

RICARDO NATALINO

**CARACTERIZAÇÃO DE AÇÚCAR MASCAVO APLICANDO
ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS A DADOS
ESPECTROMÉTRICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de “*Magister Scientiae*”.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL**

2006

RICARDO NATALINO

**CARACTERIZAÇÃO DE AÇÚCAR MASCAVO APLICANDO
ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS A DADOS
ESPECTROMÉTRICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de “*Magister Scientiae*”.

APROVADA: 28 de abril de 2006

Prof. César Reis
(Conselheiro)

Prof. Paulo Henrique Fidêncio

Prof. Antônio Augusto Neves

Prof. Benjamim Gonçalves Milagres

Prof. Efraim Lázaro Reis
(Orientador)

“A maior recompensa do nosso trabalho não é o que nos pagam
por ele, mas aquilo em que ele nos transforma.”

(John Ruskin)

AGRADECIMENTOS

À DEUS, Jesus Cristo e Nossa Senhora Aparecida quem me guiam pela vida.

À minha família, meus pais: Roberto Natalino, Wânia Lúcia Pimentel Natalino e meu irmão Roberto Natalino Júnior, razão de toda minha luta.

À Flávia Cavalcanti, pela sua Companhia, Amor, Carinho, fatores indispensáveis para qualquer caminhada.

À Universidade Federal de Viçosa a quem devo toda minha formação acadêmica e pela acolhida nesses anos de luta.

Ao Professor Efraim Lázaro Reis, pela compreensão, orientação, amizade, confiança, disponibilidade nas horas difíceis e principalmente, por apostar em meu potencial.

Aos professores César Reis, Paulo Henrique Fidêncio e Jorge Luiz Collodete por todo apoio e boa vontade em auxiliar-me durante todo o decorrer de meu trabalho.

Ao Leonardo Chagas e Ricardo Balleirini do laboratório de Celulose e Papel/UFV pelas análises de infravermelho próximo, pela paciência e disponibilidade.

Ao Eduardo Rezende e ao professor Gulab N. Jhan do laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais / UFV pelas análises de sacarose por Cromatografia Líquida.

Aos colegas do Laboratório de Instrumentação e Quimiometria / LINQ / UFV, principalmente à Ana Paula, Patrícia, Silvéria, Alexsandro e Henrique pela ajuda no preparo das amostras para a realização das análises químicas.

Aos companheiros das quintas-feiras no Bar do Edílson, Eduardo, José Luiz, Rui de Castro, Antônio, Jorge Arruda e José Valdemir.

À secretária da Pós-Graduação do Departamento de Química, Marisa, por sua dedicação.

Enfim, a todos que nos ajudaram direta e indiretamente nesses dois anos de luta e oito anos de UFV.

BIOGRAFIA

RICARDO NATALINO, filho de Roberto Natalino e Wânia Lúcia Pimentel Natalino, nasceu aos 30 dias do mês de julho, do ano de 1978, na cidade de Manhuaçu, no estado das Minas Gerais.

Concluiu o 1º Grau, em 1993, no Colégio Tiradentes da Polícia Militar de Minas Gerais e 2º Grau, em 1996, no Colégio Tiradentes da Polícia Militar de Minas Gerais, em Manhuaçu – MG.

Em Março de 1998 ingressou no curso de Bacharelado em Química, da Universidade Federal de Viçosa. Iniciou-se na pesquisa pelo programa PIBIC/FAPEMIG (Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica) com o projeto “Separação e identificação de triacilgliceróis (TAG`s) em café por CLAE-IR (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – Detector de Índice de Refração)” de setembro 1999 a julho de 2000. Prosseguiu de agosto de 2000 a julho de 2001 com o projeto “Determinação por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas de uma coleção de álcoois similares a feromônios”, ambos no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais/DEQ/UFV sob a orientação do Prof. Gulab Newandram Jham. Colou grau, Bacharelado, em maio de 2002.

Em março de 2004 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, a nível de mestrado, da Universidade Federal de Viçosa.

Em junho de 2004 ingressou na Universidade Federal de Viçosa como Servidor Público Federal no cargo de Técnico em Laboratório. Lotação: Departamento de Química/UFV – MG.

ÍNDICE

Lista de Tabelas.....	ix
Lista de Figuras.....	x
Resumo.....	xi
Abstract.....	xiii
2. Revisão de Literatura.....	4
2.1. O cultivo da cana-de-açúcar.....	4
2.1.1.Composição química da cana-de-açúcar.....	5
2.2. Processo de fabricação do açúcar mascavo.....	6
2.2.1. Açúcar mascavo.....	6
2.3. Métodos analíticos.....	7
2.3.1. Espectroscopia no infravermelho	7
2.3.2. Espectroscopia no infravermelho próximo.....	9
2.3.3. Espectroscopia por reflectância difusa	11
2.4. Calibração Multivariada	13
2.4.1. Quimiometria.....	13
2.5. Análise das Componentes Principais (PCA).....	14
2.6. Processamento dos Dados Espectrais.....	15
2.6.1 – Dados Centrados na Média.....	15
3. Materiais e Métodos.....	16

3.1. Área de atuação.....	16
3.2. Digestão das amostras para a determinação por Absorção Atômica.....	16
3.3. Medidas analíticas.....	17
3.3.1. Análise por Espectrometria no Infravermelho próximo - NIR.....	17
3.3.2. Análise por Espectrofotômetro de Absorção Atômica. – EAA.....	17
3.3.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE.....	18
3.4. Tratamento dos dados.....	19
4. Resultados e Discussão.....	21
4.1. Espectrometria de Absorção Atômica.....	21
4.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....	24
4.3. Espectros de açúcar mascavo no infravermelho próximo.....	26
4.4. Disposição dos espectros na PCA.....	27
4.5. Influência dos metais das amostras na PCA.....	29
5. Conclusões.....	32
6. Perspectivas futuras.....	33
7. Referências.....	34

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Parâmetros de análise da Absorção Atômica.....	18
Tabela 2 – Condições de operações do cromatógrafo.....	19
Tabela 3 – Teores dos íons metálicos do açúcar mascavo claro e escuro.....	22
Tabela 4 – Teores de sacarose nas amostras de açúcar mascavo claro.....	24
Tabela 5 – Teores de sacarose nas amostras de açúcar mascavo escuro.....	25

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Fluxograma de produção de açúcar mascavo.....	7
Figura 2 – Reflectância Difusa.....	12
Figura 3 – Representação matricial da somatória de produtos dos vetores escores e pesos.....	14
Figura 4 – Representação de uma componente principal para as variáveis x_1 e x_2	15
Figura 5a – Cromatograma de uma solução padrão 2,0 mg/mL.....	25
Figura 5b – Cromatograma de uma amostra de açúcar mascavo.....	25
Figura 6 – Espectros de noventa e sete amostras de açúcar mascavo.....	26
Figura 7 – Disposição dos espectros reduzidos pela (PCA).....	27
Figura 08 - Comparação de espectros localizados em diferentes regiões da análise da PCA, com dados de espectros auto-escalonados.....	28
Figura 9a – Disposição dos escores das amostras de açúcar mascavo, considerando como variáveis os teores dos íons metálicos (Cu, Ca, Na, Fe e Mg).....	30
Figura 9b – Gráficos de pesos.....	31

RESUMO

NATALINO, Ricardo M.S., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2006.
Caracterização de açúcar mascavo aplicando Análise das Componentes Principais a dados espectrométricos. Orientador: Efraim Lázaro Reis. Conselheiros: César Reis e Jorge Luiz Collodete.

O propósito deste trabalho é a caracterização das amostras de açúcar mascavo claro (DPC) e escuro (DPE) provenientes da região de Cataguases, pela Indústria Doce Puxa-Puxa, determinando-se as principais associações destas, bem como expressar os índices de correlação entre as mesmas, baseado nos dados de espectros no infravermelho próximo, medidas analíticas e de métodos quimiométricos utilizando análise das componentes principais, que é uma técnica de análise multivariada. Os espectros de refletância difusa na região do infravermelho próximo foram obtidos usando um espectrofotômetro NIR System 6500 (Silver Spring, MD, USA) utilizando célula coarse e região de espectro de 1000 a 2500 nm, com incremento de 2nm. Para a determinação das concentrações dos metais (Cu, Ca, Na, Fe, Mg) foi utilizado o espectrofotômetro de absorção atômica da VARIAN, modelo SpectrAA-200. Para a determinação do teor de sacarose utilizou uma técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com um detector de Índice de Refração da marca Shimadzu, modelo RID – 10A. Os dados foram transferidos para o ambiente Matlab 5.3. Neste ambiente, os espectros serão pré-processados centrando na média. Em seguida o método da Análise das Componentes Principais (“Principal Component Analysis” - PCA) será utilizado para verificar a separação das amostras de açúcar mascavo. A análise de componentes principais evidenciou as características comuns e discrepantes entre os diferentes açúcares mascavos. Na disposição dos dados dos espectros na PCA é possível observar que a primeira componente principal

(PC1) explica 93,60 % da variância total dos dados, observa-se que existe a separação entre o grupo do açúcar mascavo claro (DPC) e o grupo do açúcar mascavo escuro (DPE), na primeira componente principal. Foram aplicadas a PCA à matriz de dados gerados (97 x 5) com os resultados das concentrações dos metais. O pré – processamento usado foi o auto-escalamento, onde mostrou que a primeira componente principal (PC1) explica 56,24 % da variância total dos dados, sendo que a segunda componente principal (PC2) explica 27,27 %, respectivamente. É interessante notar que as diferentes amostras, foram agrupadas entre si, de acordo com as diferenças nas concentrações dos metais encontrados.

ABSTRACT

NATALINO, Ricardo M.S., Universidade Federal de Viçosa, april de 2006.
Characterization of Brown Sugar applying Analysis of the Main Components the Spectrometric Data. Adviser: Efraim Lázaro Reis. Committee members: César Reis and Jorge Luiz Collodete.

The purpose of this work is the characterization of the samples of brown sugar, clear (DPC) and dark (DPE), from the region of Cataguases, for the Puxa-Puxa Candy Industry, determining the main associations of these, as well as expressing the indices of correlation between the same ones, based in the data of specters in the next infra-red ray, measures analytical and of chemiometric methods using analysis of the main components, that is one of the many techniques of analysis. The diffuse reflectance specters in the region of the next infra-red ray had been using a spectrophotometer NIR System 6500 (Silver Spring, MD, the USA) using cell coarse and region of the 2500 specter of 1000 nm, with increment of 2nm. For the determination of the concentrations of metals (Cu, Ca, In, Fe, Mg) atomic absorption of the VARIAN spectrophotometer, SpectrAA-200 model was used. For the determination of the text of sacarose it used a technique of Liquid Chromatography of High Efficiency with a detector of Refractive index of the Shimadzu mark, model RID - 10A. The data has been transferred to the environment Matlab 5.3. In this environment, the specters will be daily pay-processed centering in the average. After that the method of the Main Component Analysis (PCA) will be used to certify the separation of the samples of brown sugar. The main components

analysis turned evident the common and discrepant characteristics between the different brown sugar. In the disposal of the data of the specters in the PCA it is possible to observe that the first main component (PC1) explains 93,60 % of the total variance of the data, it was observed that the separation exists clearly entering the group of brown sugar (DPC) and the group of the dark brown sugar (DPE), in the first main component. The PCA to the matrix of data generated (97 x 5) with the results of the concentrations of metals had been applied. The daily pay - used processing was the auto-scheduling, where it showed respectively that the first main component (PC1) explains 56,24 % of the total variance of the data, being that the second main component (PC2) explains 27,27 %. It is interesting to notice that the different samples have been grouped between itself, in accordance with the differences in the concentrations of joined metals.

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma gramínea pertencente à espécie *Saccharum officinarum* L., originária do sudeste da Ásia onde é cultivada desde épocas remotas. Participa como matéria-prima em um elevado leque de produtos de significativa importância econômica tais como: o açúcar, o álcool (anidro e hidratado), a rapadura, o melado, a aguardente, e o resíduo de seu aproveitamento, tal como o bagaço, utilizado na produção de vapor, energia elétrica, papel, plástico biodegradável, adubo, ração animal, entre outros.

O açúcar é um alimento que faz parte da dieta de todos os povos, fornece energia de fácil e rápida assimilação e encontra no Brasil a maior produção mundial. Destina-se principalmente a adoçar bebidas e alimentos, sendo obtido a partir do beneficiamento de méis cristalizáveis da cana-de-açúcar, beterraba e a partir de outros vegetais.

A elaboração de produtos açucarados como o açúcar é prática a muito conhecida, e apesar de todo o desenvolvimento tecnológica de produção nas grandes indústrias, o produtor rural encontra uma fonte segura de receita. Pequenas unidades de industrialização da cana-de-açúcar destinadas à produção de açúcar mascavo, rapadura e melado envolvem equipamentos simples e em pequeno número, e o produtor conta ainda com a possibilidade de empregar a própria mão-de-obra familiar na produção.

A ocorrência de doenças associadas ao consumo de alimentos contendo aditivos, pesticidas, toxinas naturais ou ainda outros tipos de substâncias tóxicas

têm contribuído para aumentar a demanda por produtos mais saudáveis. Assim, a elaboração de rapadura e os chamados açúcares “brutos” vêm abocanhando uma fatia significativa do mercado. Desta forma o produtor passa a ficar mais atento aos fatores que possam contribuir para a melhoria de seu negócio, tais como a seleção da matéria-prima, o processamento, as instalações da fábrica, a qualidade da mão-de-obra e, sobretudo, as tendências de mercado.

De modo geral, as técnicas de produção de açúcar mascavo são as mesmas praticadas nos pequenos engenhos de antigamente. As mudanças que ocorrem no setor açucareiro ao longo dos anos foram em termos de aperfeiçoamento de tecnologia e equipamentos. Uma das etapas importantes do processo produtivo é a clarificação do caldo, que consiste numa série de processos ou combinações desses para remover o máximo de impurezas dissolvidas e em suspensão do caldo para a fabricação de açúcar de melhor aspecto: cor mais clara e cristalina do que os tipos escuros, que via de regra são comercializados.

Seu valor nutricional é dependente de numerosos fatores destacando-se a variedade da cana utilizada, idade, tipo de solo, características climáticas, sistema de corte e condições do processo. Entre os grupos de nutrientes essenciais devem ser citados: carboidratos, minerais, proteínas, vitaminas, ácidos graxos e água. Um estudo físico-químico da composição mostrou maior teor de sacarose, e outros denominados açúcares redutores, como a glicose e frutose, que possuem grande valor biológico para o organismo (LEHNINGER, 1995).

Encontram-se ainda, quantidades notáveis de outras espécies, entre os principais: cálcio, potássio, magnésio, ferro, fósforo, flúor, sódio, silício e cobre como também traços de selênio.

No açúcar mascavo, diferentes propriedades podem levar a uma classificação ou identificação da origem da mesma, baseado nestas propriedades, métodos univariados são inapropriados para a caracterização, devido a um número considerável de variáveis envolvidas neste sistema. Desta forma técnicas multivariadas podem dar informações relevantes que identificam a origem e podem também auxiliar na quantificação de diferentes constituintes

simultaneamente, estas técnicas podem ser baseadas nas componentes principais (Análises das Componentes Principais “PCA”, Regressão por Componentes Principais “PCR” e Regressão por Quadrados Mínimos Parciais “PLSR”) [POPPI, 2000].

O propósito deste estudo é a caracterização de açúcar mascavo, determinando-se as principais associações das amostras de açúcar mascavo, bem como expressar os índices de correlação entre as mesmas, utilizando o método das componentes principais, que é uma técnica de análise multivariada. Dentro desta perspectiva serão feitas várias análises dos constituintes orgânicos e inorgânicos deste material, permitindo-se qualificar e quantificar o material colocado no comércio da região, o que é de uma relevância significativa.

Obter dados espectrais via espectrofotometria no infravermelho próximo (NIR) e em seguida utilizar a PCA para verificar a separação das amostras de açúcar mascavo.

Determinar as concentrações dos íons metálicos (Cu, Fe, Na, Ca e Mg), utilizando espectrofotometria por absorção atômica, e em seguida utilizar a PCA.

Determinar o teor de sacarose pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Índice de Refração – CLAE-IR.

A PCA é um método que será utilizado na separação e interpretação de informações de dados multivariados, obtidos nas técnicas analíticas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O cultivo da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta que apresenta exigências bem definidas quanto às condições climáticas para seu cultivo. A cultura desenvolve-se bem onde o clima se caracteriza por uma estação chuvosa de intensa radiação solar seguida de período seco com menor intensidade luminosa. A temperatura ideal para a germinação é de 32°C e para o crescimento a temperatura ideal situa-se entre 20 e 28 °C. Já para a fase de maturação a temperatura ótima está na faixa de 12 a 20°C, o que influencia nos teores de sacarose da cana (CASAGRANDE, 1991).

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande versatilidade no meio rural, sendo utilizada desde a forma mais simples como ração animal, até a mais nobre como o açúcar. Na cana nada se perde: do caldo obtêm-se o açúcar, a cachaça, o álcool, a rapadura e outros; do bagaço, o papel, a ração, o adubo ou o combustível, das folhas a cobertura morta ou ração animal. Assim, a indústria da cana-de-açúcar, difusa e interiorana, apresenta-se vocacionada a nuclear sistemas integradas de produção alimentar, não alimentar e energético, envolvendo atividades agrícolas e industriais, e ainda atua com vantagens comparativas em relação às outras matérias-primas, pelo fato de ser intensiva em mão-de-obra e o País ter os menores custos de produção do mundo (VASCONCELOS, 2002).

No Brasil, o plantio da cana-de-açúcar iniciou-se em São Vicente, hoje São Paulo, no ano de 1522, trazida da ilha da Madeira por Martim Afonso de Souza. Porém, foi em Pernambuco que ela floresceu, encontrando condições ideais para seu desenvolvimento nas terras úmidas em massapé. A produção de açúcar era feita em pequenos engenhos, movidos à tração humana, que mais tarde evoluíram para tração animal e engenhos d'água. Somente a partir do século XIX seriam introduzidos em Pernambuco os engenhos a vapor e haveria uma revolução no comércio e indústria do açúcar (BAYNA, 1978).

Atualmente, o setor da cana-de-açúcar apresenta números expressivos para economia brasileira: o País possui 302 unidades produtoras de açúcar e álcool, sendo que deste total, 218 estão localizadas na Região Centro-Sul e as 84 restantes, na Região Norte-Nordeste. A cadeia produtiva da cana-de-açúcar gera cerca de 1,2 milhões de empregos diretos no País e 600 mil postos de trabalhos somente no Estado de São Paulo (MAPA, 2004).

Segundo dados da safra de 2000/2001 colheram-se 327,7 milhões de toneladas de cana e foram produzidos 16 milhões de toneladas de açúcar. O total de área plantada em cana-de-açúcar foi de aproximadamente 4,84 milhões de hectares e a produtividade média dos canaviais atingiu 67,6 toneladas de cana por hectare. Os dados mostram que o consumo per capita de açúcar foi registrado em 52 kg/ano. Os maiores produtores de açúcar são o Brasil, produzindo cerca de 30% do total mundial, seguido pela Índia, China, Cuba, México, Austrália, Tailândia e outros (UNICA, 2004).

2.1.1. Composição química da cana-de-açúcar

A parte morfológica da cana-de-açúcar de interesse comercial é o colmo, que possui sacarose industrializável. A composição química dos colmos é extremamente variável em função de diversos fatores como: idade fisiológica da cultura, condições climáticas durante o desenvolvimento e maturação, propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo, tipo de cultivo etc. A qualidade da cana para a indústria não pode ser avaliada simplesmente pelo seu

teor de sacarose, ainda que seja o parâmetro mais importante, mas por todos os fatores citados, que têm conseqüências diretas da composição tecnológica da cana (PARANHOS, 1987).

A cana-de-açúcar, segundo os tecnologistas, é constituída de fibra e caldo. A fibra é constituída principalmente de celulose, hemicelulose, lignina, pentosana. O caldo é uma solução impura e diluída de sacarose, constituído de água (75 a 82)%, e de sólidos solúveis (18 a 25)%, sendo esses últimos divididos em açúcares (18%) e outras substâncias de natureza orgânica (1%) e inorgânica (0,5%). Os açúcares são a sacarose (17%), a glicose e a frutose que perfazem 1,0 % do total. Os demais componentes são constituídos de substâncias nitrogenadas (proteínas, aminoácidos), gorduras, ceras, pectinas, ácidos e materiais corantes (clorofila, sacaretina e antocianinas). As substâncias inorgânicas, representadas pelas cinzas, têm como principais componentes a sílica, potássio, fósforo, cálcio, sódio, magnésio, enxofre, alumínio e outros (DELGADO e CESAR, 1977).

2.2. Processo de fabricação do açúcar mascavo

2.2.1. Açúcar mascavo

O açúcar mascavo era até o século XIX o principal derivado da cana-de-açúcar. Durante o século XX a produção desse tipo de açúcar declinou, sendo substituída lentamente pelo açúcar branco, cristal ou refinado. Na década de 50 a produção de açúcar mascavo se tornou insignificante, sendo produzido artesanalmente somente para consumo doméstico do próprio produtor. Entretanto, a partir da década de 90 a demanda por açúcar mascavo ressurgiu e a sua produção voltou a crescer.

O açúcar mascavo é produzido a partir do caldo de cana extraído pelo esmagamento dos colmos maduros da cana-de-açúcar. Este açúcar não é submetido a processos mais elaborados de clarificação do caldo, ou seja, não há operação suficiente para remover impurezas que poderiam estar presentes no caldo. Assim, o produto tem aspecto marrom claro a escuro, é denso e pesado,

com sabor semelhante à rapadura moída (CHAVES, 1998). A Figura 1 mostra o fluxograma de produção deste açúcar.

O açúcar mascavo é composto de sacarose, frutose, glicose, potássio, cálcio, magnésio, fósforo, sódio, ferro, manganês, zinco, vitaminas A, B₁, B₁₂, B₅, C, D₆ e E. Portanto, o açúcar é considerado um alimento rico em sais minerais e vitaminas, sendo muitas vezes recomendado na dieta de pessoas anêmicas (SILVA, 2003).

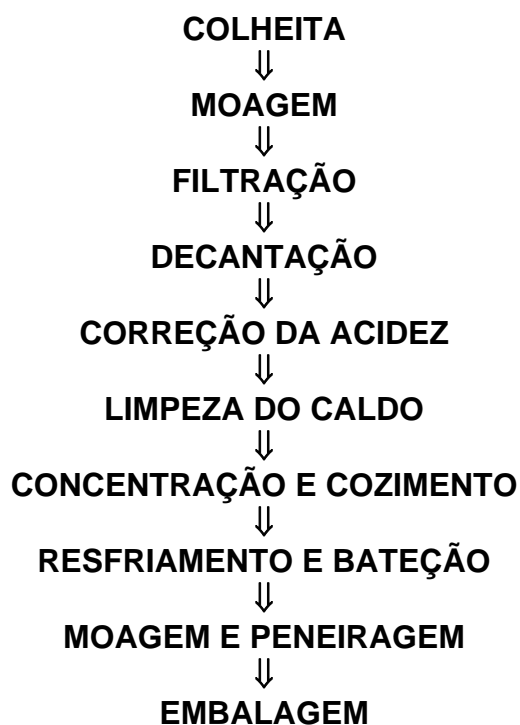


Figura 1. Fluxograma de produção de açúcar mascavo.

2.3. Métodos Analíticos

2.3.1. Espectroscopia no infravermelho

A região do infravermelho do espectro eletromagnético pode ser dividida em três partes principais (Handbook, 1994):

- **Infravermelho próximo** (região das harmônicas) 0,8 – 2,5 μm (12500 – 4000 cm^{-1})
- **Infravermelho médio** (região de vibração – rotação) 2,5 – 50 μm (4000 – 200 cm^{-1})
- **Infravermelho distante** (região de rotação) 50 – 1000 μm (200 – 10 cm^{-1})

A região mais interessante para fins analíticos está entre 2,5 – 25 μm (faixa que vai de 4000 a 400 cm^{-1}). Os materiais ópticos como o vidro e quartzo absorvem fortemente no infravermelho e, por isso, os instrumentos de medida nesta região diferem dos usados nesta região do espectro eletrônico (UV/Vis). No infravermelho, os espectros têm origem nos diferentes modos de vibração e rotação das moléculas. Em comprimentos de onda inferiores a 25 μm , a radiação tem energia suficiente para alterar os níveis de energia vibracional das moléculas e o processo é acompanhado por mudanças nos níveis de energia rotacional (MENDHAM, 2002).

As bandas de absorção, geralmente, são caracterizadas por unidades de números de ondas ($\bar{\nu}$) que são expressas em centímetros recíprocos (cm^{-1}). Utilizam-se também comprimentos de onda (λ) medidos em micrômetros (μm). A relação entre estas quantidades é dada pela equação abaixo:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c}, \text{ onde } c \text{ é a velocidade da luz.}$$

Para que um modo de vibração apareça no espectro de infravermelho e absorva a radiação incidente, é essencial que o momento de dipolo mude durante a vibração.

Em muitos dos modos normais de vibração de uma molécula, os principais participantes são os átomos em ligação química.

Estes modos de vibração são característicos dos grupos químicos da molécula e são úteis na identificação dos compostos, principalmente no estabelecimento da estrutura de uma substância desconhecida.

Os espectros de infravermelho podem ser usados para identificar compostos puros ou para a detecção e identificação de impurezas. As principais aplicações referem-se a compostos orgânicos, principalmente porque a água, solvente mais importante para os compostos inorgânicos, absorve fortemente acima de 1,5 μm . Além disso, os compostos inorgânicos têm, freqüentemente, bandas largas, enquanto os compostos orgânicos têm numerosas bandas agudas. De certa forma, o espectro de absorção no infravermelho pode ser olhado como a impressão digital do composto.

O espectro de uma mistura de compostos é essencialmente a soma dos espectros dos componentes, desde que não ocorra associação, dissociação, polimerização ou formação de compostos. Para detectar impurezas em uma substância, seu espectro pode ser comparado com o espectro da substância pura. As impurezas apresentam outras bandas no espectro. O caso mais favorável é quando as impurezas têm grupos característicos que não existem no constituinte principal (MENDHAM, 2002).

2.3.2. Espectroscopia no infravermelho próximo

A região do infravermelho próximo compreende a faixa do espectro que se estende da parte final do comprimento de onda na faixa de 800 nm até 2500 nm. Bandas de absorção nesta região são harmônicas ou combinações das bandas fundamentais de vibrações por estiramento. As ligações usualmente envolvidas são: C-H, C-N, N-H e O-H. Pelo fato das bandas serem harmônicas e de combinação, a absorção nesta região é 10 a 100 vezes menos intensa que no infravermelho médio (Drennen e Kraemer, 1991; Workman, 1996). Devido a esta pouca intensidade, e também pelo fato de existirem combinações e forte sobreposição das bandas, os dados de infravermelho próximo são de difícil interpretação, o que deixou a aplicação analítica desta técnica no esquecimento por um longo tempo. Não havia mecanismos para uma rápida interpretação dos espectros (McClure, 1994).

No início dos anos 80 com a popularização dos microcomputadores e o surgimento de uma nova área na química, a quimiometria (Haaland e Thomas, 1988), o infravermelho próximo voltou a ser objeto de estudo em química analítica. A quimiometria trata da aplicação de métodos matemáticos e estatísticos, assim como de lógica matemática, a problemas de origem química.

Com a possibilidade aberta da interpretação dos espectros pela quimiometria, todas as vantagens da espectroscopia no infravermelho próximo começaram a ser exploradas. Como nesta região do espectro aparecem bandas relativas a ligações entre carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio, isso faz com que esta técnica possa ser utilizada em um grande número de aplicações. Também outra grande vantagem é que a instrumentação necessária é relativamente simples, com a maioria dos componentes ópticos sendo os mesmos utilizados para a região do visível. Isso acaba por produzir equipamentos com preços reduzidos em relação aos utilizados para o infravermelho médio.

Assim, o sucesso e aceitação da espectroscopia no infravermelho próximo como uma ferramenta para análises qualitativas e quantitativas recentemente é em grande parte devido ao crescente aprimoramento na instrumentação que possibilita a produção e aquisição de dados utilizados na estimativa de modelos matemáticos que descrevem bem os sistemas químicos estudados. Tem sido salientado que esta metodologia analítica constitui-se basicamente da junção do “hardware” com o programa “software”, onde é impossível dissociar a instrumentação do tratamento dos dados.

Como a absorção no infravermelho próximo é menos intensa, existe ainda a possibilidade de obterem-se espectros de amostras em meio aquoso e em sistemas biológicos, o que abre todo um leque de possíveis aplicações.

Na utilização de técnicas quimiométricas, o processo de modelagem emprega um grupo de amostras padrão, no qual o computador encontra uma correlação entre uma propriedade de interesse (concentração, por exemplo) com o respectivo espectro. Como muitas variáveis (muitos valores de absorvância a vários comprimentos de onda distintos) do espectro serão utilizadas para

estabelecer a relação, tem-se assim uma calibração multivariada (Martens e Naes, 1991).

A espectroscopia no infravermelho próximo associado com o uso de métodos de calibração multivariada é uma determinação indireta. Torna-se imprescindível à utilização de um grupo de amostras cuja propriedade de interesse seja determinada inicialmente por métodos padrões, que servirão para a construção do modelo matemático (Workman e Mobley, 1996; Willians e Norris, 1990).

2.3.3. Espectroscopia por reflectância difusa

Entre os mecanismos de medida na região do infravermelho, a reflectância tornou-se uma importante ferramenta para a determinação de constituintes de amostras na forma de pequenas partículas sólidas. Medidas por reflectância são realizadas onde os espectros de sólidos e de líquidos são obtidos a partir da radiação refletida na superfície da amostra (MENDHAM, 2002). Elas são utilizadas quando a amostra não pode ser destruída, ou é extremamente difícil obter os espectros por técnicas de absorção.

Na reflectância a referência tomada é um corpo branco que reflete praticamente toda a radiação incidente. No entanto o caminho percorrido pela luz não pode ser controlado e ele varia de acordo com o tamanho da partícula e o índice de refração. Reflectância é definida como sendo a razão das potências ou fluxos (luminosos) da radiação refletida (I_R) e da radiação de referência (I_0) numa superfície.

$$R = I_R / I_0$$

As medidas absolutas da reflectância dependem das condições experimentais, do ângulo de incidência e de reflexão, da espessura da amostra, da temperatura, do estado da superfície da amostra etc. A reflectância é, portanto, medida comparando-se a quantidade medida com uma referência, tal como brometo de potássio (KBr), sulfato de bário ($BaSO_4$), óxido de magnésio, etc.

A reflectância, de acordo com o tipo de reflexão, pode ser:

- a. Total: quando a reflexão é do tipo misturada;
- b. Regular ou Especular, onde a reflexão segue as leis da óptica de reflexão e a razão R é dada pela radiação regularmente refletida em relação ao fluxo incidente;
- c. Difusa.

A reflectância difusa ocorre quando a radiação penetra na camada superficial das partículas (Fig. 2), excitando de modo vibracional a molécula a ser analisada, então, tem-se um espalhamento em todas as direções.

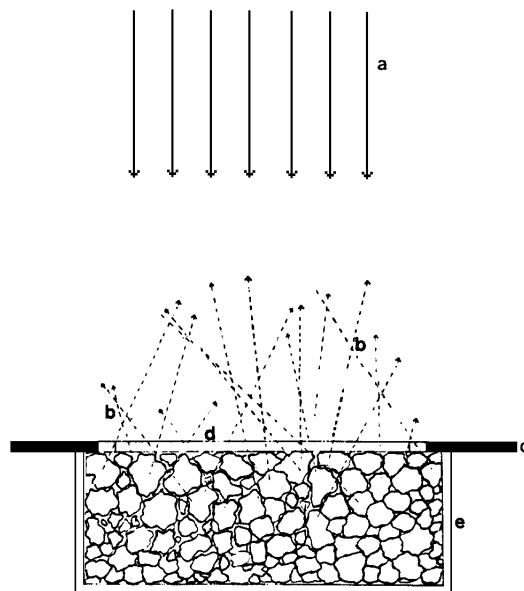


Figura 2. Reflectância difusa: **a** = luz incidente, **b** = luz refletida difusamente,

c = capa da cela de plástico, **d** = janela e **e** = cela de armazenamento da amostra.

Este tipo de reflexão foi escolhido por ser aplicado sem destruição da amostra, que possuem um alto grau de espalhamento da radiação, em que se utiliza o feixe de radiação de baixa energia espalhado pela amostra sólida no ponto de reflexão.

A reflectância difusa descreve uma parte da energia que escapa da superfície de uma amostra. A energia refletida emerge aleatoriamente da amostra em ângulos de aproximadamente 180° . Esta energia refletida difusamente é que carrega a informação suficiente contida na amostra, para obtenção do espectro na região do infravermelho (MENDHAM, 2002).

2.4. Calibração Multivariada

2.4.1. Quimiometria

O termo quimiometria (do inglês *chemometrics*) foi proposto no final dos anos 70, para descrever as técnicas e operações associadas com a manipulação matemática e interpretação de dados químicos. Com o passar dos anos, com a popularização dos computadores e facilidade da sua aquisição e uso, muitos químicos passaram a ter como objeto de estudo e pesquisa, o desenvolvimento e utilização de ferramentas matemáticas e estatísticas para extrair maior informação dos dados. Isso acabou por gerar procedimentos e domínio de informações que não seriam possíveis, ou não teriam sentido, sem o conhecimento dessas ferramentas matemáticas para análise de dados. Sistemas multivariados são amplamente preferidos e utilizados, pois através dos mesmos, pode-se medir muitas variáveis simultaneamente, sendo então necessários vários recursos matemáticos.

A quimiometria é a parte da química que utiliza métodos matemáticos e estatísticos, como aqueles baseados em lógica matemática, aplicados a problemas de origem química para definir ou selecionar as condições de medidas e experiências, e permitir a obtenção do máximo de informações a partir da análise dos dados químicos (BRIGUENTHI, 2000).

2.5. Análise das Componentes Principais (PCA)

A Análise das Componentes Principais (PCA, do inglês "Principal Component Analysis") (GELADI, 1986) é uma ferramenta quimiométrica que pode ser utilizada na visualização de propriedades de amostras. Comumente é empregada, para identificação de grupos distintos, na seleção de amostras e na construção de modelos para calibração multivariada. O objetivo da PCA é reduzir o número de variáveis envolvidas na modelagem, através de combinação linear estabelecida entre os dados.

A PCA é um método para decompor uma matriz de dados \mathbf{X} , como uma soma de matrizes de posto igual a um, como pode ser visto na equação:

$$\mathbf{X} = \mathbf{M}_1 + \mathbf{M}_2 + \mathbf{M}_3 + \dots + \mathbf{M}_h$$

Sendo o posto um número que expressa a verdadeira dimensão de uma matriz.

Assim essas novas matrizes de posto igual a 1, são produtos de vetores chamados escores \mathbf{t}_h e pesos \mathbf{p}_h . Os escores e os pesos podem ser calculados par a par por um processo iterativo, mostrado na equação:

$$\mathbf{X} = \mathbf{t}_1 \mathbf{p}_1 + \mathbf{t}_2 \mathbf{p}_2 + \dots + \mathbf{t}_h \mathbf{p}_h$$

Esta equação pode ser representada de uma maneira geral para expressar a somatória dos vetores em matrizes, como mostra a equação:

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}'$$

De uma forma mais clara, esta soma de vetores pode ser vista por uma representação gráfica de matrizes dos vetores. Como mostra a figura 03.

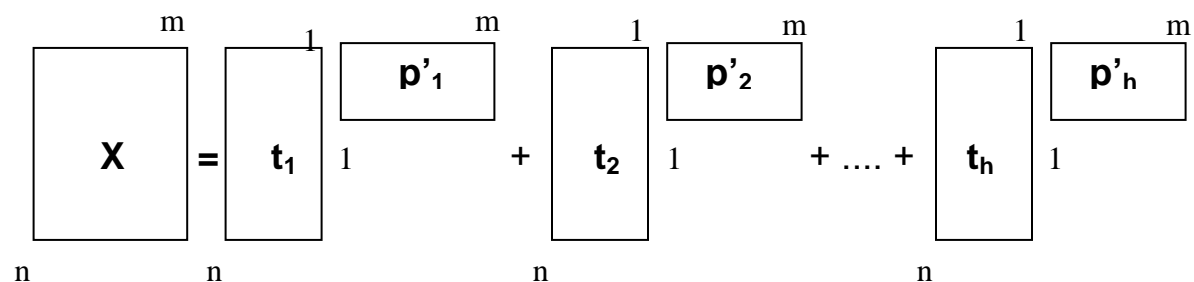


Figura 3. Representação matricial da somatória de produtos dos vetores escores e pesos.

Uma melhor exemplificação da PCA pode ser vista na figura 4. Onde os vetores \mathbf{t}_h e \mathbf{p}'_h estão representados no plano de duas variáveis x_1 e x_2 . A figura 4, representada por A mostra uma componente principal que é a reta que aponta para a direção de maior variabilidade das amostras da figura 4, representada por B aqui numeradas de 1 a 6. Na figura 4, representada por A estão representados os pesos (\mathbf{p}_1 e \mathbf{p}_2) que são os cossenos dos ângulos do vetor de direção, na figura 4, representada por B estão representados os escores (\mathbf{t}_1 e \mathbf{t}_2) que são as projeções das amostras na direção da componente principal.

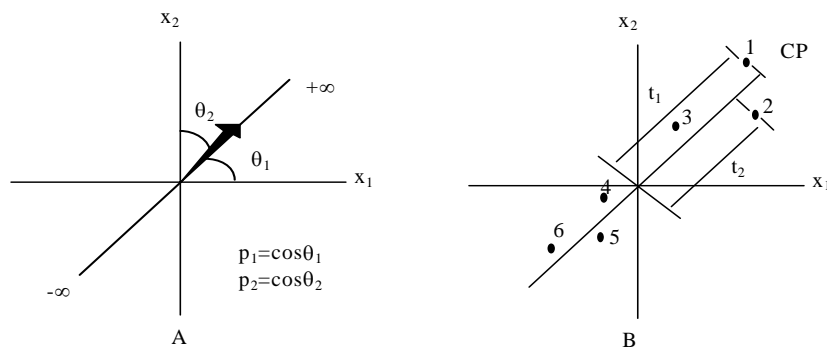


Figura 4. Representação de uma componente principal para as variáveis x_1 e x_2 : A) representação dos pesos (\mathbf{p}_1 e \mathbf{p}_2); B) representação dos escores (\mathbf{t}_1 e \mathbf{t}_2).

2.6. Processamento dos Dados Espectrais

2.6.1. Dados Centrados na Média

A transformação mais comum é centrar os dados na média. Esta operação foi feita na matriz de dados de concentração (y) e na matriz de dados das medidas espectrais (x). Isso corresponde a subtrair o valor de cada elemento da coluna pelo valor médio dos elementos dessa coluna, resultando numa matriz, onde todas as colunas têm a média zero. Esta operação geralmente reduz a dimensão do modelo (THOMAS, 1994).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Área de atuação

Foram obtidas 97 amostras de açúcar mascavo da região de Cataguases, pela Indústria Doce Puxa-Puxa. Sendo, 47 amostras de coloração mais clara (DPC) e 50 amostras de coloração mais escura (DPE). A identificação dos açúcares foi feita por mês de processamento. As amostras estão agrupadas da seguinte forma:

01 a 10 e 51 a 60 - processadas no mês de fevereiro;

11 a 20 e 61 a 70 - processadas no mês de março;

21 a 30 e 71 a 80 - processadas no mês de abril;

31 a 40 e 81 a 90 - processadas no mês de maio;

41 a 50 e 91 a 97 - processadas no mês de junho.

3.2. Digestão de amostras para a Espectrofotometria por Absorção Atômica

As medidas de massa foram feitas em balança analítica da marca SHIMADZU LIBROR AEX - 200B, com precisão de 0,1 mg. Foi pesado aproximadamente 0,5000 g de amostra diretamente nos tubos digestores.

As amostras foram submetidas a uma digestão prévia usando-se 7,0 mL de HNO₃ 65% e 1,0 mL de H₂O₂ 30%, concentrado em bloco digestor a 150 °C até não haver mais desprendimento de NO₂ (vapor marrom). Neste ponto, ainda em aquecimento, adicionou-se 5,0 mL de HNO₃ concentrado até clarificação da solução. Após a redução do volume para cerca de 2,0 mL, filtrou-se em papel de filtro, INLAB tipo 30 para a retenção de qualquer eventual sólido existente e recolheu-se o filtrado em balão volumétrico de 100 mL, completado com água deionizada.

3.3. Medidas analíticas

3.3.1. Análise por Espectrometria no Infravermelho Próximo - NIR

Os espectros foram obtidos no equipamento NIR System 6500 (Silver Spring, MD, USA) utilizando célula coarse e região de espectro de 1100 a 2500 nm, com incremento de 2 nm, O programa Matlab versão 5.0 foi utilizado para estabelecer os modelos quimiométricos.

Antes de iniciar as leituras espectrais das amostras, estas foram moídas, para que as partículas ficassem mais homogêneas. Em seguida as amostras de açúcar foram colocadas na cela para leitura espectral e compactadas para eliminar problemas de leituras ocorridos pelo efeito de superfície. O equipamento NIR System, é calibrado pelo fabricante não necessitando assim de leitura do branco antes de qualquer análise.

3.3.2. Análise por Espectrofotometria de Absorção Atômica - EAA

Para a determinação das concentrações dos íons metálicos foi utilizado o espectrofotômetro de absorção atômica da VARIAN, modelo SpectrAA-200 equipado com corretor de absorção de fundo. Os extratos foram aspirados diretamente em chama: ar-acetileno (2200 °C) e acetileno-óxido nitroso (2700 °C).

Os comprimentos de onda usados para as determinações dos 5 elementos são mostrados na *Tabela 1*. As curvas analíticas definidas para cada elemento foram: cobre de 0,03 a 10 mg L⁻¹; cálcio de 0,01 a 3 mg L⁻¹; sódio de 0,01 a 2 mg L⁻¹; ferro de 0,06 a 15 mg L⁻¹; magnésio de 0,003 a 1 mg L⁻¹ e mostraram-se lineares em toda a faixa de trabalho.

Tabela 1. Parâmetros de análise da Absorção Atômica.

Metal	λ (nm)	L.D.($\mu\text{g L}^{-1}$)	C.L.(mA)	Combustível	A	B	r
Cobre	422,7	3	4	C ₂ H ₂ /Ar	-0,00005	0,0413	0,9996
Cálcio	324,7	1	10	C ₂ H ₂ /N ₂ O	-0,00008	0,0385	0,9994
Sódio	589,6	0,2	5	C ₂ H ₂ /Ar	0,05	0,3486	0,9748
Ferro	248,3	6	5	C ₂ H ₂ /Ar	0,0058	0,0243	0,9986
Magnésio	285,2	0,3	4	C ₂ H ₂ /Ar	0,0025	0,0904	0,9981

L.D. = Limite de detecção; C.L. = Corrente da lâmpada de catodo oco; A = coeficiente angular da regressão; B = coeficiente linear da regressão; r = coeficiente de correlação da regressão; número de pontos das curvas analíticas = 5.

3.3.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE

Para a construção do modelo de regressão foi usado um padrão de sacarose (99,84%) grau para análise (Vetec) na preparação da curva de regressão. Foram preparadas, por pesagem em balança analítica, cinco soluções padrão em concentrações de 0,005 a 0,05 g 10 mL⁻¹. O padrão de sacarose foi dissolvido em água deionizada em balão volumétrico calibrado de 10 mL.

A determinação de sacarose utilizando a técnica de Cromatografia Líquida realizada envolve três etapas: a preparação da solução de açúcar em água deionizada, a retirada de impurezas da solução por filtração e a determinação cromatográfica com detector de Índice de Refração.

Para a preparação da solução da amostra foram pesadas $0,010 \pm 0,002$ g de açúcar, o qual foi transferido quantitativamente, com água deionizada, para um balão volumétrico de 10 mL. Posteriormente, foi completado o volume do balão volumétrico com água deionizada.

A solução foi filtrada em papel de filtro, INLAB tipo 30 após a homogeneização.

O cromatógrafo utilizado contém uma bomba da marca Shimadzu, modelo LC – 6AD, um forno da marca Shimadzu, modelo CTO – 10AS VP, um detector de Índice de Refração da marca Shimadzu, modelo RID – 10A e uma coluna da marca BIO – RAD, modelo Aminex HPX – 87P.

Para minimizar erros na medida dos volumes e funcionamento do aparelho, a temperatura da sala foi estabilizada em $15^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

O açúcar (sacarose) foi determinado nas amostras de açúcar mascavo claro e escuro empregando-se as seguintes condições expostas na *Tabela 3*. Após a detecção por Índice de Refração a quantificação foi realizada por padronização externa utilizando-se concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 5,0 mg/mL para sacarose respectivamente.

Tabela 2. Condições de operações do cromatógrafo.

Coluna	Bio-Rad (Aminex HPX - 87P)
Temperatura da Coluna	80°C
Forno	Shimadzu (CTO - 10AS VP)
Fase Móvel	Água deionizada e desgaseificada
Fluxo	1.2 mL/min
Detector	Shimadzu (RID - 10A)
Pressão	90 Kgf
Bomba	Shimadzu (LC - 6AD)

3.4. Tratamento dos dados

Os arquivos contendo os dados espectrais no formato ASCII (Código Padrão Americano para Troca de Informações), foram dispostos numa matriz de dados (97 x 700), que contém os valores das leituras espectrais no respectivo comprimento de onda (número de onda). Em seguida, os dados foram transferidos para o ambiente Matlab 5.3 (SANTOS, 1998). Neste ambiente, os espectros foram pré-processados centrando na média. Em seguida o método da PCA foi utilizado para verificar a separação das amostras de açúcar mascavo.

Da mesma forma os dados dos teores dos metais (Cu, Na, Ca, Fe e Mg) foram dispostos numa matriz e carregados no ambiente Matlab, sendo em seguida auto-escalonados e submetidos à análise pela PCA.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Espectrofotometria de Absorção Atômica

Para a determinação dos teores dos íons metálicos foi utilizado o espectrofotômetro de absorção atômica da VARIAN, modelo SpectrAA-200.

As soluções estoque foram preparadas, a partir de soluções padrão dos metais, água deionizada e ácido nítrico de grau analítico, em concentrações de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$. As soluções dos metais de trabalho foram preparadas em diferentes concentrações dependendo do metal a ser determinado em solução de ácido nítrico 20% (v/v), por diluição das soluções estoque. Um branco foi preparado com solução de ácido nítrico 20% (v/v) em água deionizada.

Os resultados das concentrações dos referidos íons metálicos nas várias amostras de açúcar mascavo são mostrados na Tabela 03. Estes resultados serão utilizados na análise das componentes principais (PCA) para melhor visualização.

Tabela 3. Teores dos íons metálicos do açúcar mascavo claro e escuro.

Amostras	Mês Proces.	Cobre	Cálcio	Sódio	Ferro	Magnésio
mg/Kg						
DPC 01	fevereiro	7,665	631,4	335,7	31,59	505,4
DPC 02	fevereiro	9,284	623,9	273,5	35,32	515,3
DPC 03	fevereiro	9,166	605,6	239,4	38,04	522,8
DPC 04	fevereiro	11,14	601,0	250,3	35,98	536,2
DPC 05	fevereiro	12,42	586,2	248,5	37,90	543,7
DPC 06	fevereiro	11,93	595,0	247,2	69,22	550,8
DPC 07	fevereiro	13,45	600,4	250,2	34,85	590,8
DPC 08	fevereiro	13,70	587,8	263,0	46,87	595,8
DPC 09	fevereiro	15,59	573,3	240,8	48,24	611,8
DPC 10	fevereiro	17,29	646,7	257,3	35,35	514,2
DPC 11	março	19,12	630,5	249,2	34,40	508,9
DPC 12	março	18,76	622,0	265,7	30,46	541,6
DPC 13	março	21,81	620,8	257,6	36,78	564,7
DPC 14	março	21,02	596,8	262,1	28,25	559,2
DPC 15	março	22,37	600,4	263,5	59,67	601,9
DPC 16	março	24,61	580,3	241,7	36,24	594,2
DPC 17	março	8,569	591,2	288,3	31,73	607,0
DPC 18	março	11,82	545,7	233,8	32,15	612,4
DPC 19	março	11,38	558,7	242,0	31,02	641,5
DPC 20	março	11,11	616,2	224,3	24,11	501,2
DPC 21	abril	12,79	639,2	238,8	32,67	552,2
DPC 22	abril	10,58	650,0	210,4	27,26	537,9
DPC 23	abril	10,88	638,1	207,6	29,00	551,6
DPC 24	abril	11,73	641,0	213,5	19,91	569,0
DPC 25	abril	12,13	629,7	210,5	23,08	558,0
DPC 26	abril	13,71	611,5	216,0	19,05	577,3
DPC 27	abril	14,69	601,4	240,8	26,41	594,1
DPC 28	abril	14,19	580,6	220,5	18,13	596,2
DPC 29	abril	16,87	582,1	239,0	20,29	610,3
DPC 30	abril	19,14	649,1	223,2	30,05	503,0
DPC 31	maio	18,05	620,5	217,9	35,99	514,9
DPC 32	maio	20,53	609,6	219,1	23,04	538,7
DPC 33	maio	19,28	597,9	220,3	28,05	525,3
DPC 34	maio	5,567	600,5	222,3	23,94	542,9
DPC 35	maio	7,458	589,3	245,7	24,71	570,3
DPC 36	maio	11,33	562,4	212,5	22,56	582,7
DPC 37	maio	16,40	554,4	209,2	29,90	591,9
DPC 38	maio	14,89	538,0	208,1	27,23	609,3
DPC 39	maio	13,57	536,8	208,6	24,50	620,2
DPC 40	maio	17,97	639,7	221,0	24,32	497,9
DPC 41	junho	16,34	599,6	211,4	64,69	493,1
DPC 42	junho	17,86	596,9	216,5	23,57	500,6
DPC 43	junho	18,88	593,2	214,7	21,72	519,3
DPC 44	junho	18,24	590,7	211,8	21,79	539,3
DPC 45	junho	20,03	581,8	202,6	19,48	554,2
DPC 46	junho	20,44	567,0	209,7	16,98	513,0
DPC 47	junho	20,92	576,9	210,2	16,77	543,7
DPE 48	fevereiro	7,891	2272	433,6	22,43	603,3
DPE 49	fevereiro	8,136	2284	248,8	63,77	453,9
DPE 50	fevereiro	9,804	2087	248,6	75,27	466,3

Continua

Amostras	Mês Proces.	Cobre	Cálcio	Sódio	Ferro	Magnésio
mg/Kg						
DPE 51	fevereiro	1,395	2249	222,0	79,42	475,1
DPE 52	fevereiro	0,381	3134	192,7	74,83	599,4
DPE 53	fevereiro	2,831	2286	856,6	30,32	632,7
DPE 54	fevereiro	2,852	1867	182,3	71,82	462,9
DPE 55	fevereiro	2,985	1955	202,6	73,84	478,5
DPE 56	fevereiro	4,376	2097	167,7	80,10	503,2
DPE 57	fevereiro	3,536	2515	204,2	69,50	491,4
DPE 58	março	3,347	3014	186,0	83,29	523,1
DPE 59	março	4,732	2284	186,2	78,01	504,0
DPE 60	março	4,234	2495	192,0	74,01	482,2
DPE 61	março	5,199	2238	195,7	73,54	421,7
DPE 62	março	6,480	2414	196,9	94,13	454,4
DPE 63	março	7,128	2531	200,7	70,33	458,0
DPE 64	março	9,283	2389	195,9	68,55	468,7
DPE 65	março	9,491	2563	174,2	71,91	472,2
DPE 66	março	10,19	2469	207,6	76,21	484,2
DPE 67	março	12,08	2844	469,6	28,36	638,1
DPE 68	abril	3,501	2488	220,9	74,22	503,3
DPE 69	abril	3,628	2482	205,1	70,68	495,4
DPE 70	abril	5,150	2262	619,6	29,92	603,9
DPE 71	abril	5,254	2600	699,9	21,86	633,3
DPE 72	abril	5,682	2667	442,8	21,38	639,5
DPE 73	abril	6,596	2484	190,3	73,08	487,8
DPE 74	abril	6,860	2505	206,2	71,87	458,5
DPE 75	abril	7,850	2461	178,2	62,06	441,4
DPE 76	abril	9,903	2558	218,9	76,18	435,6
DPE 77	abril	11,43	2715	200,5	64,51	456,1
DPE 78	maio	10,54	2420	191,4	76,72	435,2
DPE 79	maio	9,697	2388	206,9	71,44	417,5
DPE 80	maio	9,175	2343	177,3	71,98	390,4
DPE 81	maio	11,68	2372	192,1	73,93	399,1
DPE 82	maio	9,379	2455	176,1	69,82	400,0
DPE 83	maio	9,662	2360	216,8	75,78	394,5
DPE 84	maio	11,09	2447	199,9	73,84	402,0
DPE 85	maio	2,165	2650	187,8	67,46	454,5
DPE 86	maio	4,477	2488	230,3	66,74	423,4
DPE 87	maio	3,899	2408	212,2	74,19	463,0
DPE 88	junho	5,202	2399	178,4	65,79	471,9
DPE 89	junho	6,124	2389	209,5	67,58	421,6
DPE 90	junho	7,772	2359	204,8	72,23	496,7
DPE 91	junho	7,861	2480	177,9	65,98	509,2
DPE 92	junho	4,611	1481	206,5	65,76	542,8
DPE 93	junho	5,399	2390	184,2	69,94	564,4
DPE 94	junho	7,262	2354	190,1	72,19	546,6
DPE 95	junho	7,008	2256	274,1	71,98	528,3
DPE 96	junho	8,576	2349	187,4	75,32	550,8
DPE 97	junho	9,554	2418	171,1	78,14	567,5

4.2 – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

As condições de medida dos parâmetros cromatográficos, como a eficiência, devem ser mantidas constantes e específicas, pois modificações de composição da fase móvel, vazão da fase móvel, do composto teste e sistema cromatográfico, ocasionam alterações nos valores dos parâmetros cromatográficos.

O açúcar (sacarose) foi determinado nas amostras de açúcar mascavo claro e escuro e a quantificação foi realizada por padronização externa utilizando-se concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 5,0 mg/mL para sacarose respectivamente.

Os teores de sacarose quantificados por CLAE estão listados nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Teores de sacarose nas amostras de açúcar mascavo claro.

Amostras	% Sacarose	Amostras	% Sacarose	Amostras	% Sacarose	Amostras	% Sacarose
DPC 01	89,94	DPC 13	47,88	DPC 25	48,85	DPC 37	48,03
DPC 02	93,89	DPC 14	40,77	DPC 26	52,49	DPC 38	45,16
DPC 03	87,86	DPC 15	38,99	DPC 27	48,80	DPC 39	45,99
DPC 04	79,97	DPC 16	55,99	DPC 28	51,88	DPC 40	49,49
DPC 05	77,42	DPC 17	45,33	DPC 29	43,48	DPC 41	36,39
DPC 06	85,56	DPC 18	47,72	DPC 30	47,96	DPC 42	46,71
DPC 07	81,25	DPC 19	45,57	DPC 31	47,42	DPC 43	39,85
DPC 08	92,80	DPC 20	58,02	DPC 32	48,15	DPC 44	50,24
DPC 09	47,87	DPC 21	48,57	DPC 33	46,01	DPC 45	59,68
DPC 10	89,75	DPC 22	67,37	DPC 34	47,15	DPC 46	53,51
DPC 11	47,79	DPC 23	51,31	DPC 35	48,09	DPC 47	47,37
DPC 12	44,13	DPC 24	68,20	DPC 36	46,30		

Tabela 5. Teores de sacarose nas amostras de açúcar mascavo escuro.

Amostras	% Sacarose	Amostras	% Sacarose	Amostras	% Sacarose	Amostras	% Sacarose
DPE 48	39,55	DPE 61	58,16	DPE 74	62,26	DPE 87	47,72
DPE 49	59,41	DPE 62	74,89	DPE 75	51,64	DPE 88	45,98
DPE 50	55,27	DPE 63	53,63	DPE 76	43,05	DPE 89	44,27
DPE 51	63,89	DPE 64	45,48	DPE 77	47,13	DPE 90	44,72
DPE 52	41,58	DPE 65	58,17	DPE 78	82,08	DPE 91	46,30
DPE 53	50,77	DPE 66	67,46	DPE 79	68,16	DPE 92	48,06
DPE 54	57,82	DPE 67	50,76	DPE 80	56,88	DPE 93	46,06
DPE 55	53,31	DPE 68	62,66	DPE 81	60,07	DPE 94	47,51
DPE 56	58,15	DPE 69	63,73	DPE 82	65,58	DPE 95	49,74
DPE 57	64,19	DPE 70	55,14	DPE 83	57,76	DPE 96	49,63
DPE 58	55,56	DPE 71	57,60	DPE 84	55,16	DPE 97	53,82
DPE 59	58,12	DPE 72	54,76	DPE 85	46,43		
DPE 60	56,91	DPE 73	59,35	DPE 86	58,98		

Os cromatogramas ilustrados pelas *Figuras 5a e 5b* mostram um típico exemplo do padrão e de uma amostra de açúcar mascavo. Observa-se que apenas a sacarose foi detectada, devido provavelmente pela especificidade do método de análise ou devido à concentração da sacarose ser bem mais elevada do que os outros açúcares.

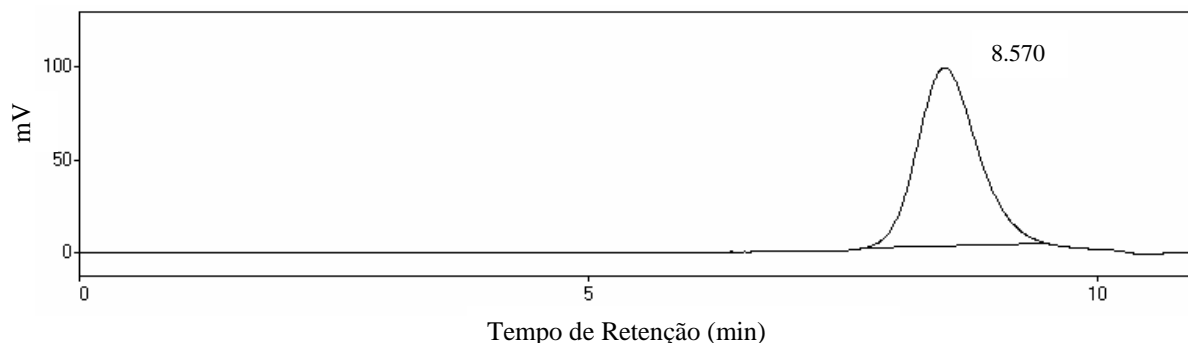


Figura 5a. Cromatograma de uma solução padrão 2,0 mg/mL.

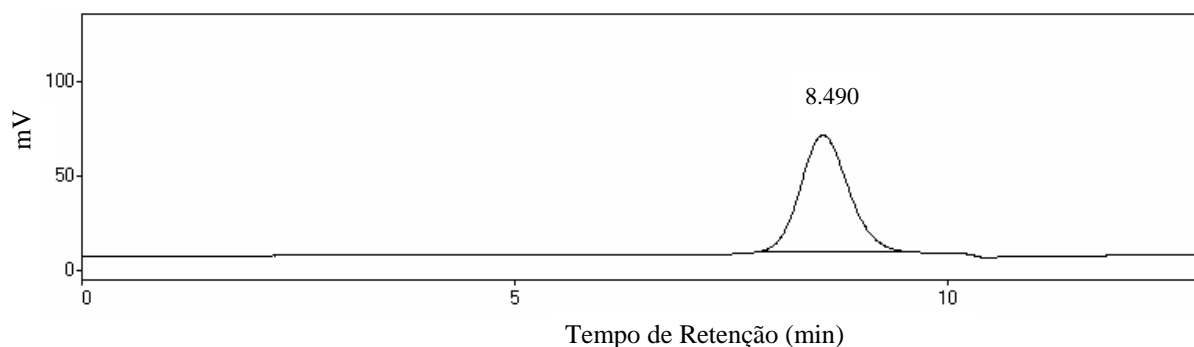


Figura 5b. Cromatograma de uma amostra de açúcar mascavo..

4.3 - Espectros de Açúcar Mascavo no Infravermelho Próximo

Depois de obtidos os espectros das amostras de açúcar mascavo no NIR, como descrito na parte experimental, os espectros foram pré – processados para melhor análise. Vale a pena ressaltar que o pré – processamento de sinais é uma etapa importante, quando se trabalha com espectros de infravermelho próximo, principalmente obtidos por reflectância difusa. Em alguns casos, esta é uma etapa que pode consumir um longo tempo, como no tratamento dos dados aqui considerados. Os espectros de reflectância dos açucares foram inicialmente, convertidos em logaritmo do inverso da reflectância ($\log 1/R$), para que seja semelhante a absorvância e obedeça a lei de Beer. Além disso, depois de convertidos em $\log 1/R$ vários pré – processamentos de sinais foram testados, e os modelos obtidos com os pré – processamentos foram avaliados. O pré – processamento usado foi o auto-escalamento.

A figura 6 mostra os espectros obtidos na região do infravermelho próximo (1100 a 2500 nm)..

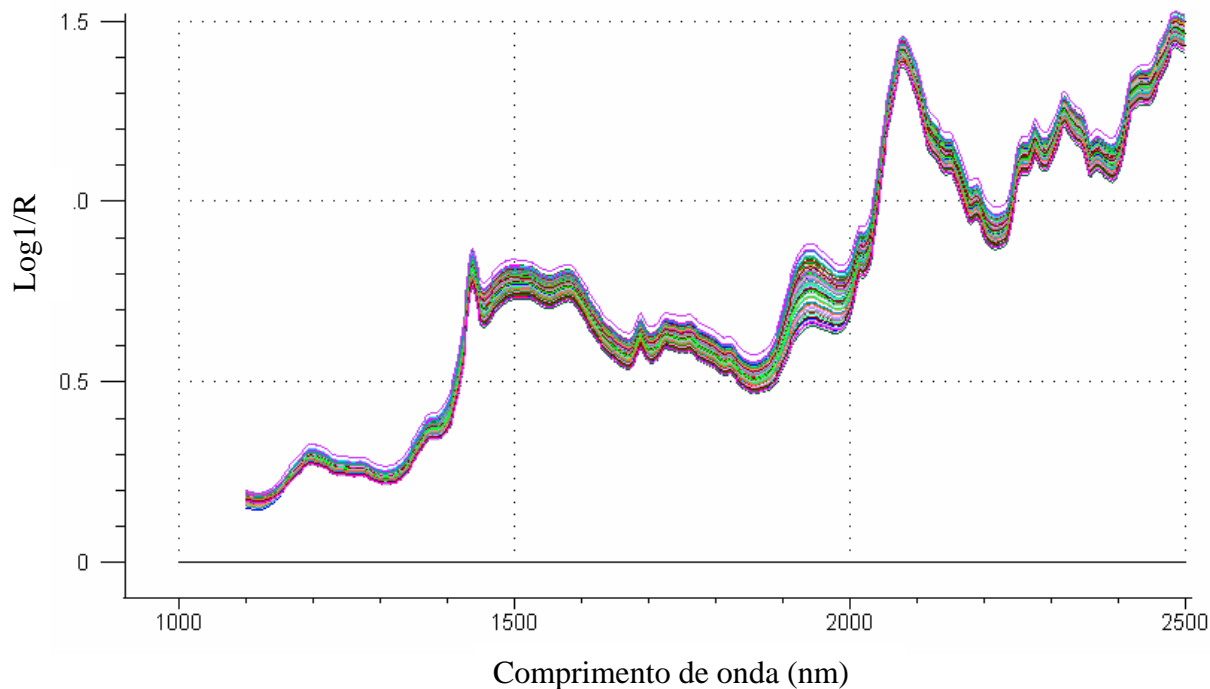


Figura 6. Espectros das noventa e sete amostras de açúcar mascavo.

4.4 – Disposição dos Espectros na PCA

Como uma primeira tentativa de explorar o conjunto de dados, os espectros de reflectância estão representados em espaço de duas dimensões no gráfico da PCA, mostrado na Figura 7. O PCA é um método bem conhecido e bem estabelecido, para redução de dados e visualização, porém seus resultados são difíceis de interpretar quando se tem não linearidades presentes ou quando a percentagem de variância explicada não é suficientemente alta, o que não é o caso dos dados apresentados na Figura 7, onde se tem 98,36 % de informação nas duas primeiras componentes principais.

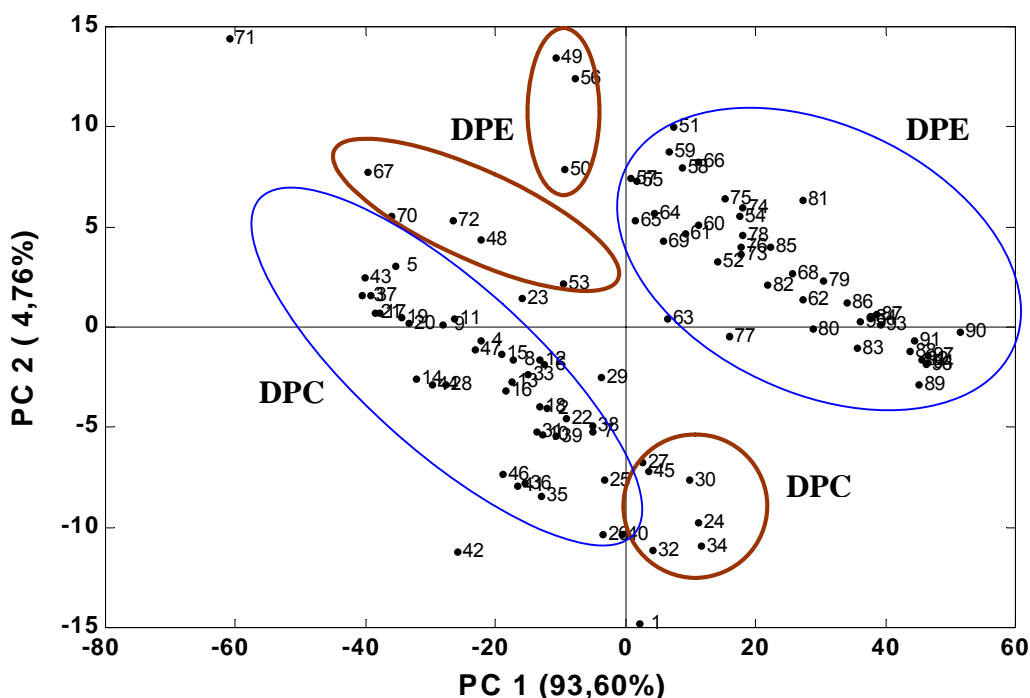


Figura 7. Disposição dos espectros reduzidos pela (PCA).

Na disposição das amostras no gráfico da PCA é possível observar que a primeira componente principal (PC1) explica 93,60 % da variância total dos dados, observa-se que existe a separação entre o grupo do açúcar mascavo claro (DPC) e o grupo do açúcar mascavo escuro (DPE), na primeira componente principal.

Enquanto a segunda componente principal (PC2) explica 4,76 % da variância total dos dados.

Os grupos (círculos azuis) apresentam subgrupos (círculos vermelhos), ou seja, subgrupos que possui algumas propriedades espectrais, que o diferencia dos demais. Baseado nesta constatação pode-se observar a comparação de espectros localizados em diferentes regiões da análise da PCA na Figura 8, que há dois espectros diferentes pertencentes ao grupo do açúcar mascavo DPE (85) e o grupo de açúcar mascavo DPC (47), nas regiões de aproximadamente 2050 nm e 1200 nm. Em que, se observa que a banda que aparece nesta região no espectro de número 47, praticamente está ausente no espectro de número 85, o que leva a concluir que esta separação se dá por este fato.

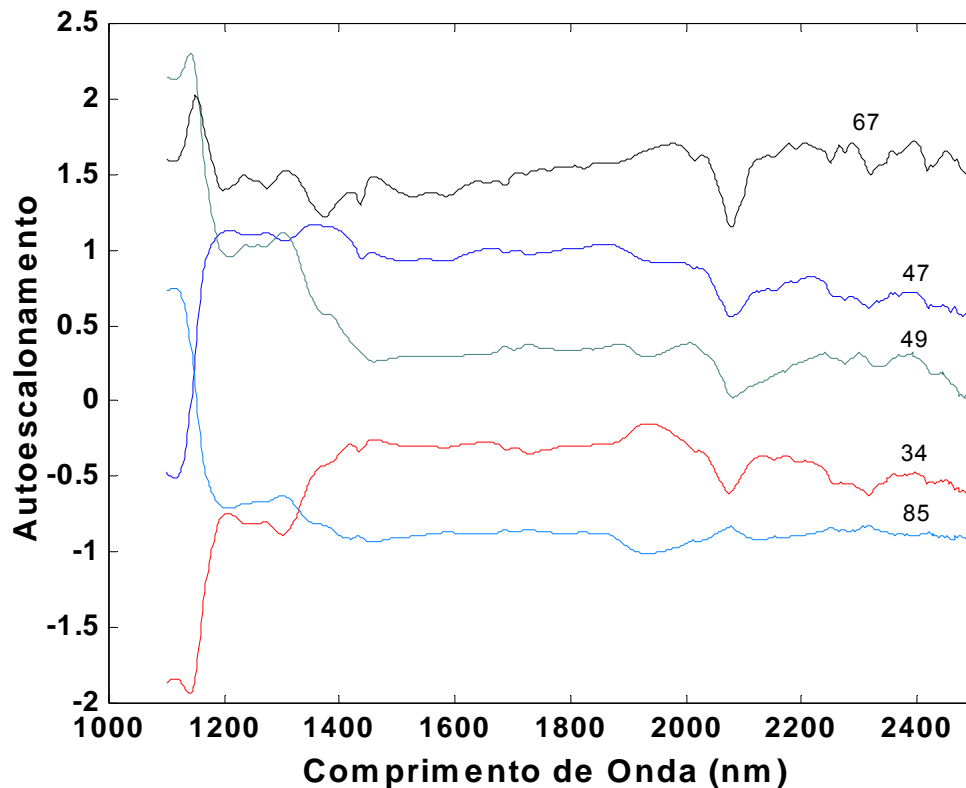


Figura 8. Comparação de espectros localizados em diferentes regiões da análise da PCA, com dados de espectros auto-escalados.

Neste caso, um subgrupo do açúcar mascavo DPC (34) se assemelha com o grupo de açúcar mascavo DPC (47), apresentando uma diferença acentuada próxima a 1400 nm.

Os subgrupos de açúcar mascavo DPE (49) e DPE (67), se assemelham ao grupo de açúcar mascavo DPE (85), na região próxima a 1200 nm e se diferenciam na região próxima a 2050 nm. Estes subgrupos se assemelham ao grupo de açúcar mascavo DPC (47) na região próxima a 2050 nm e se diferenciam na região próxima a 1200 nm.

Na realidade como o grupo e subgrupo das amostras DPC encontram-se mais agrupadas praticamente os dois formam um único grupo.

4.5 – Influência dos Metais das Amostras na PCA

O método de análise das componentes principais (PCA) proporciona um estudo multivariado dos dados experimentais obtidos facilitando a visualização da correlação entre, amostras e variáveis.

A influência dos íons metálicos nas amostras de açúcar mascavo na PCA é apresentada na figura 9, onde se tem 83,51 % de informação nas duas primeiras componentes principais.

Foi aplicada a PCA à matriz de dados gerados, constituída de 97 amostras e 5 metais (97 x 5) com os resultados das concentrações totais dos íons metálicos. O pré – processamento usado foi o auto-escalamento. Neste pré – processamento centra-se os dados na média e divide-se cada um pelo desvio-padrão, de forma que todas as variáveis (Cu, Ca, Na, Fe e Mg) passam a ter a mesma importância, ou seja, o mesmo peso. Após o processamento, calculam-se os escores dos dados e os pesos.

A representação gráfica das componentes principais permite a caracterização das amostras baseadas nos teores dos íons metálicos presentes nos açúcares mascavo. Os gráficos dos dois primeiros eixos (PCs) que estão associados a cada variável (Cu, Ca, Na, Fe e Mg) são mostrados nas figuras 9a e 9b. A PCA mostrou que a primeira componente principal (PC1) explica 56,24 % da

variância total dos dados, sendo que a segunda componente principal (PC2) explica 27,27 %, respectivamente.

Pelos gráficos de escores e pesos (Figura 9a e 9b) observa-se que existe a separação entre o açúcar mascavo claro (DPC) e o açúcar mascavo escuro (DPE), na primeira componente principal.

Enquanto a segunda componente principal separa as amostras do próprio grupo por apresentarem teores diferentes de metais, tabela 3 e separa o grupo DPC das seis amostras DPE que apresentam características semelhantes às amostras do grupo DPC.

Na primeira componente principal as amostras DPE são as que têm menores valores de escores (Figura 9a) e estão separadas das demais por apresentar os menores teores dos metais Na, Mg e Cu, como pode ser visto no gráfico dos pesos na figura 9b, que são os metais que mais se destacam nesta componente principal (Figura 9b). As seis amostras de DPE apresentam valores de escores mais positivos nas PC1 e PC2 (Figura 9a). Comparando com os “pesos” (Figura 9b) observa-se que isto se deve ao fato de que estas amostras são aquelas que têm maiores teores de Na e Mg. As amostras DPC têm escores altamente positivos na PC1 e negativos na PC2 (Figura 5a), atribuindo o Cu como o metal mais importante para sua separação.

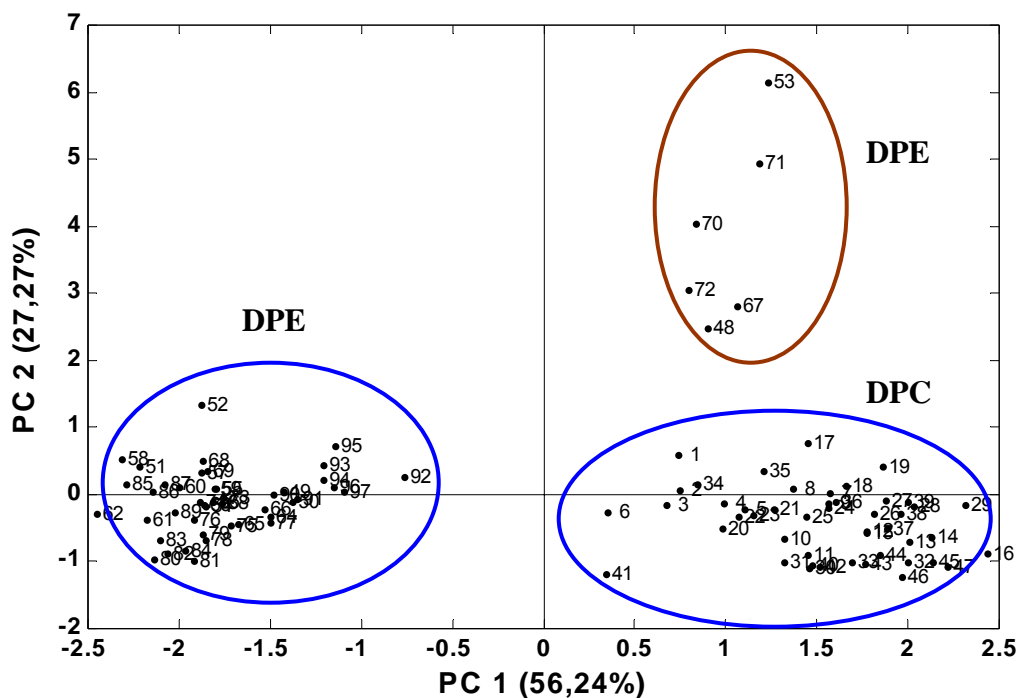


Figura 9a. Disposição dos escores das amostras de açúcar mascavo, considerando como variáveis os teores dos íons metálicos (Cu, Ca, Na, Fe e Mg).

O subgrupo DPE, formado pelas amostras 48, 53, 67, 70, 71 e 72, na análise das componentes principais dos metais, também apresenta um subgrupo para a análise das componentes principais dos espectros de infravermelho próximo. Portanto o estudo mostra que existe correlação entre os teores de metais e absorção na região do infravermelho próximo. O que não poderia ser evidenciado sem a ajuda da PCA.

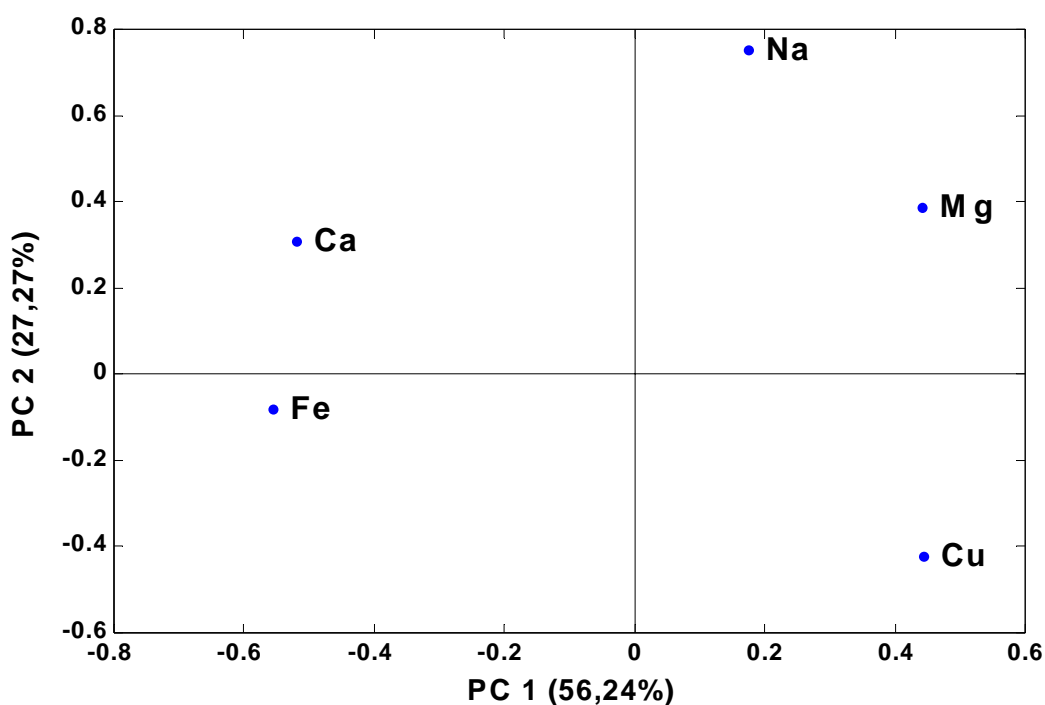


Figura 9b. Gráfico de pesos

Estas duas componentes principais descrevem 83,51 % da variância total dos dados. É interessante notar que as diferentes amostras, foram agrupadas entre si, de acordo com as diferenças nas concentrações dos metais encontrados.

5. CONCLUSÕES

Baseando-se nos estudos pode-se concluir que a combinação entre análise multivariada e a espectroscopia NIR é uma maneira apropriada para análises qualitativas rápidas e estimulando o desenvolvimento de novos métodos que são relativamente simples apesar de trabalhar com um volume de dados relativamente grande.

A determinação dos teores dos metais em açúcar mascavo é importante para garantir a qualidade e autenticidade dos mesmos. Os dados obtidos pela técnica analítica usando o espectrofotômetro de absorção atômica para a quantificação dos metais pode ser usada com uma ferramenta de classificação, possibilitando um controle de padrões e identificando amostras de diferentes origens.

A análise de componentes principais evidenciou as características comuns e discrepantes entre os diferentes açúcares mascavo. A análise de comparação de espectros localizados em diferentes regiões pela PCA, com dados de espectros auto-escalonados possibilitou a visualização das diferenças e semelhanças no comportamento espectral dos diferentes açúcares mascavo, já que estes espectros podem ser usados para a diferenciação e caracterização de amostras de açúcares mascavo baseados nos teores dos metais estudados.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como perspectivas futuras têm-se a possibilidade de realização de análises de açúcar mascavo de locais diferentes, para caracterização de padrões.

Para realizar a quantificação destas amostras propõe-se a utilização de calibração multivariada como a técnica dos Mínimos Quadrados Parciais (PLS) e redes neurais artificiais.

7. REFERÊNCIAS

BAYNA, C. *A cana na pequena indústria*. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro – RJ, v. 80, n. 6, p. 10-20, 1978.

BRIGUENTHI, CARLA REGINA G. *Avaliação das características físico-químicas de ácidos húmicos em diferentes etapas da vermicompostagem, através de técnicas quimiométricas de reconhecimento de padrões*. **Viçosa, MG: UFV, 2000**. 163 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 2000.

CASAGRANDE, A. A. *Tópicos de morfologia e fisiologia da cana-de-açúcar*. Jaboticabal: **FUNEP**, 1991, 180p.

CHAVES, J. B. P. *Como produzir rapadura, melado e açúcar mascavo*. **CPT-Centro de Produções Tecnológicas**, Viçosa, 1998, 120p.

DELGADO, A. A.; CESAR, M. A. A. *Elementos de tecnologia e engenharia de açúcar de cana*. **Departamento de Tecnologia Rural-ESALQ**, Piracicaba – SP, v. 1, 1977, 363p.

D. M. HAALAND e E. V. THOMAS. *Quantitative infrared-analysis of borophosphosilicate films using multivariate statistical-methods*. **Analytical Chemistry** 60 (11): 1208-1217 JUN 1 1988.

GELADI, P., KOWALSKI, B. R. – *Partial Least Squares Regression: A Tutorial* – **Anal. Chim. Acta**, 185: 1-17, 1986.

Handbook of Chemistry and Physics, 75 th ed., **CRC Press, Boca Raton FL**, 1994.

J. J. WORKMAN JR., P. R. MOBLEY, B. R. KOWALSKI e R. BRO. *Interpretive spectroscopy for near infrared*. **Applied Spectroscopy Reviews** 31 (3): 251-320 1996.

LEHNINGER, A. L.: NELSON, D. L. & COX, M. M. – *Princípios de bioquímica* – São Paulo: **Ed. Sarvier**, 1995.

K. J. DRENNEN, E. G. KRAEMER, R. A. LODER. *Advances and perspectives in near-infrared spectrophotometry*. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 22 (6): 443-475 1991.

MAPA – *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretária de Produção*, Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>, Acesso em: novembro de 2004.

MARTENS, H., NAES, T. *Extended multiplicative signal correction and spectral interference subtraction - new preprocessing methods for near-infrared spectroscopy*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 9 (8): 625-635 1991.

MENDHAM, J: DENNEY, R. C.: BARNES, J. D. & THOMAS, M. *Análise Química Quantitativa*. **VOGEL** . 6ª ed. Rio de Janeiro: Ed. LTC, 2002.

PARANHOS, S. B. *Cana-de-açúcar: cultivo e utilização*. **Fundação Cargil**, Campinas – SP, v. 1, 1987, 431p.

P. WILLIAMS e K. NORRIS, *Near-infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*, **American Association of Cereal Chemists Inc.**, Minnesota, USA (1990).

POPPI, RONEI JESUS. *Métodos de calibração multivariada em determinações quantitativas no infravermelho próximo*. **UNICAMP**. Parte do memorial para concurso no Instituto de Química. 2000.

SANTOS, R. J. *Introdução ao Matlab*. 1998. [on-line]. Disponível em: <http://www.mat.ufmg.br/~regi/topicos/intmatl.html>. Acesso em: 29/08/2005.

SILVA, F. C. et al. *Pequenas indústrias rurais de cana-de-açúcar: melaço, rapadura e açúcar mascavo*: **Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília, 2003, 155p.

THOMAS, E.V. *A Primer on multiplicative Calibration*, **Analytical Chemistry**, 66, p. 795A – 804A, 1994.

UNICA – *União da Agroindústria Canavieira de São Paulo*, Disponível em: <http://www.unica.com.br>, Acesso em: novembro de 2004.

VASCONCELOS, J. N. *Derivados da cana-de-açúcar*. **STAB: açúcar, álcool e subprodutos**, v. 20, n. 3, p. 16-18, 2002.

W. F. MCCLURE, *Near-infrared spectroscopy - the giant is running strong.*
Analytical Chemistry, 66 (1): A43-A53 JAN 1 1994.