

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

ANDRÉ MACHADO RECH

**AVALIAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COMBINADA A
ANÁLISE MULTIVARIADA PARA CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DE
QUALIDADE DE BEBIDAS SABORIZADAS A BASE DE SOJA**

Porto Alegre, 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

ANDRÉ MACHADO RECH

**AVALIAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COMBINADA A
ANÁLISE MULTIVARIADA PARA CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DE
QUALIDADE DE BEBIDAS SABORIZADAS A BASE DE SOJA**

Trabalho de conclusão apresentado junto à atividade de ensino “Projeto Tecnológico” do Curso de Química Industrial, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química Industrial.

Prof. Dr. Marco Flôres Ferrão
Orientador

Porto Alegre, 2014

AGRADEÇO ao meu orientador pela paciência, dedicação e empenho. Aos meus queridos pais Maria Júlia e Nadir pelo amor, dedicação e por valorizarem a importância da educação. Às minhas irmãs Simone, Raquel e Juliana pelo carinho e por acreditarem sempre em mim. À minha namorada Carla pelo apoio e companheirismo nas horas mais difíceis. Aos colegas e amigos Camila e Fabio.

RESUMO

A cultura agrícola brasileira que mais cresceu nas últimas décadas, correspondendo a 49% da área plantada em grãos do país, é a soja. Conseqüentemente, o setor de alimentos à base de soja vem crescendo ao longo dos anos, e a produção de bebidas a base de soja é a linha na qual mais se tem investido. Apesar do mercado dos produtos de soja estar em expansão, poucos métodos de controle de qualidade para este seguimento vem sendo desenvolvidos. Por este motivo, métodos de avaliação são necessários para caracterizar e definir aspectos de qualidade dos produtos a base de soja. Neste contexto o presente trabalho aborda o uso da espectroscopia no infravermelho combinada à análise multivariada para caracterização e controle de qualidade de bebidas saborizadas a base de soja. Para tanto, técnicas quimiométricas de análises multivariadas como a análise hierárquica de agrupamentos (HCA) e a análise por componentes principais (PCA) foram utilizadas em dados obtidos por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier empregando reflexão total atenuada (FTIR-ATR). Amostras comerciais de bebidas a base de soja, bem como amostras com adição crescente de água até 25% v/v foram utilizadas neste estudo. Os resultados da análise multivariada (HCA e PCA) permitiram identificar amostras que foram adulteradas com água a partir da amostra original em teores acima de 5%, bem como a classificar a amostras por marca e por tipo de suco de fruta. Com base nos resultados alcançados esta metodologia analítica é promissora para o controle de qualidade das bebidas a base de soja, tanto em laboratórios de alimentos, como na produção industrial.

Palavras-chave: Soja. Alimentos a base de soja. Bebidas a base de soja. Espectroscopia no infravermelho. Análise multivariada. Análise hierárquica de agrupamento (HCA), análise por componentes principais (PCA).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma de produção de bebidas a base de soja.....	10
Figura 2 – Representação simplificada da análise por ATR.....	14
Figura 3 – Espectrofotômetro FT-IR Spectrum 400 da Perkin Elmer.	23
Figura 4 – Espectros FTIR-ATR para todas as amostras na faixa de 1899 – 900 cm^{-1}	25
Figura 5 – Gráfico da derivada dos espectros FTIR-ATR para todas as amostras na faixa de 1899 – 900 cm^{-1}	26
Figura 6 – Dendograma obtido para os dados espectrais com primeira derivada.....	27
Figura 7 – Gráfico de escores PC1 x PC3 para os dados espectrais de 1899-1400 cm^{-1} corrigidos com MSC e centrados na média.....	28
Figura 8 – Gráfico de escores PC1 x PC3 para os dados espectrais de 1899-1400 cm^{-1} corrigidos com MSC e centrados na média.....	29
Figura 9 – Gráfico de escores PC1 x PC2 para os dados espectrais de 1399-1150 cm^{-1} corrigidos com MSC e centrados na média.....	30
Figura 10 – Gráfico de escores PC2 x PC3 para os dados espectrais de 1149-1025 cm^{-1} centrados na média.....	32
Figura 11 – Gráfico de escores PC1 x PC2 para os dados espectrais de 1149-900 cm^{-1} centrados na média.....	33
Figura 12 – Gráfico de escores PC1 x PC2 para os dados espectrais de 1147-1086 cm^{-1} corrigidos com MSC e centrados na média.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Soja em números (2013/14).	8
Tabela 2 – Regiões Espectrais do Infravermelho.	12
Tabela 3 - Identificação das amostras.....	22
Tabela 4 – Identificação das amostras preparadas e percentual de água adicionado a partir das amostras originais em %.	23
Tabela 5 – Composições das amostras estudadas conforme os rótulos des suas respectivas embalagens.....	35
Tabela 6 – Reagentes para análise de proteína pelo método Kjeldahl modificado. ...	37
Tabela 7 – Reagentes e consumíveis para o método glicídio totais expresso em glicose.	37
Tabela 8 – Quantidade de Reagentes e Custos para o método Kjeldahl para analisar 100 amostras.....	38
Tabela 9 – Quantidades de Reagentes, consumíveis e custos para o método glicídio totais expressa em glicose, para analisar 100 amostras.	39
Tabela 10 – Materiais necessários para análise por Infravermelho para analisar 100 amostras.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATR – Reflexão Total Atenuada

BBS – Bebidas a Base de Soja

EHS – Extrato hidrossolúvel de Soja

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FIR – Infravermelho distante

FTIR – Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

HCA – Análise Hierárquica de Agrupamentos

IR – Espectroscopia no infravermelho

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MIR – Infravermelho Médio

MSC - Correção de Espalhamento Multiplicativo

NIR – Infravermelho Próximo

PC – Componente Principal

PCA – Análise por Componentes Principais

PI – Proteína Isolada de soja

USDA – United States Department of Agriculture

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
1.1	A Soja	8
1.2	Alimentos a Base de Soja	9
1.2.1	<i>Produção das Bebidas a Base de Soja</i>	10
1.3	Espectroscopia no Infravermelho	11
1.3.1	<i>Espectroscopia de Reflexão Total Atenuada (ATR)</i>	12
1.4	Técnicas Quimiométricas de Análise Exploratória	14
1.4.1	<i>Análises por Componentes Principais (PCA)</i>	14
1.4.2	<i>Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA)</i>	15
2	SITUAÇÃO ATUAL	17
3	OBJETIVOS	20
4	PROPOSTA TECNOLÓGICA	21
5	METODOLOGIA	22
5.1	Materiais e Métodos	22
6	RESULTADOS E DISCUSSÕES	25
6.1	Separação das amostras em função da água adicionada.....	28
6.2	Separação das amostras em função da marca	29
6.3	Separação das amostras em função do suco	31
6.4	Outras considerações.....	32
7	AVALIAÇÃO DE CUSTOS	36
7.1	Comparações de técnicas de análise.....	36
8	CONCLUSÕES	41
9	SUGESTÕES PARA CONTINUIDADE DO TRABALHO	42
	REFERÊNCIAS	43
	REFERÊNCIAS CONSULTADAS	46

1 INTRODUÇÃO

1.1 A SOJA

A soja (*Glycine max (L.) Merrill*) equivale a aproximadamente 70% de todas as sementes oleaginosas produzidas no mundo e constitui a oleaginosa de maior expressão econômica entre os países produtores e exportadores.¹

No Brasil, a soja é a cultura agrícola que mais cresceu nas últimas três décadas e corresponde a 49% da área plantada em grãos do país. Firmou-se como um dos produtos mais destacados da agricultura nacional e na balança comercial. O grão é componente essencial na fabricação de rações animais e na alimentação humana e encontra-se em franco crescimento. A indústria nacional transforma, por ano, cerca de 30,7 milhões de toneladas de soja, produzindo 5,8 milhões de toneladas de óleo comestível e 23,5 milhões de toneladas de farelo proteico.²

Atualmente os Estados Unidos são os maiores produtores de soja, sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial como mostra a Tabela 1 a seguir.

Tabela 1 – Soja em números (2013/14).

País	Produção/milhões de toneladas
Estados Unidos	91,39
Brasil	86,70
Argentina	54,00
China	12,20
Outros	40,72
Total	285,01

Fonte: *United States Department of Agriculture (USDA)*, 2014.³

A soja pode ser considerada um alimento completo, pois, têm em sua composição proteínas (38%), carboidratos (27%), lipídios (19%), umidade (11%) e cinzas (5%), que contém vitaminas, sais minerais e fibra.⁴ Ela também é uma importante fonte de fibras dietéticas e isoflavonas. Assim ela pode originar diversos produtos para alimentação humana como soja cozida, alimentos dietéticos, farinha não desengordurada, manteiga de soja, flocos de soja e bebidas à base de soja, dentre outros. Todos estes produtos possuem o apelo funcional, ou seja, a proposta de uma alimentação saudável.¹

Os produtos a base de soja podem ser divididos em quatro grupos.⁵ Produtos não desengordurados, que incluem a farinha torrada integral, o leite de soja e o extrato de soja, estes produzidos através da farinha desengordurada. Eles contêm todos os nutrientes da soja, excluindo-se quase sempre a casca; Produtos do farelo desengordurado, como farinhas e farelos resultam da trituração dos grãos e remoção do óleo; contêm cerca de 40 a 54% de proteínas, podendo ser grosso, médio e fino. Originam-se de farinhas os concentrados, que contêm pelo menos 65% de proteínas ou isolados, que são produtos mais refinados possuindo mais de 90% de proteína; Produtos do óleo bruto incluem-se o óleo comestível, margarinas e lectina; E por fim, alimentos naturais, que podem ser fermentados, como molho de soja ou os não fermentados, como grão fresco verde, grão seco, leite de soja e tofu. A partir do leite de soja é produzido o tofu (queijo de soja) e o iogurte de soja.⁶

A soja também se constitui em alternativa para a fabricação do biodiesel, combustível capaz de reduzir em 78% a emissão dos gases causadores do efeito estufa na atmosfera.²

1.2 ALIMENTOS A BASE DE SOJA

A soja rompeu os limites dos públicos específicos, como vegetarianos ou alérgicos ao leite de vaca, e sua presença na dieta do consumidor aumentou muito nos últimos anos, com a evolução tecnológica, melhora do sabor, fazendo parte de um grande número de alimentos industrializados.⁶ Hoje já são encontrados no comércio os mais variados alimentos que tem como base a soja, desde bebidas a uma linha completa de embutidos, como quibe e salsichas, que buscam atrair tanto o público vegetariano como os que buscam por uma alimentação mais saudável.

Este crescimento se deve também aos fatores que promoveram o interesse e a utilização crescente da soja na indústria de alimentos como a contribuição da soja e seus derivados em benefício à saúde; melhoramento do processo tecnológico da utilização de soja; crescimento da produção mundial de soja; menor teor de gorduras saturadas.⁶

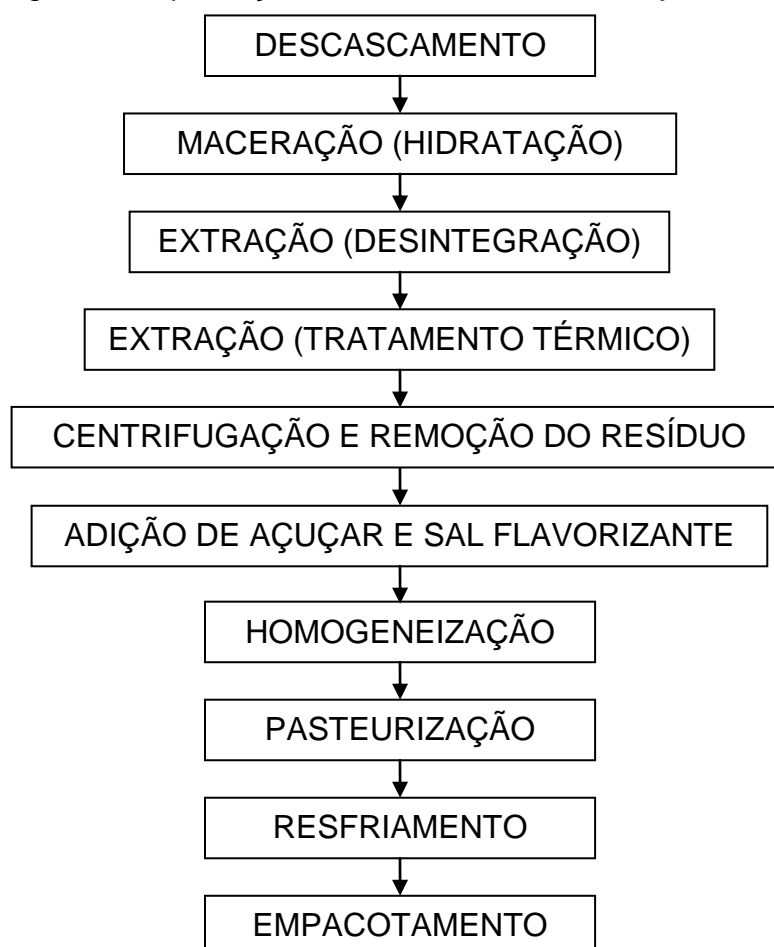
A produção de alimentos, como bebidas, a base de soja vem crescendo gradualmente nos últimos anos. No setor de alimentos à base de soja, é a linha de bebidas que mais cresce: cerca de 30% ao ano no Brasil.⁷

1.2.1 Produção das Bebidas a Base de Soja

As bebidas a base de soja (BBS) são elaboradas a partir do extrato hidrossolúvel de soja (EHS) ou da proteína isolada de soja (PI), que possuem diferentes métodos de fabricação, adicionadas de sucos de frutas e aditivos. Ambos os produtos são provenientes do grão de soja, mas processados de maneiras diferentes.

O extrato de soja é o produto obtido a partir da emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja, convenientemente limpos, seguido de processamento tecnológico adequado, no qual são preservados proteínas, parte dos carboidratos solúveis, gorduras insaturadas, vitaminas e minerais presentes na soja. Podem-se adicionar aditivos ou ingredientes para dar cor e diferentes sabores, transformando-o em um produto semelhante ao suco. Um fluxograma do processo é apresentado na Figura 1.

Figura 1 – Fluxograma de produção de bebidas a base de soja.



Fonte: Fabricação Extrato de soja Campinas Vital.⁸

A maceração é a etapa em que o grão absorve água. A maceração a quente auxilia na inativação das enzimas lipoxigenases, de forma parcial na maceração e total na trituração. Estas enzimas são as principais responsáveis pelo sabor amargo dos extratos de soja e são liberadas, parcialmente na maceração e totalmente na trituração, quando ocorre rompimento interno dos grãos.

A extração do extrato hidrossolúvel é realizada através da desintegração, por moagem ou trituração, do grão e adição de água quente para extração de proteínas (para inativação completa das enzimas lipoxigenases).

Para separar o EHS da pasta de sólidos, é utilizada uma etapa de filtração por centrifugação.

Na etapa de adição, o extrato recebe os ingredientes e aditivos e é agitado para homogeneização. É nesta etapa que é adicionado aroma e corante quando produzido as bebidas a base de soja.

Já a proteína isolada da soja é extraída da farinha de soja desengordurada, obtida da remoção dos componentes não proteicos dos grãos. Contém aproximadamente 90% de proteínas em base seca. Apesar de conter maior quantidade de proteínas do que o extrato de soja, por ser concentrada, a proteína isolada de soja é diluída para o consumo, basicamente adquirindo as mesmas propriedades do EHS, e o produto final acaba oferecendo quantidades de proteínas similares às do extrato por porção.

1.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

A espectroscopia no infravermelho (IR) é aplicada às determinações quantitativas e qualitativas de muitas espécies inorgânicas, orgânicas. A radiação infravermelha corresponde aproximadamente à parte do espectro eletromagnético situada entre a região do visível e das micro-ondas.⁹

O espectro na região do infravermelho é usualmente dividido em infravermelho próximo (NIR), infravermelho médio (MIR) e infravermelho distante (FIR). A Tabela 2 mostra o intervalo correspondente a cada região.

Tabela 2 – Regiões Espectrais do Infravermelho.

Região	Número de onda (cm ⁻¹)	Comprimento de onda (nm)
NIR	12800 – 4000	780 – 2500
MIR	4000 – 400	2500 – 5000
FIR	200 – 10	5000 - 100000

Fonte: HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R., 2009.⁹

Para que as moléculas absorvam a radiação no infravermelho capazes de variar a amplitude de um seus movimentos vibracional ou rotacional, é necessário que ocorra variações no momento de dipolo. Apenas nessas situações o campo elétrico alternado da radiação é capaz de interagir com a molécula, ocorrendo assim a absorção em determinado comprimento de onda.⁹

A espectroscopia na região do infravermelho tem se tornado, uma das técnicas mais promissoras no campo das análises não destrutivas, permitindo a obtenção de resultados rápidos e sem pré-tratamento da amostra, baseado em instrumental simples e possível de ser empregado em medidas em campo, sendo de grande utilidade para o setor industrial. A aplicação do IR para fins analíticos foi complementada pelos avanços da eletrônica analógica e digital e também dos ocorridos na área de tratamento de dados, hoje conhecida entre os químicos como "Quimiometria".¹⁰

As principais técnicas de reflexão no infravermelho são: reflexão difusa, reflexão especular (ou externa) e reflexão total atenuada (ATR), sendo esta última a que foi utilizada no desenvolvimento deste trabalho.

1.3.1 Espectroscopia de Reflexão Total Atenuada (ATR)

A espectroscopia por reflexão total atenuada é uma técnica extremamente robusta e segura para estudos quantitativos e qualitativos envolvendo líquidos. Destaca-se por não envolver processos laboriosos de preparo de amostras.¹¹

A técnica ATR se caracteriza pelas múltiplas reflexões da radiação infravermelha que ocorrem no interior de cristais (elemento principal) com alto índice de refração, interagindo apenas com a amostra que estiver na superfície do Cristal.¹² Este cristal deve ser composto por um material com alto índice de refração, para que

somente uma pequena parte do feixe de radiação incidente seja refletida ao ser atingido.¹³

Assim o fenômeno de refletância interna é observado quando a radiação entra no cristal ATR, feito com um índice de refração alto em relação ao meio externo, a radiação será refletida totalmente em seu interior. Esta reflexão interna cria uma onda evanescente a qual se estende à amostra em contato com o cristal.¹² Na região do infravermelho onde a amostra absorve energia a onda evanescente será atenuada.¹³

Existem múltiplos elementos de ATR (Cristais) e uma diversidade de acessórios desenvolvidos para obter espectros de materiais líquidos, sólidos e viscosos para vários tipos de amostras, incluindo filmes, resíduos, papel, pós, tintas, tecidos, vidros, etc.¹⁴ Entre materiais para acessórios ATR mais conhecidos temos o seleneto de zinco (ZnSe), o silício (Si), o germânio (Ge) e a Safira.

Um acessório de reflexão total atenuada mede as mudanças que ocorrem em um feixe de radiação infravermelha que sofre reflexão interna total, ao entrar em contato com a amostra. Quando um feixe de radiação atravessa de um meio mais denso (cristal de ATR) para um meio menos denso (amostra) ocorre reflexão. Este feixe antes de ser refletido, penetra uma pequena distância no meio menos denso.¹⁵

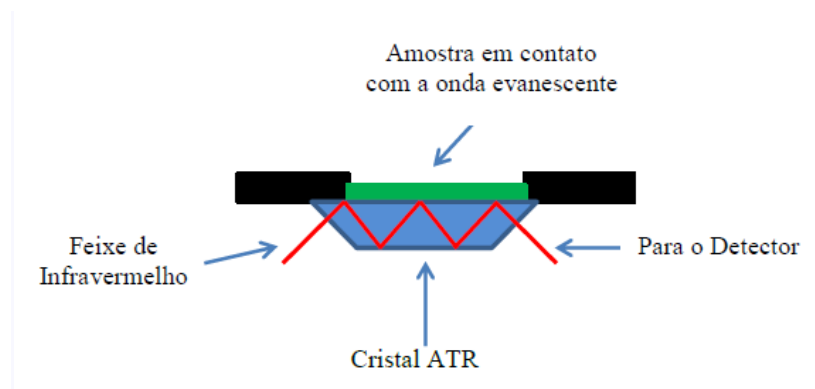
A profundidade de penetração (dp) é dada pela Equação 1:

$$dp = \frac{\lambda}{2\pi\eta_1 \left[\sin^2 \theta_1 - \left(\frac{\eta_3}{\eta_2} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}}} \quad (1)$$

Onde θ_1 é o ângulo de incidência, η_2 é o índice de refração do elemento de ATR e η_3 é o índice de refração da amostra.

Este feixe penetrante é chamado de onda evanescente. Se determinado comprimento de onda evanescente for absorvido pela amostra, ocorre uma atenuação da radiação cujo comprimento de onda corresponde às bandas de absorção no infravermelho. É em função deste mecanismo que surge o espectro.¹⁶ Abaixo na Figura 2, está uma representação simplificada da análise por ATR.

Figura 2 – Representação simplificada da análise por ATR.



Fonte ALISNKE, 2010.

1.4 TÉCNICAS QUIMIOMÉTRICAS DE ANÁLISE EXPLORATÓRIA

A quimiometria é uma ferramenta de aplicação de métodos matemáticos e estatísticos frequentemente utilizados para maximizar as informações que podem ser extraídas de um conjunto de dados de origem química.

Os métodos quimiométricos podem ser aplicados em dados multivariados com os propósitos qualitativos (análise exploratória e reconhecimento de padrões) e quantitativos (calibração).¹⁷

Neste trabalho foram utilizadas duas ferramentas quimiométricas, a análise por componentes principais (PCA), onde empregamos também o algoritmo do PCA por intervalos (iPCA) para o qual a região espectral é subdividida em intervalos equidistantes, e a análise hierárquica de agrupamento (HCA), que agrupa dos dados baseados no cálculo da distância entre todos os sinais obtidos para as diferentes amostras.

1.4.1 Análises por Componentes Principais (PCA)

A análise por componentes principais (PCA, do inglês “*Principal Component Analysis*”) transforma as coordenadas da matriz de dados originais representando as variações presentes em muitas variáveis, em um número menor de variáveis, ou seja, é um método que permite a redução da dimensionalidade representando o conjunto de dados em um novo sistema de eixos, estabelecendo novas variáveis, que são denominadas componentes principais (PC), sendo ortogonais entre si,

permitindo a visualização da natureza multivariada dos dados em gráficos bi ou tridimensionais.

A PCA é uma ferramenta quimiométrica de análise exploratória não supervisionada. Isto significa que nenhuma informação com relação à identidade das amostras é levada em consideração.

Na PCA a matriz de dados originais (**X**) é decomposta em um produto de duas matrizes, escores (**T**) e pesos (**P**), mais uma matriz de erros (**E**), conforme a Equação 2:

$$X = TP^T + E \quad (2)$$

Os dados originais são agrupados em função das correlações existentes entre as variáveis através de combinações lineares, formando um novo conjunto de eixos, onde a primeira componente principal (PC1) representa a maior variação do conjunto de dados e a segunda (PC2) que é ortogonal a primeira, descreve a maior percentagem da variação não explicada pela PC1 e assim por diante.¹⁸

1.4.2 Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA)

A análise hierárquica de agrupamentos (HCA) é uma técnica aglomerativa não supervisionada que mede e avalia as distâncias entre todas as variáveis para todas as amostras do conjunto de dados e revela essa informação através de um gráfico bidimensional chamado dendrograma. Pelo dendrograma podem-se visualizar os agrupamentos e similaridade entre as amostras e/ou variáveis.

A construção dos dendrograma é feita com base na proximidade existente entre as amostras no espaço, calculando-se a distância entre todas as amostras do conjunto, em pares, e então definindo uma matriz de similaridade cujos elementos são os chamados índices de similaridade que geralmente variam entre zero e um. Um índice alto indica uma distância pequena entre dois agrupamentos e, portanto, uma alta similaridade, conforme a Equação 3.¹⁹ A cada passo, os dois grupos mais similares vão se juntando e o processo vai se repetindo até que forme um único agrupamento.

$$S_{ij} = 1 - \frac{d_{ij}}{d_{max}} \quad (3)$$

onde : S_{ij} é a similaridade entre duas amostras (ou agrupamentos);

d_{ij} é a distância euclidiana entre as mesmas;

d_{max} é a maior distância encontrada entre todas as amostras do conjunto.

A HCA pode ser aplicada na identificação de grupos dentro de um conjunto de dados, para testar hipóteses de agrupamentos, na detecção de membros de um dado grupo ou na formação mais conveniente de agrupamentos com características um tanto quanto diversas.

2 SITUAÇÃO ATUAL

A avaliação da qualidade nutricional de alimentos é realizada principalmente por meio da determinação dos componentes majoritários, conhecida como composição centesimal (umidade, proteína, cinza, lipídio, carboidrato e fibra). No entanto, os métodos tradicionais de análise são demorados e utilizam materiais, equipamentos e diversos reagentes químicos, que além de oferecerem risco ao analista, geram resíduos tóxicos.¹

Para bebidas obtidas com extrato de soja, as análises usuais incluem as determinações de substâncias voláteis, resíduos por incineração (cinzas), lipídios, proteínas, glicídios e fibra alimentar.²⁰

Atualmente diferentes técnicas analíticas são aplicadas para a determinação de componentes majoritários em BBS. Podemos citar métodos termogravimétricos, para determinação de voláteis e gravimétricos após desnaturação para gorduras, de incineração para cinzas, métodos de digestão, destilação e titulação para proteínas e glicídios e enzimático-gravimétrico para fibra alimentar.²⁰ Vemos que são métodos trabalhosos, que demandam grande quantidade de reagentes e tempo de análises.

Diante disto, uma alternativa para a análise físico-química de bebidas a base de soja, rápida, de baixo custo e sem uso de reagentes químicos e sem preparo de amostra é a espectroscopia na região do infravermelho, através da técnica reflexão total atenuada.

Temos vários exemplos de aplicação de análises de ATR-FTIR em alimentos. Morgano desenvolveu um método para a determinação quantitativa do teor de sacarose em amostras de açúcar cristal, usando a espectroscopia no infravermelho médio com o acessório de reflectância total atenuada.²¹

Segundo Archela e Dall'Antonia a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier com módulo de refletância total atenuada ATR-FTIR pode ser utilizada sobre extratos de compostos fenólicos de amostras de vinhos para a diferenciação das qualidades de uvas utilizadas no processo de fabricação.²² Para isto utiliza-se a região do infravermelho médio que compreende os números de onda de 1800–900 cm^{-1} e representa a região de *fingerprint* dos vinhos.

O trabalho de Ferreira mostra a aplicação de espectroscopia na região do infravermelho próximo associada à calibração multivariada, para avaliação de parâmetros de qualidade de grãos funcionais de soja.¹

A questão da segurança dos alimentos está se tornando uma preocupação global. É muito importante desenvolver um método rápido e eficaz em termos de custos, e amplamente disponível para a detecção de adulteração dos alimentos. Estudos sobre a aplicação de técnicas de espectroscopia no infravermelho para detectar adulterações em alimentos são exemplos destes métodos.

A aplicação do infravermelho médio com módulo de reflectância total atenuada foi avaliada como um método rápido para a detecção e quantificação de adulteração do leite, com ureia, água oxigenada, soro de leite e leite sintético conforme Santos et al.²³ Os resultados mostraram que espectroscopia pode fornecer uma metodologia alternativa para a indústria de laticínios na triagem de adulteração do leite de vaca.

Ammari et al estudou a detecção de adulteração de suco de laranja por suco de uva, usando espectroscopia de fluorescência 3D seguido de análises por componentes independentes (ICA).²⁴ Os resultados deste estudo indicam que as fraudes por adição de suco de toranja ao suco de laranja pode ser detectada em percentagens tão baixas como 1%.

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), foi utilizada por Snyder et al para desenvolver um modelo que prevê a composição percentual de suco de uva Concord em uma mistura de suco de uva.²⁵ Os resultados sugerem a viabilidade do uso de FT-IR juntamente com quimiometria como uma ferramenta de escala de produção para a autenticação da concentração de uva Concord em misturas de sucos de uva, protegendo consumidores e empresas contra rotulagem enganosa, e contra adulteração potencial, sendo um método rápido para autenticação.

Já Snurkkovic descreve a detecção de substâncias utilizadas para a adulteração de sucos de fruta utilizando o método de espectroscopia de infravermelho próximo (NIR).²⁶ O método também ajudou a distinguir entre o grupo de sucos frescos e os sucos feitos de concentrados de frutas.

Entretanto, existem poucos trabalhos de pesquisa que desenvolvem e/ou avaliam métodos rápidos e eficazes, em termos de custos e amplamente disponível para o controle de qualidade para bebidas a base de soja, por este motivo,

desenvolver novos métodos de avaliação são necessários para definir aspectos de qualidade destes produtos.

3 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar uma metodologia analítica empregando espectroscopia no infravermelho médio por transformada de Fourier empregando reflexão total atenuada (FTIR-ATR) e técnicas quimiométricas de análises multivariadas como a análise hierárquica de agrupamentos (HCA) e a análise por componentes principais (PCA) para a caracterização e controle de qualidade de bebidas a base de soja, avaliando adulteração por adição de água, bem como buscando informações sobre os diferentes tipos de produtos analisados.

4 PROPOSTA TECNOLÓGICA

Este trabalho apresenta como proposta tecnológica um método de baixo custo, reduzindo o tempo de análise e que seja ambientalmente amigável utilizando a análise por componentes principais (PCA) e a análise hierárquica de agrupamentos (HCA) associadas à espectroscopia no infravermelho médio, no controle de qualidade de bebidas a base de soja para avaliar adulteração por adição de água, bem como buscar informações sobre os diferentes tipos de suco analisados.

Tecnologias ambientalmente corretas, não necessitando de reagentes para a realização da análise, nem a destruição da amostra são importantes no desenvolvimento e controle de produtos industrializados. Além disso, o aumento da frequência analítica, ou seja, redução no tempo de análise é um fator importante a ser considerado no estudo e implementação de novas técnicas de análise em rotinas indústrias.

Sendo este um método de análise rápido, tanto será possível ter um controle de qualidade durante o processo de produção da bebida a base de soja, garantindo que produto que será comercializado nos pontos de distribuição esteja em conformidade, bem como pelos laboratórios de análises que fiscalizam estas bebidas comercializadas no território nacional.

5 METODOLOGIA

5.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram adquiridas, no comércio local, oito amostras de bebidas de soja de diferentes fornecedores e de diferentes sabores. Destas amostras, quatro (D, E, F e G) eram de uma mesma marca, mas de sabores diferentes (abacaxi, laranja, maçã e uva) e as outras quatro (H, I, J e K) eram de marcas diferentes, mas todas de sabor laranja. Outro fator importante é que das oito amostras, seis (D, E, F, G, H e J) são obtidas a partir do extrato de soja e as outras duas (I e K) a partir da proteína isolada de soja. A Tabela 3 identifica as amostras.

Tabela 3 - Identificação das amostras

Amostras	Marca	Sabor	Obtida a partir
D	Ades	Laranja	Extrato de Soja
E	Ades	Uva	Extrato de Soja
F	Ades	Maçã	Extrato de Soja
G	Ades	Abacaxi	Extrato de Soja
H	Yoki	Laranja	Extrato de Soja
I	Nestlé	Laranja	Proteína Isolada
J	Piá	Laranja	Extrato de Soja
K	Soyos	Laranja	Proteína Isolada

Foram preparadas 40 amostras em balões volumétricos de 25 mL, a partir da adição de percentuais de água nas bebidas a base de soja e também utilizadas as 8 da bebida in natura. As concentrações preparadas e a identificação de cada amostra são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Identificação das amostras preparadas e percentual de água adicionado a partir das amostras originais em %.

Amostras	Marca	Sabor	0%	1%	2%	5%	10%	25%
D	Ades	Laranja	D00	D01	D02	D05	D10	D25
E	Ades	Uva	E00	E01	E02	E05	E10	E25
F	Ades	Maçã	F00	F01	F02	F05	F10	F25
G	Ades	Abacaxi	G00	G01	G02	G05	G10	G25
H	Yoki	Laranja	H00	H01	H02	H05	H10	H25
I	Nestlé	Laranja	I00	I01	I02	I05	I10	I25
J	Piá	Laranja	J00	J01	J02	J05	J10	J25
K	Soyos	Laranja	K00	K01	K02	K05	K10	K25

Os espectros no infravermelho foram obtidos por reflectância total atenuada na região do infravermelho médio, no intervalo de 4000 a 900 cm^{-1} , a partir de 16 varreduras, em um espectrofotômetro Perkin Elmer Spectrum 400, Figura 3, acoplado num acessório de reflectância total atenuada horizontal (HATR) com cristal de seleneto de zinco (ZnSe).

Figura 3 – Espectrofotômetro FT-IR Spectrum 400 da Perkin Elmer.



Fonte: Catálogo do Fabricante.²⁷

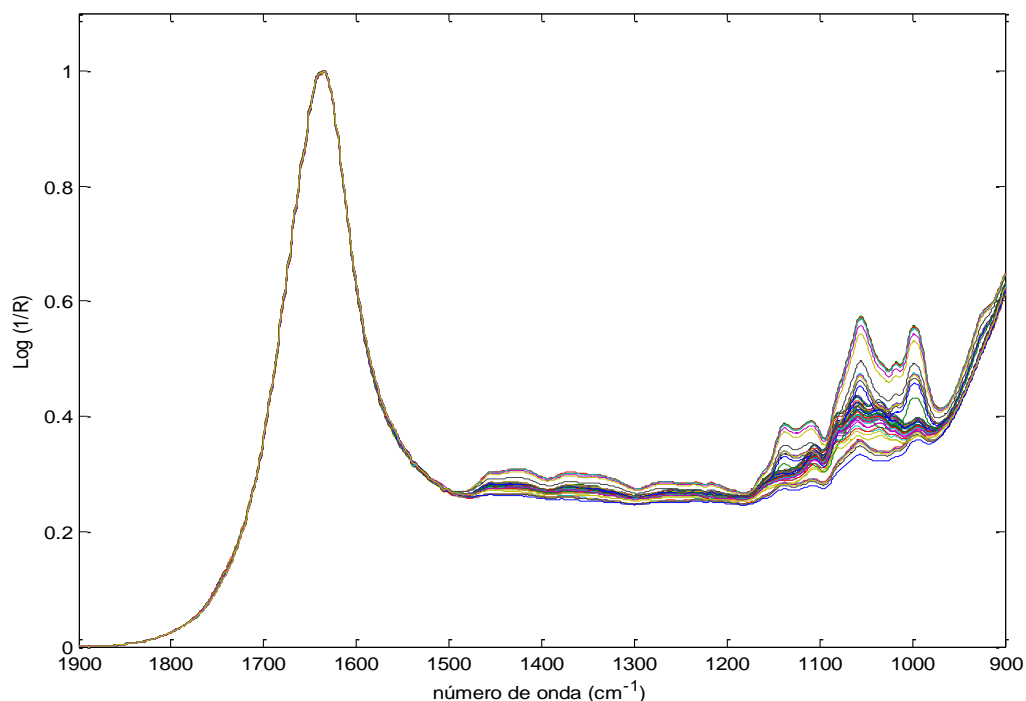
Os dados espectrais passaram por pré-processamento usando o software MATLAB 7.12 (The Mathworks), onde foram centrados na média, que consiste em fazer com que para cada variável seus valores tenham média zero, eliminando o espectro médio e aplicado o método de correção de espalhamento multiplicativo (MSC - do inglês, Multiple Scatering Correction), para a correção de linha base, proveniente do espalhamento da luz devido a não homogeneidade da distribuição de partículas na matriz. Os algoritmos HCA e PCA foram realizados empregando o PLSTollbox (Eigenvector).

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A partir das medidas feitas no infravermelho médio foram obtidos os espectros apresentados na Figura 4.

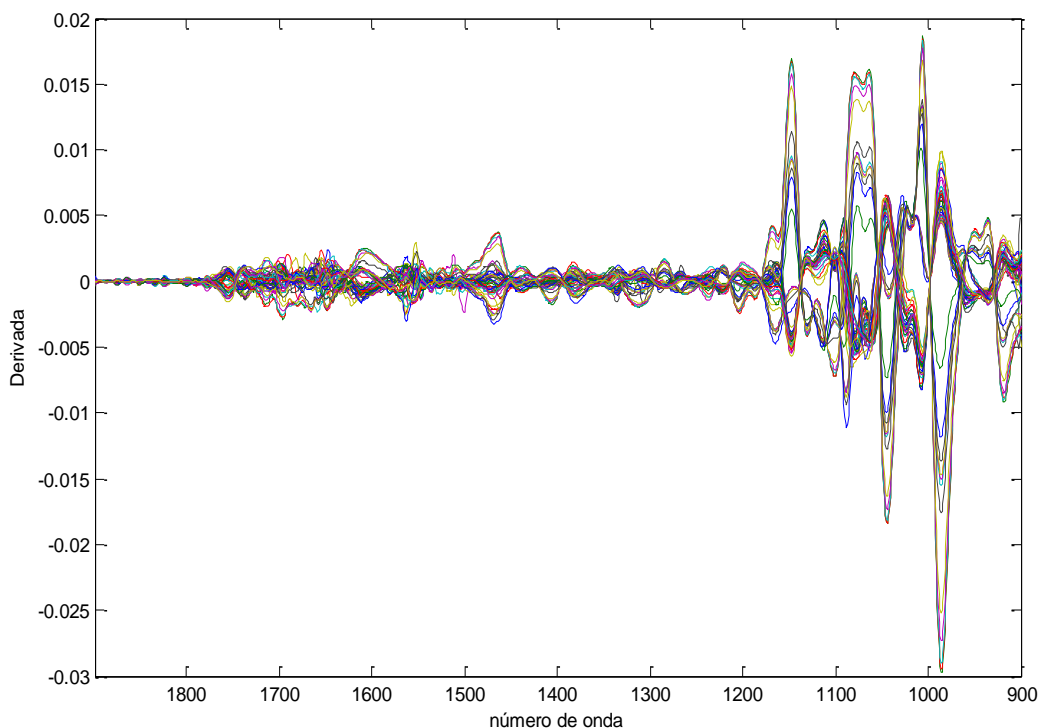
Devido à similaridade observada nos espectros das amostras, foi necessário escolher a região do espectro infravermelho médio que apresentasse a maior diferenciação entre as distintas amostras, assim, a faixa que caracteriza a impressão digital das amostras, foi de $1899 - 900 \text{ cm}^{-1}$, e este intervalo foi utilizado para o tratamento dos resultados.

Figura 4 – Espectros FTIR-ATR para todas as amostras na faixa de $1899 - 900 \text{ cm}^{-1}$.



Os dados obtidos na Figura 4, foram tratados pelo *software* MATLAB aplicando-se a primeira derivada (polinômio de 2ª ordem e empregando 15 pontos), originando a Figura 5, apresentada a seguir.

Figura 5 – Gráfico da derivada dos espectros FTIR-ATR para todas as amostras na faixa de 1899 – 900 cm^{-1} .

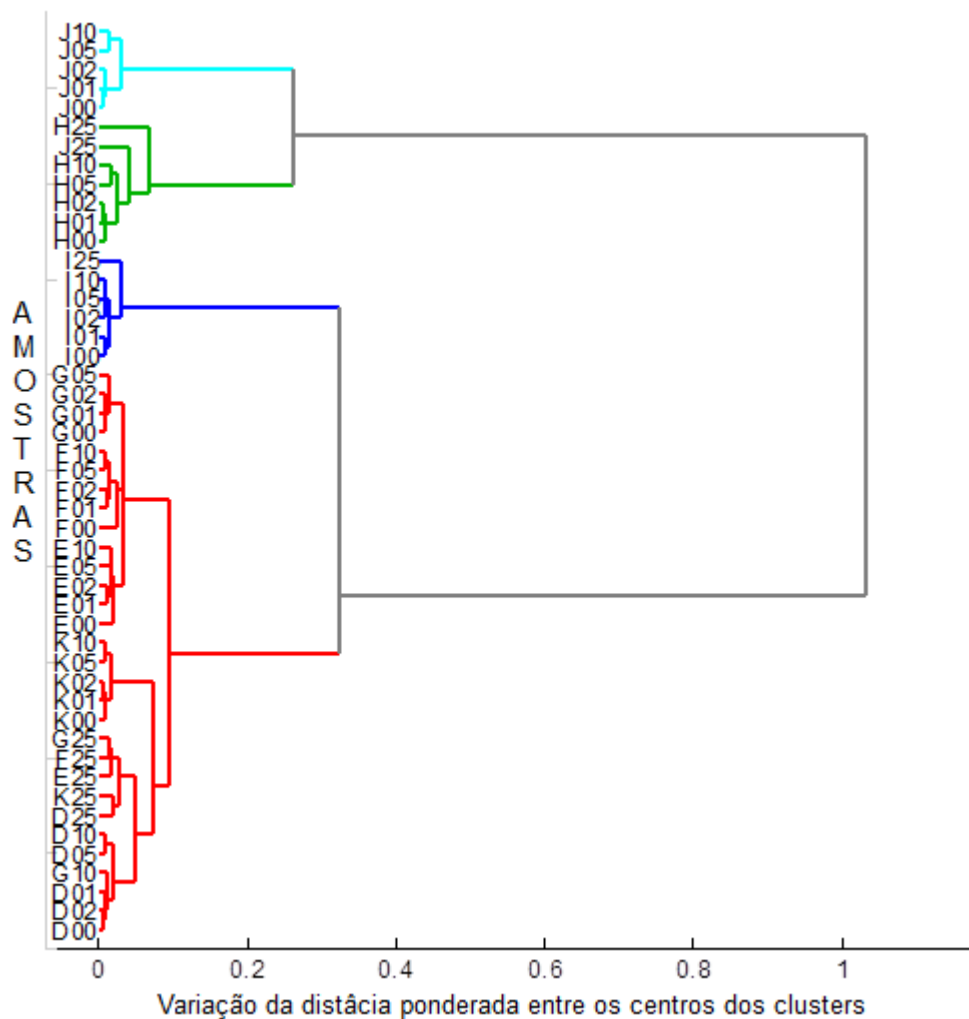


A análise hierárquica de agrupamentos apresentada na Figura 6, obtida pelos dados espectrais com primeira derivada, discrimina quatro grupos. Os três primeiros agrupam as amostras J (azul claro), H (verde) e I (azul), respectivamente das marcas, Piá, Yoki e Nestlé, todas de sabor laranja. O grupo restante (vermelho) agrupa a classe de amostras D, E, F, G (todas da marca Ades) e K (marca Soyos).

Esta é uma informação global, de todo sinal que se obteve através do cálculo da distância euclidiana, para cada ponto do espectro.

A informação global revela uma grande identidade entre as amostras, mas não permite observar, de uma forma inicial, a adulteração da água, pois a informação obtida é muito pouco representativa, uma vez que o suco é mais de 80% água.

Figura 6 – Dendrograma obtido para os dados espectrais com primeira derivada.



Legenda: Os quatro clusters formados são agrupadas da seguinte maneira: amostras da marca Piá (J) (azul claro), amostras da marca Yoki (H) (verde), amostras da marca Nestlé (I) (azul) e amostras da marca Ades (D, E, F, G) e sojos (K) (vermelho).

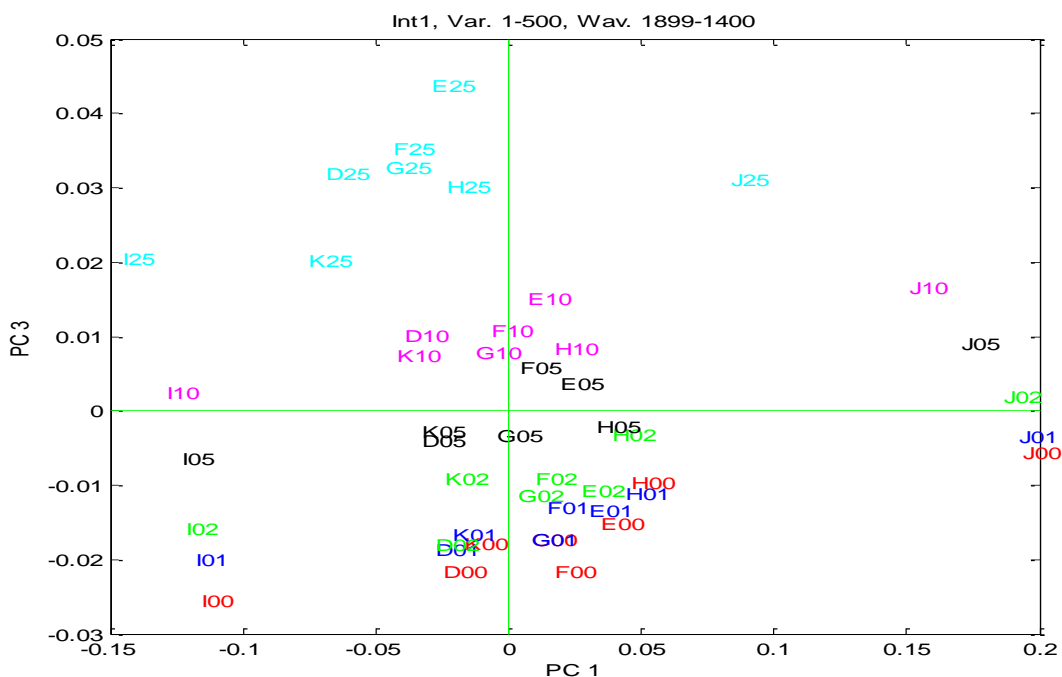
Usar toda a informação é importante, pois agrupa semelhanças globais sobre a composição dos produtos, entretanto usando a PCA, que é uma ferramenta com a qual grandes conjuntos de informação (dados espectrais) são compactados para componentes principais que podem estar mais relacionadas com a composição de alguns compostos representativos das amostras estudadas. Assim, podem ser reveladas informações que permitam identificar as adulterações por adição de água, bem como a possibilidade de identificar a marca e/ou informações sobre um determinado tipo de suco.

6.1 SEPARAÇÃO DAS AMOSTRAS EM FUNÇÃO DA ÁGUA ADICIONADA

No estudo para verificar a potencialidade da espectroscopia no infravermelho em revelar adulterações por adição de água, foi empregado o algoritmo iPCA dividindo a região espectral em 2, 4, 8 e 16 intervalos. Dentre os resultados, a divisão em dois intervalos foi a que apresentou resultado satisfatório quando foi empregado para realização da PCA, sendo que o intervalo 1 que corresponde a faixa 1899-1400 cm^{-1} foi o que permitiu a identificação da adição de água nas amostras.

Conforme pode ser observado na Figura 7, a PC3 é responsável pela separação das amostras em função da adição crescente de água. A faixa espectral relacionada a esta separação é de 1899-1400 cm^{-1} onde encontra-se a deformação angular do O-H da água. Entretanto para pequenas adições como 1 ou 2% de água esta distinção não é muito clara, podendo estar relacionada com a sensibilidade do método proposto.

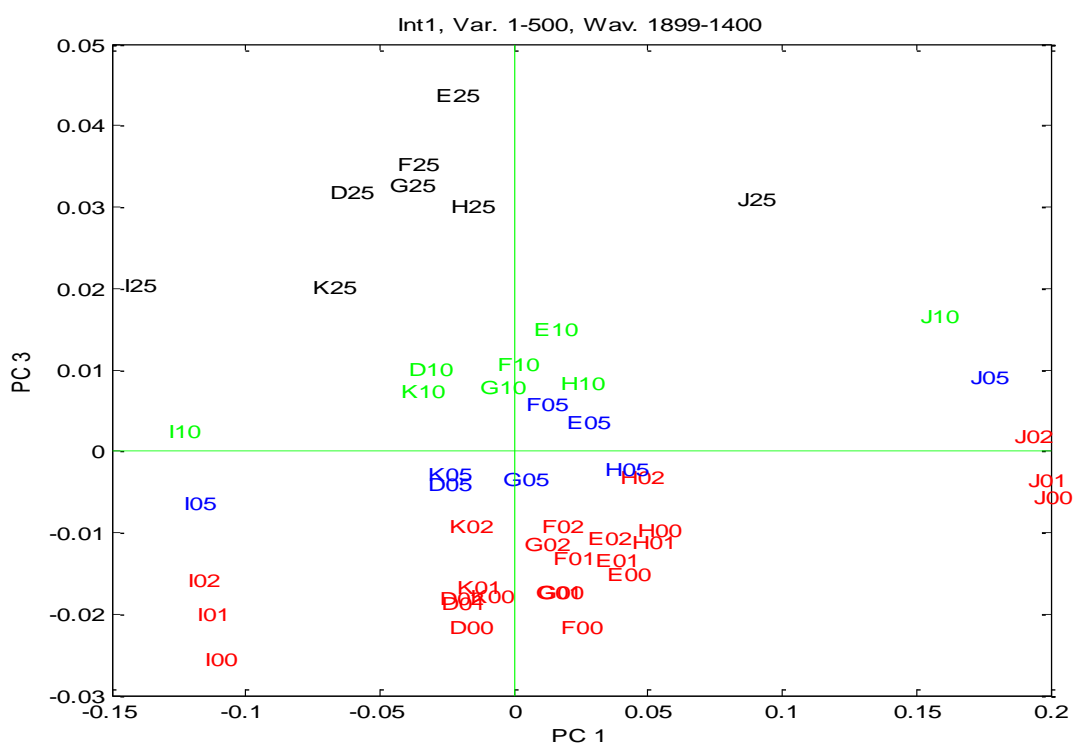
Figura 7 – Gráfico de escores PC1 x PC3 para os dados espectrais de 1899-1400 cm^{-1} corrigidos com MSC e centrados na média.



Legenda: Amostras com 25% de água (azul claro), amostras com 10% de água (rosa), amostras com 5% de água (preto), amostras com 2% de água (verde), amostras com 1 % de água (azul) e amostras sem adição de água (vermelho).

A Figura 8 apresenta o mesmo tratamento realizado no estudo anterior, mas as amostras com menor adição de água foram consideradas no mesmo grupo da amostra sem adição (cor vermelha). A PC3 continua responsável pela separação das amostras em função da adição crescente de água. A faixa espectral relacionada a esta separação também é de $1899-1400\text{cm}^{-1}$ onde encontra-se a deformação angular do O-H da água. Nesta figura fica mais evidente a identificação das amostras com maior teor de adulterante (5, 10 e 25%).

Figura 8 – Gráfico de escores PC1 x PC3 para os dados espectrais de $1899-1400\text{cm}^{-1}$ corrigidos com MSC e centrados na média.



Legenda: Amostras com 25% de água (preto), amostras com 10% de água (verde), amostras com 5% de água (azul) e amostras com 2% e 1% de água e amostras sem adição de água (vermelho).

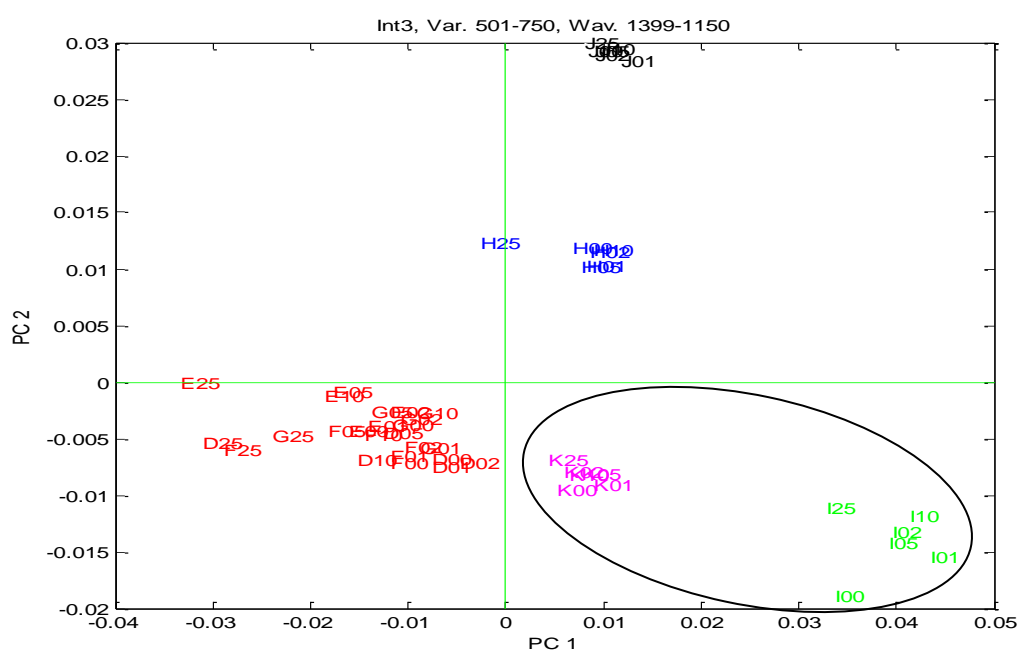
6.2 SEPARAÇÃO DAS AMOSTRAS EM FUNÇÃO DA MARCA

No estudo para verificar a potencialidade da espectroscopia no infravermelho em diferenciar as marcas, foi empregado o algoritmo iPCA dividindo a região espectral em 2, 4, 8 e 16 intervalos. Dentre os resultados a divisão em quatro intervalos foi a que apresentou resultado satisfatório, sendo o intervalo 3 que

corresponde a faixa 1399-1150 cm^{-1} um dos que apresenta informação necessária para a separação das amostras em função da marca.

Conforme pode ser observado na Figura 9, a PC2, em conjunto com a PC1 são responsáveis pela separação das amostras em função das marcas estudadas. A faixa espectral relacionada a esta separação é de 1399 - 1150 cm^{-1} que esta associada aos estiramentos axiais C-O presentes nos glicídios, e estes são possivelmente os responsáveis pela formação dos grupos observados no gráfico de escores da Figura 9, onde a PC2 apresenta-se correlacionada com o teor de açúcares descrito na Tabela 5, que será apresentada mais a seguir.

Figura 9 – Gráfico de escores PC1 x PC2 para os dados espectrais de 1399-1150 cm^{-1} corrigidos com MSC e centrados na média.



Legenda: Amostras D, E, F e G, da marca Ades (Vermelho), amostra H, da marca Yoki (azul), amostra I, da marca Nestle (verde), amostra J, da marca Piá (preto) e amostra K, da marca Soyos (rosa).

Adicionalmente podemos observar na Figura 9, que o escore positivo da PC1, juntamente com o escore negativo da PC2, região circunscrita, contém as únicas amostras (I e K) que segundo os rótulos foram preparadas a partir da proteína isolada de soja. Na região utilizada também ocorrem os estiramentos C-N característicos das proteínas o que poderia justificar a formação do grupo destacado pela elipse, podendo ser decorrência dos diferentes processamentos empregados

na produção do extrato hidrossolúvel e proteína isolada utilizados na elaboração das BBS.

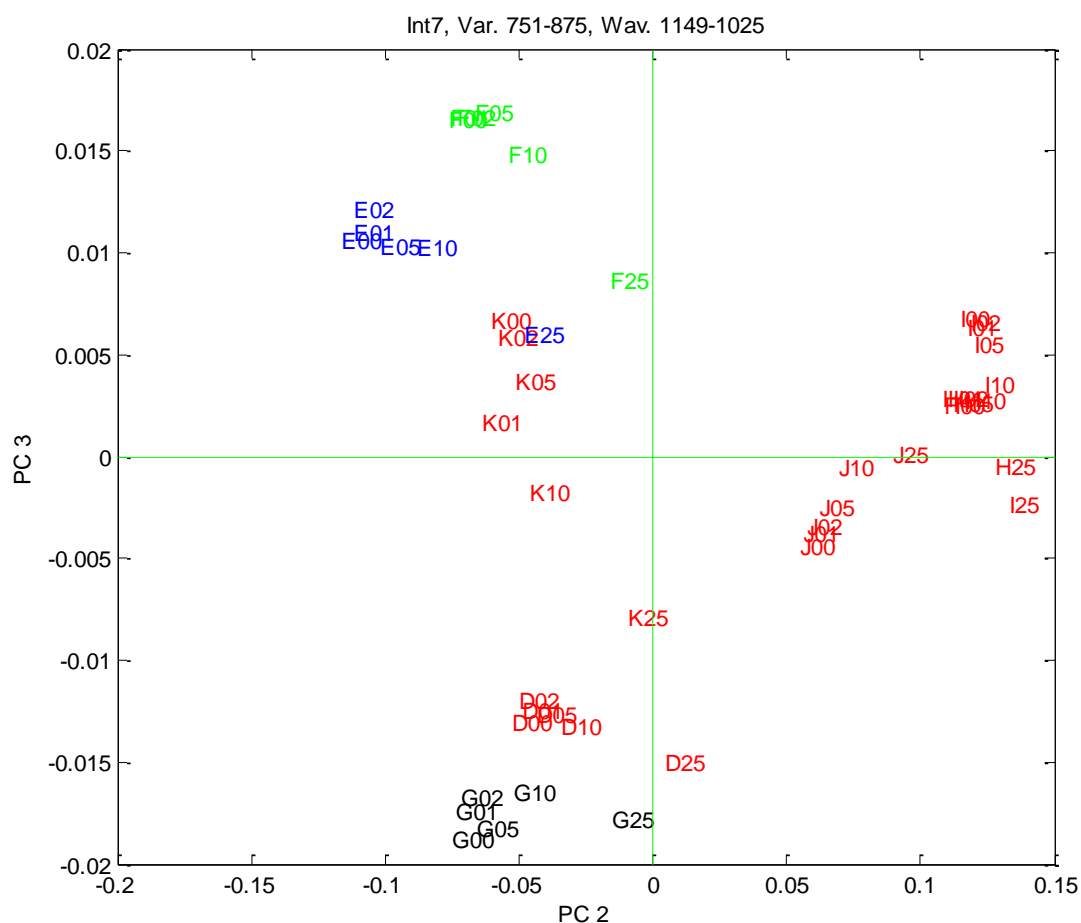
6.3 SEPARAÇÃO DAS AMOSTRAS EM FUNÇÃO DO SUCO

No estudo para verificar a potencialidade da espectroscopia no infravermelho em diferenciar os sucos, foi empregado o algoritmo iPCA dividindo a região espectral em 2, 4, 8 e 16 intervalos. Dentre os resultados a divisão em oito intervalos foi a que apresentou resultado satisfatório quando foi empregado para realização da PCA o intervalo 7 que corresponde a faixa $1149-1025\text{ cm}^{-1}$.

Conforme pode ser observado na Figura 10, a PC3, em conjunto com a PC2 foram responsáveis pela separação das amostras em função do suco. A faixa espectral relacionada a esta separação é de $1149-1025\text{ cm}^{-1}$ onde encontram-se os estiramentos axiais C-O característico dos glicídeos. Como podemos observar nas Figuras 4 e 5, existe uma grande variação nos perfis dos espectros, podendo esta estar relacionada com os diferentes açúcares presentes de forma natural (frutose) ou adicionados (sacarose).

É possível verificar que as amostras com 25% de adição de água ficaram mais deslocadas indicando que nesta faixa espectral também existe informação relacionada a presença da água ou inversamente a esta.

Figura 10 – Gráfico de escores PC2 x PC3 para os dados espectrais de 1149-1025 cm^{-1} centrados na média.

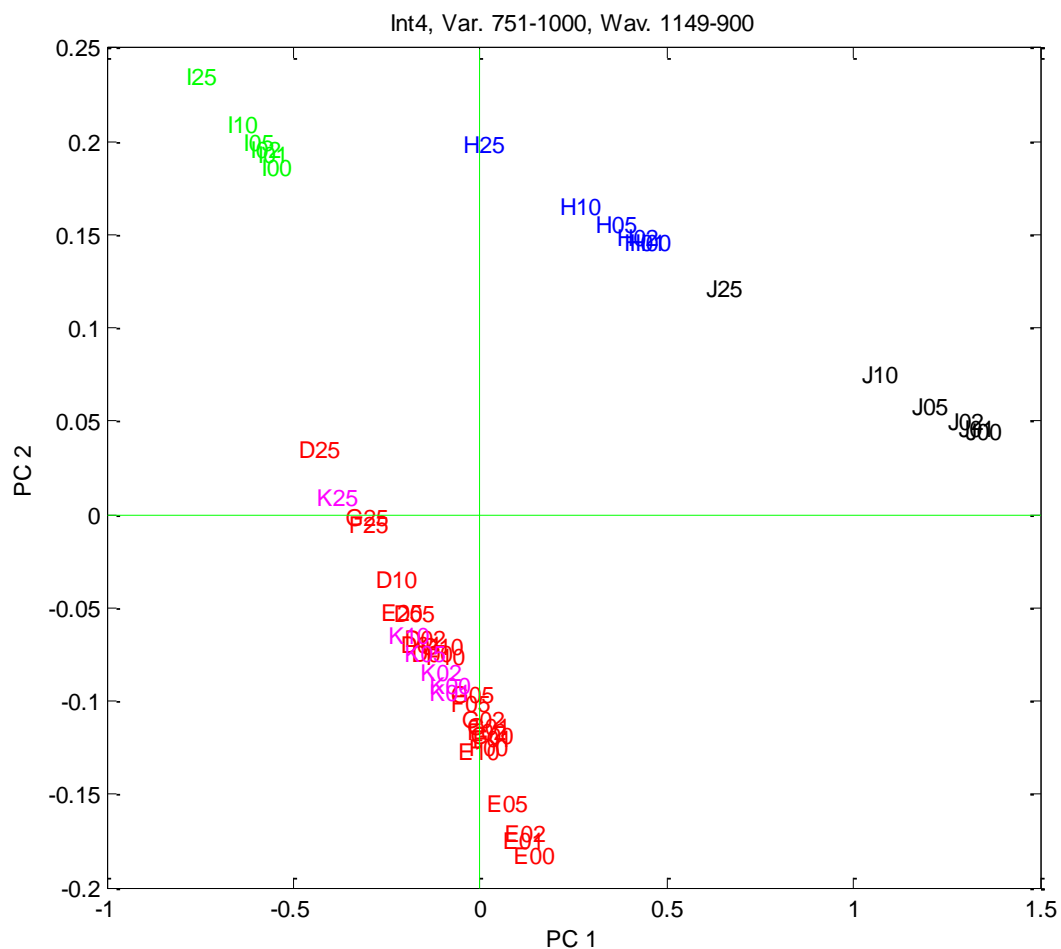


Legenda: Amostras D, H, I, J e K, de sabor laranja (Vermelho), amostra E, de sabor uva (azul), amostra F, de sabor maçã (verde), amostra G, de sabor abacaxi (preto).

6.4 OUTRAS CONSIDERAÇÕES

Observou-se também, como pode ser visto na Figura 11, quando dividimos em quarto intervalos e empregando o PCA para o intervalo 4, que corresponde a faixa espectral 1149-900 cm^{-1} , que as amostras K (Soyos), se sobrepõem com as amostras D, E, F e G (Ades). Esta informação revela que existe semelhança entre estes produtos, como foi observado no dendograma da Figura 6.

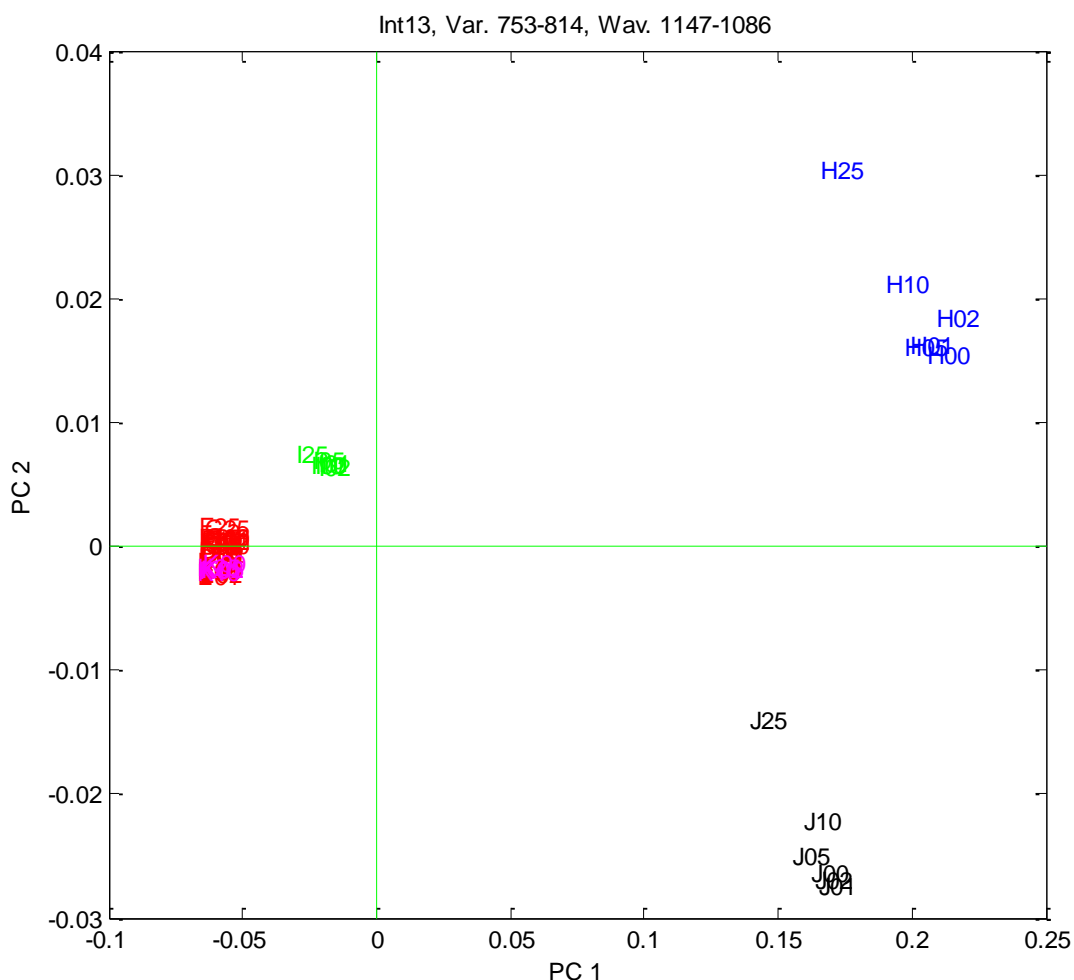
Figura 11 – Gráfico de escores PC1 x PC2 para os dados espectrais de 1149-900 cm^{-1} centrados na média.



Legenda: Amostras D, E, F e G, da marca Ades (Vermelho), amostra H, da marca Yoki (azul), amostra I, da marca Nestle (verde), amostra J, da marca Piá (preto) e amostra K, da marca Soyos (rosa).

O mesmo comportamento foi observado, de maneira mais representativa, como pode ser visto na Figura 12, quando dividimos em dezesseis intervalos e empregando o PCA no intervalo 13, que corresponde à faixa espectral 1147-1086 cm^{-1} , a amostras K (Soyos), se sobrepõe com as amostras D, E, F e G (Ades).

Figura 12 – Gráfico de escores PC1 x PC2 para os dados espectrais de 1147-1086 cm^{-1} corrigidos com MSC e centrados na média.



Legenda: Amostras D, E, F e G, da marca Ades (Vermelho), amostra H, da marca Yoki (azul), amostra I, da marca Nestlé (verde), amostra J, da marca Piá (preto) e amostra K, da marca Soyos (rosa).

Observando-se a Tabela 5, onde são apresentadas as composições dos produtos, pode-se constatar que as marcas Piá e Yoki (J e H) apresentam maior teor de açúcares, as marcas Ades (D, E, F e G) e Soyos (K) apresentam teores de açúcares muito próximos ou iguais, e o produto da marca Nestlé (I) apresenta o menor teor de açúcares. Uma vez que as faixas de 1399-1150 cm^{-1} , 1149-900 cm^{-1} e 1147-1086 cm^{-1} (respectivamente apresentados nas Figuras 9, 11 e 12), podem estar associada aos estiramentos C-O presentes nos glicídios, estes devem ser os responsáveis tanto pela formação dos grupos observados nos gráficos de escores das Figuras 9, 11 e 12, quanto no dendrograma da Figura 6.

Tabela 5 – Composições das amostras estudadas conforme os rótulos das suas respectivas embalagens.

Identificação da Amostra	D	E	F	G	H	I	J	K
Fabricante	Ades	Ades	Ades	Ades	Yoki	Nestle	Piá	Sú Fresh
nome	Soy Force	Soy Force	Soy Force	Soy force	Mais Vita	Sollys	Vitta	Soyos
Lote	ALF 14 1349 052	ASH 18 0647 328	ALH 18 2210 743	AFH 15 1644 847	20:22 E	42416790 B1 T	L01/ 1	6998-9 07:20
Sabor	Laranja	Uva	Maçã	Abacaxi	Laranja	Laranja	Laranja	Laranja
Porção	200 mL	200 mL	200 mL	200 mL	200 mL	200 mL	200 mL	200 mL
Valor energético (kcal)	61	70	70	67	81	40	106	65
Carboidratos (g), dos quais	12	14	14	13	17	8.5	25	16
Açúcares (g)	12	14	13	12	17	6.6	25	13
Lactose (g)	0	0	0	0	0	0	0	N.I.
Sacarose (g)	4.3	5.2	5	5.9	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.
Proteínas (g)	1.3	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.1	1
Gorduras totais das quais (g)	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0	0	0
Saturadas (g)	0	0	0	0	0.2	0	0	0
Trans (g)	0	0	0	0	0	0	0	0
Monoinsaturada (g)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0	0	0
Poliinsaturadas (g)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0	0	0
Colesterol (g)	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibra alimentar (g)	0.7	0.7	0.6	0.7	0	1.1	0.6	0
Sódio (mg)	16	16	16	16	9	49	52	41
Vitamina A (mcg)	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	90	N.I.	N.I.	N.I.
Vitamina B2 (mg)	0.2	0.2	0.2	0.2	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.
Vitamina B3 (mg)	2.4	2.4	2.4	2.4	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.
Vitamina B6 (mg)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	N.I.	N.I.	N.I.
Vitamina B12 (mg)	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	N.I.	N.I.	N.I.
Vitamina C (mg)	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8	8.5	14	48
Vitamina D (mg)	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	0.75	N.I.	N.I.	N.I.
Vitamina E (mg)	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	1.5	N.I.	N.I.	N.I.
Ácido Fólico (mcg)	36	36	36	36	36	N.I.	N.I.	N.I.
Cálcio (mcg)	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	152	N.I.	150
Zinco (mg)	1.1	1.1	1.1	1.1	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.
Ferro (mg)	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1	N.I.	N.I.	N.I.

Fonte: Informações nutricionais contidas nos rótulos das embalagens de cada amostra. N.I. – Não Informado.

7 AVALIAÇÃO DE CUSTOS

Não existe uma técnica específica para analisar a adulteração de bebidas a base de soja, por adição de água. Só é possível verificar se uma amostra esta adulterada realizando uma avaliação da qualidade nutricional da bebida através da determinação de seus componentes majoritários, conhecida como composição centesimal. Assim, caso a amostra esteja adulterada por água, a concentração de um determinado composto estará abaixo do valor esperado. No entanto, os métodos tradicionais de análise são demorados e utilizam materiais, equipamentos e diversos reagentes químicos, que além de oferecerem risco ao analista, geram resíduos tóxicos e são de demorada execução.

Foram realizadas duas avaliações de custos da metodologia proposta neste trabalho, uma em relação à determinação de proteínas e outra em relação da determinação de glicídios. Ambas por técnicas oficiais conforme métodos físico-químicos para análise de alimentos.

7.1 COMPARAÇÕES DE TÉCNICAS DE ANÁLISE

Para avaliar os custos da metodologia proposta foram calculados os gastos necessários para realizar a análise num grupo de 100 amostras, em duplicata. Então comparando a metodologia proposta com dois métodos de análise convencionais já estabelecidos na literatura, como para a determinação de proteínas, que é o método de Kjeldahl modificado (037/IV, Instituto Adolf Lutz), que usa como referência o método 991.20 da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995) e para determinação de glicídios totais, expressa em glicose (040/IV, Instituto Adolf Lutz), que usa como referencia o método 958.06 (AOAC, 1995), podemos observar que a metodologia proposta apresenta um custo 93,5% menor que a técnica para análise de proteínas e 96,8 % menor para a técnica de análise de glicídios, conforme é descrito a seguir.

Na técnica de análise de proteínas pelo método Kjeldahl modificado é preciso reagentes para digestão e titulação das amostras. Na Tabela 6 estão descritos os reagentes e os custos:

Tabela 6 – Reagentes para análise de proteína pelo método Kjeldahl modificado.

Reagentes	Quantidade	Custo (R\$)
Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄)	1 L	56,00
Ácido bórico (H ₃ BO ₃)	1 Kg	30,00
Sulfato de cobre anidro (CuSO ₄)	1 Kg	74,40
Sulfato de potássio anidro (K ₂ SO ₄)	1 Kg	44,00
Dióxido de titânio anidro (TiO ₂)	1 kg	48,00
Solução Fenolftaleína	30 mL	20,00
Vermelho de metila	25 g	18,00
Hidróxido de Sódio (NaOH)	1 kg	20,00

Na técnica de análise de glicídios totais, também conhecida como método Fehling, expressa em glicose é preciso reagentes e materiais consumíveis para digestão e titulação das amostras. Na Tabela 7 estão descritos os reagentes, os materiais consumíveis e os custos:

Tabela 7 – Reagentes e consumíveis para o método glicídios totais expresso em glicose.

Reagentes e consumíveis	Quantidade	Custo (R\$)
Ácido clorídrico (HCl)	1 L	20,00
Hidróxido de sódio (NaOH)	1 kg	20,00
Solução de Fehling A	1 L	200,00
Solução de Fehling B	1 L	250,00
Papel indicador de pH	100	25,00
Papel filtro (50x50)	25 m ²	50,00

Custo para realizar a análise de 100 amostras, em duplicata, pelo método Kjeldahl modificado:

Conforme é descrito na técnica a análise ocorre em três etapas, digestão, destilação e titulação. A amostra leva aproximadamente 2 horas e 30 minutos para ser digerida, 20 minutos para ser destilada e 5 minutos para ser titulada. A digestão é realizada utilizando 25 mL de ácido sulfúrico e cerca de 0,27 g de dióxido de titânio, 0,27 g de sulfato de cobre e 5,45 g de sulfato de potássio, que fazem parte

da mistura catalítica. Na destilação são utilizados 1 mL de indicador fenolftaleína, 25 mL de ácido bórico 0,033 M, 0,3 mL de vermelho de metila 1% e 25 mL de hidróxido de sódio 30 %. A titulação é realizada diretamente com a solução de ácido sulfúrico 0,05 M utilizando 0,3 mL do indicador vermelho de metila. Na Tabela 8, estão descritas às quantidades necessárias de cada reagente e os custos para realizar a análise de 100 amostras em duplicata.

Tabela 8 – Quantidade de Reagentes e Custos para o método Kjeldahl para analisar 100 amostras.

Reagentes	Quantidade	Custo (R\$)
Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄)	5200 mL	292,00
Ácido bórico (H ₃ BO ₃)	10,2 g	0,40
Sulfato de cobre anidro (CuSO ₄)	54 g	4,00
Sulfato de potássio anidro (K ₂ SO ₄)	1090 g	48,00
Dióxido de titânio anidro (TiO ₂)	54 g	2,60
Solução Fenolftaleína	200 mL	130,00
Vermelho de metila	1,2 g	1,00
Hidróxido de Sódio (NaOH)	1500 g	30,00
	Custo total (R\$)	508,00

Custo para realizar a análise de 100 amostras por pelo método glicídios totais expressa em glicose:

Conforme é descrito na técnica, para a digestão da amostra leva aproximadamente 3 horas, em refluxo, e utiliza 5 mL de ácido clorídrico. Após é realizado o preparo da amostra pra titulação, utilizando 5 mL de hidróxido de sódio a 40%, papel indicador de pH, papel filtro, 10 mL de cada solução de Fehling A e B. Na Tabela 9, a seguir, estão descritas às quantidades necessárias de cada reagente e os custos para realizar a análise de 100 amostras.

Tabela 9 – Quantidades de Reagentes, consumíveis e custos para o método glicídico totais expressa em glicose, para analisar 100 amostras.

Reagentes e Consumíveis	Quantidade	Custo (R\$)
Ácido clorídrico (HCl)	1000 mL	20,00
Hidróxido de sódio (NaOH)	400 g	8,00
Solução de Fehling A	2000 mL	400,00
Solução de Fehling B	2000 mL	500,00
Papel indicador de pH	400	100,0
Papel filtro	8 m ²	16,00
	Custo total (R\$)	1044,00

Custos para realizar a análise de 100 amostras por Infravermelho:

Para realizar as análises, são necessárias pipetas descartáveis para espalhar as amostras sobre o cristal de ATR, papel macio (rolo papel higiênico ou equivalente) e água para a limpeza do cristal de ATR. Na Tabela 10, estão descritos os custos desta análise para 100 amostras.

Tabela 10 – Materiais necessários para análise por Infravermelho para analisar 100 amostras.

Materiais	Quantidade	Custo (R\$)
Pipetas de Pasteur	100	4,80
Rolo de papel higiênico	4	8,00
Água deionizada	10 L	20,00
	Custo total (R\$)	32,80

Um fator importante que podemos considerar vantajoso é o tempo de análise. No método de determinação de proteína o tempo de análise é de aproximadamente 3 horas para cada amostra. Considerando que o laboratório seja equipado com equipamento digestor/destilador de Kjeldahl, que consiga analisar até 6 amostras ao mesmo tempo, analisar 100 amostras, em duplicata levaria 100 horas, Se formos considerar turnos de trabalho de 8 horas por dia, levariam 12 dias e mais meio turno para o término de todas as amostras.

Para a determinação de glicídios totais, o tempo de análise total pode chegar a 4 horas, para cada amostra. Um ponto importante de ser ressaltado é que a análise é muito demorada, complexa exigindo muitos equipamentos e vidrarias, não havendo um equipamento específico que faça a análise como o Kjeldahl para proteínas. Considerando que o laboratório possua todos os equipamentos e vidrarias necessárias para analisar 4 amostras ao mesmo tempo, analisar 100 amostras, em duplicata levaria 200 horas. Se formos considerar turnos de trabalho de 8 horas por dia levariam 25 dias para o término de todas as amostras.

Na utilização da técnica por infravermelho o tempo de análise por amostra, em média, é de 4 minutos. Logo 100 amostras, em duplicata, demoraria 800 minutos o que equivale a 13 horas e 20 minutos, considerando apenas uma equipamento em uso. Podemos ainda acrescentar, de forma superestimada, mais 40 minutos para tratamento dos dados e totalizaremos 14 horas de análise total. Considerando o mesmo turno de trabalho, 8 horas por dia, levariam menos de 2 dias para realizar todas as análises.

Em termos relativos, o custo de mão de obra para analisar 100 amostras para a determinação de proteínas e glicídios, respectivamente, é 6 e 12 vezes maior em comparação com a análise por infravermelho.

Mas a principal vantagem da utilização do método por infravermelho em relação aos outros métodos apresentados é a não utilização de reagentes químicos, que além de oferecerem risco ao analista geram resíduos tóxicos, tratar-se de um método não destrutivo o que o torna ambientalmente amigável, sendo adequado para o controle de produtos industrializados.

8 CONCLUSÕES

A espectroscopia no infravermelho combinado com as ferramentas quimiométricas de análise multivariada como a análise hierárquica de agrupamentos (HCA) e a análise por componentes principais (PCA) possibilitou o desenvolvimento de um método para a determinação de adulteração de bebidas a base de soja por adição de água principalmente quando os teores estiveram acima de 5%.

A técnica também se mostrou promissora na identificação das distintas marcas dos produtos estudados, sendo necessária a seleção da faixa espectral com informação mais relevante, que esta relacionada com os diferentes teores de constituintes, possivelmente os glicídios. Neste caso foi imprescindível a utilização de um método de seleção denominado análise por componentes principais por intervalo (iPCA).

De forma semelhante a combinação da espectroscopia por FTIR-ATR com iPCA permitiu observar algumas evidências que caracterizam os diferentes tipos de suco estudados. Entretanto, nada conclusivo, necessitando de estudos complementares com maior número de amostras.

A utilização de toda a faixa de impressão digital ($1899-900\text{ cm}^{-1}$) para a análise de agrupamentos (HCA) resultou em grupos cuja característica principal entre as amostras foi a marca dos produtos estudados, mesmo aqueles adulterados com 25% de água. Com isto pode-se dizer que a informação espectral obtida contém em primeira mão um *fingerprint* de cada um dos produtores das BBS estudadas.

9 SUGESTÕES PARA CONTINUIDADE DO TRABALHO

A ampliação do número de amostras contemplando outros sucos permitiria um estudo empregando métodos de classificação multivariada que poderiam inferir sobre a autenticidade das amostras. Também a realização de análises quantitativas por métodos oficiais via úmida ou instrumental permitiriam a construção de modelos de regressão multivariados visando a obtenção de metodologias alternativas mais rápidas e limpas para a determinação de glicídios e proteínas em amostras de BBS.

REFERÊNCIAS

- 1) FERREIRA, D. S. **Aplicação de espectroscopia no infravermelho e análise multivariada para previsão de parâmetros de qualidade em soja e quinoa**. 2013. 119 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.
- 2) MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**: Soja. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja/saiba-mais>>. Acesso em: 25 agosto 2014.
- 3) **USDA**. United States Department of Agriculture. Soybeans: World Supply and Distribution. Disponível em <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdReport.aspx?hidReportRetrievalName=Table+07%3a+Soybeans%3a+World+Supply+and+Distribution&hidReportRetrievalID=706&hidReportRetrievalTemplateID=8>>. Acesso em: 06 novembro 2014.
- 4) EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=7>. Acesso em: 05 nov 2014.
- 5) PAXTON, J. S. Soy Protein: Your Key To Better Health , Phytoestrogens: The Biochemistry, Physiology, and Implications for Human Health of Soy Isoflavones **American Society for Clinical Nutrition**. USA 1998. 68. p.13335-465.1998
- 6) AMARAL, V. M. G. **A importância da soja como alimento funcional para qualidade de vida e saúde**. 2007. 71 f. Dissertação (Mestrado em Gestão da Qualidade). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- 7) ABREU, C.R.A.de.; CARVALHO, J.M.de.; MAIA, G.A.; PINHEIRO, A.M.; SOUSA, P.H.M.de. Avaliação química e físico-química de bebidas de soja com frutas tropicais. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.18, n.3, p. 291-296, jul.set. 2007.
- 8) PAPALEO, V. T. **As propriedades da proteína de soja na alimentação humana**. 2004. 44f. Monografia (Qualidade em Alimentos). Universidade de Brasília, Brasília, 2004.
- 9) HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. 1055 p.
- 10) DANTAS FILHO, H. A. **Desenvolvimento de técnicas quimiométricas de compressão de dados e de redução de ruído instrumental aplicadas a óleo diesel e madeira de eucalipto usando espectroscopia NIR**. 2007. 158 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- 11) BARBOSA, L.C. **Espectroscopia no Infravermelho na Caracterização de Compostos Orgânicos**. Viçosa. Ed. Da UFV. 2007. 189 p.

- 12) PANTOJA, P. A. **Aplicação da espectroscopia de infravermelho próximo na caracterização da carga de petróleo para o processo de destilação atmosférica.** 2006. 128 f. Tese (Mestrado em Engenharia) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- 13) HARRICK, N. J., Surface chemistry from spectral analysis of totally internally reflected radiation, **J. Phys. Chem.** – 64, 1110 – 1114, 1960.
- 14) MIRABELLA, J.R., F.M. Internal reflection spectroscopy, **Appl. Spectrosc. Rev.** 21, 45 – 178, 1985.
- 15) FERRÃO, M. F. **Aplicação de técnicas espectroscópica de reflexão no infravermelho no controle de qualidade de farinha de trigo.** 2000. 219 f. Dissertação (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.
- 16) ALISKE, M. A. **Medidas de espectrometria no infravermelho médio para a determinação do teor de biodiesel em óleo diesel.** 2010. 100 f. Dissertação (mestrado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- 17) TREVISAN, M. G.; POPPI, R. J. Química Analítica De Processos. **Química Nova**, V. 29, n. 5, p.1065-1071, 2006.
- 18) SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimentos didáticos de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: Um tutorial, parte I. **Química Nova**, V. 35, n. 1, p.223-229, 2012.
- 19) PARREIRA, T. F. **Utilização de métodos quimiométricos em dados de natureza multivariada.** 2003. 90 f. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.
- 20) PASCUET, N. S.; TIGLEA, P.; ZENEBON, O. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4. Ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005.
- 21) MORGANO, M.A. **Aplicação de métodos quimiométricos em análise de alimentos.** 2005. 127 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- 22) ARCHETA, E., DALL'ANTONIA, L.H., Determinação de compostos fenólicos em vinho: Uma revisão. **Semina: Ciência Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 34, n.2, p. 193-210, jul./dez.2013.
- 23) SANTOS, P.M, et al. Rapid detection and quantification of milk adulteration using infrared microspectroscopy and chemometrics analysis. **Food Chemistry**, 138 19–24 2013.
- 24) AMMARI, F.et al. Detection of orange juice frauds using front-face fluorescence spectroscopy and Independent Components Analysis. **Food Chemistry**, 168 211–217 2015.

- 25) SNYDER, A. B. et AL. Rapid authentication of concord juice concentration in a grape juice blend using Fourier-Transform infrared spectroscopy and chemometric. **Food Chemistry**, 147 295–301 2014.
- 26) ŠNURKOVIČ PETR: Quality assessment of fruit juices by NIR spectroscopy. **Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis**, LXI, No. 3, pp. 803–812 2013.
- 27) PERKIN ELMER. Catálogo do Fabricante. Disponível em: <http://shop.perkinelmer.com/content/relatedmaterials/specificationsheets/spc_spectrum400ft.pdf> . Acesso em: 10 de Outubro de 2014

REFERÊNCIAS CONSULTADAS

ALIMENTUS. Extrato de soja. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/alimentus/objetos-de-aprendizagem/soja/extrato-de-soja>>. Acesso em: 24 outubro 2014.

ALIMENTUS. Isolando proteico. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/alimentus/objetos-de-aprendizagem/soja/isolado-proteico>>. Acesso em: 24 outubro 2014.

CORREA, C. **Avaliação do uso de espectroscopia no infravermelho para controle e garantia da qualidade da blenda biodiesel/diesel usando cartas de controle multivariadas.** 2012. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Industrial). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.