

A partir da análise do teste-*t* a 95,0% de confiança, para a secagem termogravimétrica de produtos de frutas as variáveis do planejamento fatorial (razão de aquecimento e papel de fibra de vidro), foram consideradas significativas e um efeito de interação importante foi observado entre elas (Tabela 8.4, Figura 8.6), indicando que estas não podem ser otimizadas independentemente. O efeito de interação significativo entre as variáveis (razão de aquecimento e papel de fibra de vidro) pode se explicado mais facilmente pela inclinação das linhas ilustradas na Figura 8.7.

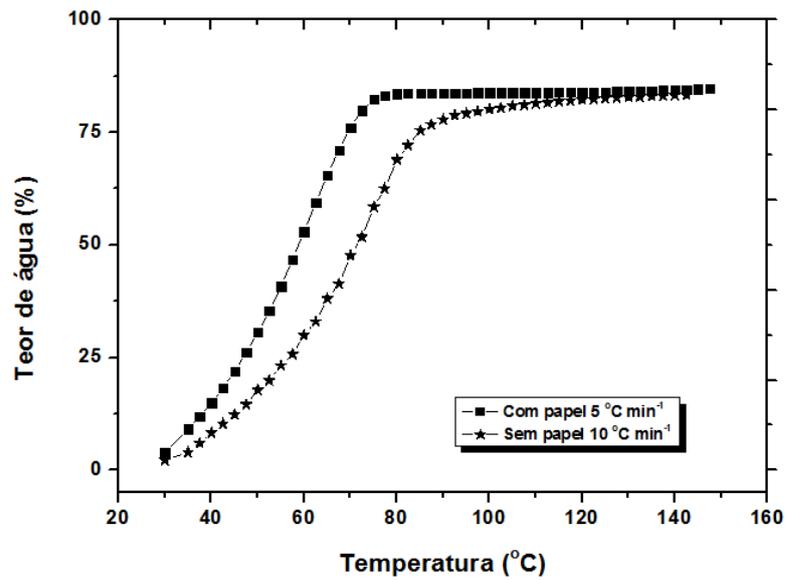


(a)

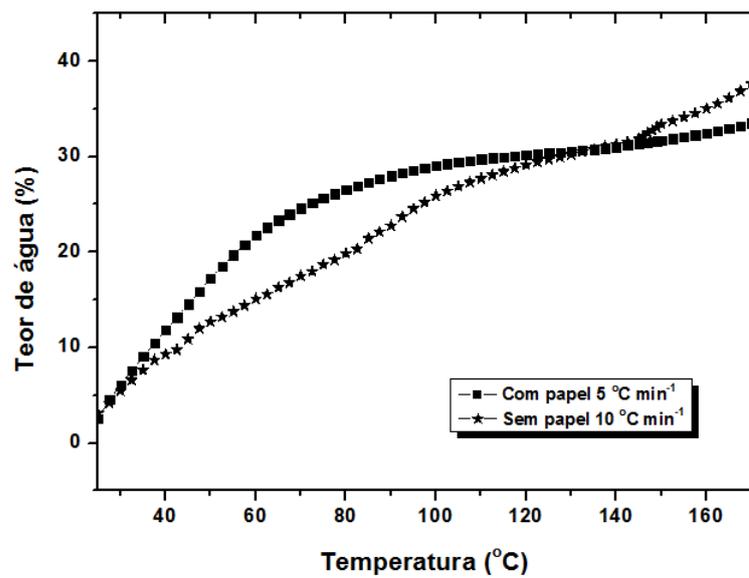


(b)

**Figura 8.6.** Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados do planejamento fatorial no nível de 95,0 % de confiança para (a) suco de frutas e para (b) geleia de frutas.

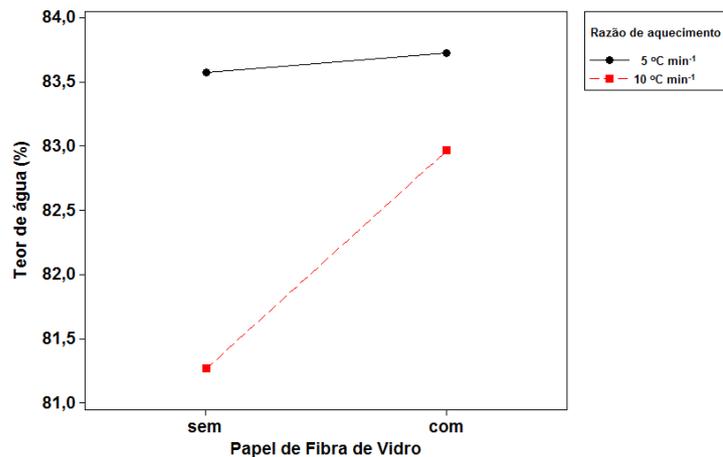


(a)

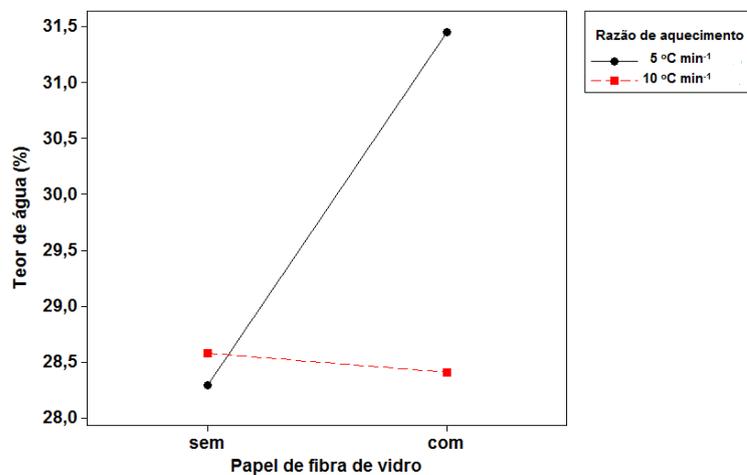


(b)

**Figura 8.7.** Curvas de secagem termogravimétricas extraídas das curvas TG/DTA para (a) suco de frutas e para (b) geleia de frutas. O teor de água determinado por titulação de Karl Fischer na amostra de suco (S1) foi de 87,56 % e para a amostra de geleia (G6) foi 31,47 %.



(a)



(b)

**Figura 8.8.** Gráfico de interação entre razão de aquecimento e papel de fibra de vidro para (a) suco de frutas e (b) geleia de frutas.

A mudança no nível da variável razão de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup> para 10 °C min<sup>-1</sup>, resultou em uma diminuição de 1,54 % no teores médios de água de suco de frutas e de 1,38 % para geleia de frutas (Tabela 8.5, Figura 8.6 e 8.7). O efeito negativo da razão de aquecimento sugere que o uso de razões de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup> em termogravimetria resulta em teores médios de água menores do que aqueles obtidos com razões de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup> (Figura 8.8). Razões de aquecimento altas podem resultar em distribuição não uniforme de temperatura na amostra o que conduz a eliminação incompleta de umidade. Isto é consequência da contração das amostras resultante do processo de secagem. Uma das possíveis causas da contração é o *case hardening* (formação de uma película dura e quase impermeável na superfície do produto), particularmente comum em

alimentos com altas concentrações de açúcares dissolvidos e outros solutos, como já descrito nos capítulos anteriores (VILLADIEGO et al., 2012). A partir da Figura 8.7, pode-se verificar que o comportamento térmico de desidratação dos dois alimentos é diferente. A geleia de fruta, como citado possui maior concentração de açúcares redutores, fazendo com que a água saia mais lentamente e em temperaturas mais elevadas. Já o suco de frutas possui menor teor de açúcares e a água mais fracamente ligada, tornando a etapa de desidratação mais rápida. Quando se utiliza razões de aquecimento maiores para o suco de frutas observa-se que a água livre não consegue sair na totalidade, fazendo com que as reações de degradação ocorram antes. Em vista desses resultados, sugere-se que razões de aquecimento mais baixas sejam mais adequadas para a eliminação de água nesses alimentos, minimizando as chances de introdução de erros sistemáticos neste tipo de determinação.

Normalmente o papel de fibra de vidro já vem sendo empregado por outros métodos de secagem, tais como a secagem por radiação infravermelha e secagem por radiação de micro-ondas (HEINZE e ISENGARD, 2001; KNOCHEL; DASCHNER e TAUTE, 2001) e termogravimetria (FELSNER, 2001).

A aplicação inédita do papel de fibra de vidro nos experimentos termogravimétricos realizados nesse trabalho resultou em um aumento nos teores de água de 0,93 % para suco de frutas e de 1,49 % geleia de frutas. Isso indica que o papel de fibra de vidro melhora a transferência de calor durante a secagem termogravimétrica, pois permite uma distribuição uniforme da amostra em seus capilares reduzindo o efeito de *case hardening*, facilitando assim a eliminação da água (Figura 8.6). Além disso, fica evidente também que a aplicação do papel de fibra é mais importante para as geleias de frutas, as quais apresentam uma concentração maior de sólidos dissolvidos que podem sofrer decomposição durante a secagem. O efeito do papel de fibra de vidro (Tabela 8.5) na determinação do teor de água resultou em maiores teores de água nas amostras de produtos de frutas. Amostras ricas em açúcar como a geleia de frutas tendem a formar uma crosta quando aquecidas o que dificulta a eliminação completa de água. O papel atua como uma esponja, promovendo uma distribuição uniforme da amostra nos capilares; isto permite que a superfície respire e evita a formação de crosta, a qual pode interferir na análise (NIELSEN, 1994).

Foi observado um efeito de interação significativo entre os fatores razão de aquecimento e papel de fibra de vidro que provocou uma diminuição de 1,67 % dos teores de água para a geleia de fruta e um aumento de 0,78 % para o suco de fruta. Para os sucos de fruta esse efeito de interação é importante, pois não permite que a água saia rapidamente do cadinho, o papel estabiliza essa saída da água. Já com relação à geleia ocorre uma transferência de calor melhor fazendo com que saia da amostra apenas o teor de água e não os compostos voláteis das reações de degradação. O efeito de interação do suco e geleia de frutas e as curvas de secagem termogravimétricas extraídas das curvas TG/DTA mostraram-se diferentes (Figura 8.7). Para o suco de frutas observa-se que a influência do papel de fibra de vidro é menor quando se faz uso de razões de aquecimento menores. No entanto, para remover completamente a água contida no alimento, quando se adotam razões de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  faz-se necessário o uso do papel de fibra de vidro. Já para a geleia de frutas observa-se que sem a utilização do papel de fibra de vidro são obtidos teores de água mais baixos nas duas razões de aquecimento investigadas. No entanto, quando se utiliza o papel de fibra de vidro, teores de água mais elevados são obtidos quando se aplica uma razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . Em razões de aquecimento mais altas, mesmo com o uso do papel, ocorre a formação de crosta que impede a completa remoção da água. Desta forma, fica evidente que para a secagem de produtos de frutas, especialmente nas geleias, faz-se necessário o uso de razões de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e papel de fibra de vidro.

### **8.2.3.3 Validação do Método Termogravimétrico**

Na Tabela 8.5, os resultados da análise de diferentes amostras de sucos e geleias de frutas são apresentados como médias e desvios padrão para os métodos de termogravimetria e de titulação de Karl Fischer. Para realizar o estudo de validação da metodologia termogravimétrica foram calculados dois parâmetros: exatidão e precisão. A exatidão do método termogravimétrico desenvolvido foi avaliada através de um teste-*t* pareado no nível de 95,0 % de confiança, para as diferenças entre as médias entre os teores de água determinados pelos dois métodos analíticos, termogravimetria e titulação de Karl Fischer. Os resultados deste teste estatístico ( $t = - 1,66$  e  $p = 0,114$  para a amostra de suco de frutas e  $t = - 0,52$  e  $p = 0,612$  para a amostra de geleia de frutas) sugerem que não existem diferenças

significativas nos teores de água obtidos pelos dois métodos analíticos para amostras de sucos e geleias de frutas. Assim, a análise termogravimétrica mostrou exatidão adequada para análise do teor de água nos dois tipos de produtos de frutas.

**Tabela 8.5.** Teores médios de água e desvios padrão para amostras de suco (S) e de geleia (G) obtidos pelos dois métodos analíticos.

Amostras	Teores de água (g/100g) $\pm$ DP*	
	Karl Fischer	TG/DTA
S1	87,56 $\pm$ 0,03	87,50 $\pm$ 0,04
S2	88,43 $\pm$ 0,05	88,44 $\pm$ 0,03
S3	87,98 $\pm$ 0,08	87,95 $\pm$ 0,07
S4	88,28 $\pm$ 0,05	88,28 $\pm$ 0,03
S5	92,86 $\pm$ 0,01	92,85 $\pm$ 0,06
S6	85,33 $\pm$ 0,06	85,26 $\pm$ 0,08
S7	88,60 $\pm$ 0,08	88,60 $\pm$ 0,08
S8	88,87 $\pm$ 0,03	88,88 $\pm$ 0,04
S9	83,69 $\pm$ 0,04	83,73 $\pm$ 0,04
S10	84,14 $\pm$ 0,07	83,99 $\pm$ 0,08
G1	31,27 $\pm$ 0,07	31,28 $\pm$ 0,07
G2	31,59 $\pm$ 0,03	31,60 $\pm$ 0,05
G3	31,92 $\pm$ 0,08	31,94 $\pm$ 0,08
G4	31,83 $\pm$ 0,09	31,82 $\pm$ 0,10
G5	31,92 $\pm$ 0,08	31,90 $\pm$ 0,04
G6	31,47 $\pm$ 0,06	31,48 $\pm$ 0,07
G7	31,80 $\pm$ 0,06	31,79 $\pm$ 0,06

Para avaliar a precisão foi aplicado um teste-*F* que considera a razão entre as variâncias dos métodos termogravimétrico e a titulação de Karl Fischer e foram calculados os intervalos de confiança para a razão entre as variâncias e os desvios padrão no intervalo de 95,0 % de confiança

A análise dos testes- $F$  sugere que a termogravimetria ( $F_{obs} = 0,91$  com  $p = 0,15$  para as amostras de geleia de frutas e  $F_{obs} = 0,92$  com  $p = 0,90$  para as amostras de suco de frutas) e a titulação de Karl Fischer possuem precisão similar. Esses resultados são confirmados pelo cálculo dos intervalos de confiança para a razão entre as variâncias (0,157 - 5,314 para as amostras de geleias de frutas e 0,248 - 3,427 para as amostras de sucos de frutas), os quais apresentam limites menores que 1,0 indicando que não existem diferenças significativas de precisão entre os métodos termogravimétrico com relação a titulação de Karl Fischer. Isso confirma que a técnica termogravimétrica desenvolvida neste trabalho tem precisão adequada para a determinação de água em amostras de sucos e geleias de frutas.

### 8.3 Conclusões

Considerando os resultados da análise multivariada foi possível separar as amostras em dois grupos distintos, as geleias e os sucos de frutas. As geleias foram separadas pelos altos valores de °Brix, açúcares redutores e temperatura final de secagem (TFS) devido especialmente aos seus altos teores de açúcares redutores que faz com que a água esteja ligada mais fortemente a matriz. Já os sucos possuem um comportamento distinto com relação a água, pois o mesmo possui maior quantidade de água livre, menor teor de açúcares redutores e, portanto, menor temperatura final de secagem (TFS).

A análise do perfil de secagem termogravimétrica sugere que a geleia de frutas tem um comportamento térmico complexo. Já o suco de frutas, devido aos baixos teores de açúcares e outros solutos apresenta uma fraca interação da água do produto com estes componentes sendo que esta é eliminada rapidamente e se constitui basicamente da fração de água livre. Os resultados dos estudos de otimização realizados pelo planejamento fatorial sugerem que a razão de aquecimento de  $5\text{ °C min}^{-1}$  e o uso de papel de fibra de vidro são mais adequados para a secagem termogravimétrica das amostras de produtos de frutas. Essas condições fornecem uma melhor transferência de calor na amostra durante a secagem, minimizando a influência das reações de degradação na remoção de água.

O estudo de validação demonstrou por diferentes técnicas estatísticas que a termogravimetria mostrou exatidão e precisão adequadas para a determinação

desse parâmetro físico-químico nas amostras de sucos e geleias de frutas, uma vez que não foram observados erros sistemáticos e aleatórios significativos.

A utilização da análise termogravimétrica para a determinação dos teores de água em amostras de sucos e geleias de frutas pode ser vantajosa em relação aos outros métodos, tais como a secagem em estufa a vácuo, a secagem por radiação infravermelha ou a titulação de Karl Fischer. Esta técnica de análise térmica não utiliza reagentes caros ou solventes tóxicos e ainda não faz uso de qualquer preparo de amostra, além de ser mais rápida do que a secagem em estufa a vácuo. Além disso, permite a identificação da faixa de temperaturas em que a água é eliminada e a obtenção de informações sobre a estabilidade e o perfil de degradação que podem contribuir para a otimização dos processos de produção de sucos e geleias de frutas.

#### 8.4 Referências

ALDRIEGUE, M.L.; MADRUGA, M.S.; FIOREZA, R.; LIMA, A.W.O.; Sousa, C.P. Aspecto da Ciência e Tecnologia de Alimentos. Ed. UFPB, v. 1, 198 p.; 2002.

BARROS NETO, B., SCARMINO, I.S., BRUNS, R.E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria, (4th ed.), Bookman, Porto Alegre, 2010.

BRASIL. Leis, Decretos, etc. Instrução Normativa nº1, de 7 jan. 2000, do Ministério da Agricultura. Diário Oficial da União, Brasília, n. 6, 10 jan. 2000. Seção I, p. 54-58. [Aprova os Regulamentos Técnicos para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas.

DUCAT, G.; FELSNER, M.L.; COSTA NETO, P.R.; QUINAIA, S.P. Development and In House Validation of a New Thermogravimetric Method for Water Content Analysis in Soft Brown Sugar. *Food Chemistry*, v. 177, p.158-164, 2015.

FELSNER, M.L. Caracterização de Méis Monoflorais de Eucalipto e Laranja do Estado de São Paulo por Técnicas Termoanalíticas, São Paulo, Tese de Doutorado. Instituto de Química – USP. 255p, 2001.

GIANGIACOMO, R. Study of water-sugar interactions at increasing sugar concentration by NIR spectroscopy. *Food Chemistry*, v. 96, p.371-379, 2006.

HEINZE, P. & ISENGARD, H.D. Determination of the water content in different sugar syrups by halogen drying. *Food Control*, v. 12, p. 483-486, 2001.

IAL. Instituto Adolf Lutz. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, (4ª ed.). São Paulo – Brasil, 2008.

ICUMSA. International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis. England, 2005.

KARATHANOS, V.T. Determination of water content of dried fruits by drying kinetics. *Journal of Food Engineering*, v.39, p. 337-344, 1999.

KNOCHEL, R.; DASCHNER, F.; TAUTE, W. Resonant microwave sensors for instantaneous determination of moisture in foodstuffs. *Food Control*, v. 12, p. 447-458, 2001.

MAIA, G.A. Production and processing of tropical fruit juices from Brazil. In: *Annals of the 23rd IFU Symposium*, p. 128-139, Havana, 2000.

MATHLOUTHI, M. Water content, water activity, water structure and the stability of food stuffs. *Food Control*, v. 12, p. 409-417, 2001.

MATLAB & Simulink-R2006a, OPENCADD ADVANCED TECHNOLOGY, São Paulo, Brasil.

MILLER, J.C., MILLER, J.N. *Estadística para Química Analítica*, (2nd ed.), Addison-Wesley Iberoamerican. S. A., Delaware, 1993.

MINITAB, Minitab Incorporation, Version 16.2.2, USA, 2010.

NIELSEN, S.S. *Introduction to the Chemical Analysis of Foods*. Jones and Bartlett Publishers, London, England., 1994.

NIJHUIS, H.H.; TORRINGA, H.M.; MURESAN, S.; YUKSEL, D.; LEGUIGT, C.; KLOEK, W. Approaches to improving the quality of dried fruit and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, v. 9, p. 13-20, 1998.

OLIVEIRA, M.E.B.; BASTOS, M.S.R.; FEITOSA, T.; BRANCO, M.A.A.C.; SILVA, M.G.G. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, caju e caju. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.19, p. 326-332, 1999.

PINHEIRO, A.M.; FERNANDES, A.G.; FAI, A.E.C.; DO PRADO, G.M., DE SOUSA, P.H.M., MAIA, G.A. Avaliação química, físico-química e microbiológica de sucos integrais: abacaxi, caju e maracujá. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, p. 98-103, 2006.

SCHÖFFSKI, K. New Karl Fischer reagents for the water determination in food. *Food Control*, v. 12, p. 427-429, 2001.

VILLADIEGO; A.M.D.; et al, *Fundamentos de Estabilidade de Alimentos*; Embrapa Brasília, DF, 2012.

VLACHOS, N.A., KARAPANTSIOS, T.D. Water content measurement of thin sheet starch products using a conductance technique. *Journal of Food Engineering*, v., p.46, 91-98, 2000.

WERNIMONT, G.T. (1985). *Use of Statistics to Develop and Evaluate Analytical Methods*. first ed. AOAC International, Virginia, 1985.



## **CAPÍTULO 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através do perfil termogravimétrico observado em todas as amostras avaliadas neste estudo, foi possível verificar o comportamento térmico das mesmas e verificar como o calor influencia nas reações de degradação dos alimentos. Utilizando a análise de componentes principais, como ferramenta estatística, foi possível verificar diferenças e/ou semelhanças entre as amostras estudadas.

O desenvolvimento do trabalho permitiu observar características peculiares em cada tipo de alimento investigado, especialmente na forma de como a água está ligada em cada tipo de matriz. Observou-se também que para alimentos como o açúcar mascavo e o melado de cana, especialmente no Brasil, não existe um controle de qualidade adequado podendo gerar riscos à saúde humana.

Para o açúcar mascavo os resultados do estudo de otimização realizado pelo planejamento fatorial sugeriram que a razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e o uso de porta amostra de alumina foram mais adequados para a secagem termogravimétrica das amostras do que taxas de aquecimentos maiores e o uso de porta amostras de platina.

O estudo de validação demonstrou por diferentes técnicas estatísticas que a termogravimetria apresentou exatidão e precisão adequadas para a determinação desse parâmetro físico-químico no açúcar mascavo, uma vez que não foram observados erros sistemáticos e aleatórios significativos especialmente em relação ao método de Karl Fischer. Esta metodologia poderá ser aplicada em análises de rotina para o controle de qualidade de amostras de açúcar mascavo. Os dados do estudo de validação do método oficial (secagem em estufa) demonstraram que a sua precisão é comparável com as técnicas de termogravimetria e Karl Fischer, porém a sua exatidão é afetada por erros sistemáticos cuja magnitude depende da composição química do açúcar mascavo. Em vista disto, pode afirmar-se que método de estufa, usado normalmente nas indústrias, não produz resultados corretos para a análise do teor de água neste alimento.

Os resultados dos estudos de otimização realizados pelo planejamento fatorial para o melado de cana sugerem que a razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e o uso de papel de fibra de vidro foram mais adequados para a secagem termogravimétrica deste tipo de alimento. Essas condições fornecem uma melhor

transferência de calor na amostra durante a secagem, minimizando a influência das reações de degradação na remoção da água contida no alimento e conseqüentemente o efeito de *case hardening* ou formação de crosta que inserem erros sistemáticos neste tipo de determinação. A otimização a partir da termogravimetria isotérmica e planejamento fatorial sugeriu que é possível aplicar um método de secagem em estufa convencional para a análise de umidade em melado de cana. Os resultados do estudo de validação do novo método de secagem em estufa convencional demonstraram por técnicas estatísticas que o mesmo apresenta exatidão e precisão adequadas quando comparado ao método de titulação de Karl Fischer. Esse método de secagem em estufa é vantajoso, pois utiliza instrumentação e insumos de baixo custo e poderia ser aplicado em laboratórios de controle de qualidade, por órgãos de fiscalização ou por indústrias de pequeno porte.

Para as amostras de xarope os resultados dos estudos de otimização realizados pelo planejamento fatorial indicaram que a razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e o uso de papel de fibra de vidro foram mais adequados para a secagem termogravimétrica deste tipo de alimento. Essas condições de análise fornecem uma melhor transferência de calor na amostra durante a secagem termogravimétrica, minimizando a influência das reações de degradação na remoção da água contida no xarope. As amostras de xarope foram as mais sensíveis estudadas nesse trabalho com relação ao uso do papel de fibra de vidro e a razão de aquecimento, pois não foi possível analisa-las na razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e sem o uso do papel. Foi ainda necessário diminuir a massa geralmente utilizada nas medidas, de 5,0 mg para 3,0 mg, minimizando assim o efeito de borbulhamento da amostra e conseqüente projeção do cadinho para dentro do forno TG/DTA.

A análise do perfil de secagem termogravimétrica sugeriu que a geleia de frutas apresenta um comportamento térmico complexo. Já o suco de frutas, devido a baixa quantidade de açúcares e outros solutos apresenta uma fraca interação da água do produto com estes componentes sendo que esta é eliminada rapidamente e se constitui basicamente da fração de água livre. Os resultados dos estudos de otimização realizados pelo planejamento fatorial sugeriram que a razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e o uso de papel de fibra de vidro foram mais adequados para a secagem termogravimétrica das amostras de produtos de frutas. Essas

condições forneceram melhor transferência de calor na amostra durante a secagem, minimizando a influência das reações de degradação na remoção de água.