

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

CARLOS HENRIQUE JUNGES

**CLASSIFICAÇÃO DE SUCOS DE UVA COM RELAÇÃO AO
MODO DE PRODUÇÃO EMPREGANDO ESPECTROSCOPIA
DE FLUORESCÊNCIA E QUIMIOMETRIA**

PORTO ALEGRE, 2020.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

CARLOS HENRIQUE JUNGES

**CLASSIFICAÇÃO DE SUCOS DE UVA COM RELAÇÃO AO
MODO DE PRODUÇÃO EMPREGANDO ESPECTROSCOPIA
DE FLUORESCÊNCIA E QUIMIOMETRIA**

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

Prof. Dr. Adriano de Araújo Gomes
Orientador

PORTO ALEGRE, 2020.

AGRADECIMENTOS

A minha família pelo suporte e incentivos concebidos ao decorrer de todos os momentos vividos durante o curso.

Ao Prof. Dr. Adriano de Araújo Gomes pelos ensinamentos, orientações e receptividade ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marco Flôres Ferrão pelos valiosos esclarecimentos e disponibilidade na produção deste projeto.

A Embrapa Unidade Uva e Vinho de Bento Gonçalves-RS pela gentileza ao fornecer os sucos de uva que foram as matérias-primas usadas para o desenvolvimento desta pesquisa.

A todos do Laboratório de Quimiometria e Instrumentação Analítica (LAQIA) pelos auxílios e colaborações na realização deste estudo.

A todos os professores e colegas de ensino na qual tive o prazer de conhecê-los.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

RESUMO

O consumo de suco de uva vem crescendo dia a dia em razão da procura constante dos consumidores que buscam obter uma dieta mais saudável pela inserção de alimentos naturais. O Estado do Rio Grande do Sul é responsável por mais de 50% do volume de colheita de uva e em torno de 90% da produção de suco de uva no Brasil, garantindo produtos alimentícios com qualidade e procedência. No entanto, essa produção é heterogênea em virtude tanto das variedades de uva empregadas quanto ao tipo de cultivo e modo de elaboração do suco. Ademais, a geografia física e o clima de cada região e de cada safra influenciam bastante nas uvas elaboradas e, por consequência, nos sucos produzidos por meio destas. Neste contexto, a presente monografia procurou identificar padrões de similaridade entre sucos de uva produzidos no Rio Grande do Sul por meio de um estudo de classificação com respeito ao modo de produção empregando a metodologia da espectroscopia de fluorescência molecular e utilização de quimiometria. Os melhores resultados obtidos demonstraram que a análise discriminante linear (LDA) pode classificar de modo eficiente e satisfatório as amostras de suco de uva de acordo com o processo adotado de produção convencional ou orgânico com 100% na validação do modelo e de 100% na estimação das classes das amostras do conjunto de teste para o algoritmo genético (GA). Além disso, o modelo apresentou elevada seletividade e sensibilidade para as amostras de treino e de teste e foi possível, ainda, determinar as variáveis mais significativas que explicam a separação das classes. As demais ferramentas de quimiometria utilizadas como a PCA, a HCA e a PLS-DA obtiveram soluções moderadas a boas na taxa de acerto. Portanto, a combinação da fluorescência com a quimiometria pode ser aplicado como um novo método alternativo de classificação de sucos de uvas, além de ser viável para o controle de qualidade em indústrias alimentícias a fim de evitar possíveis adulterações e/ou falsificações do produto.

Palavras-chave: Suco de Uva. Fluorescência. Classificação. Quimiometria.

ABSTRACT

The consumption of grape juice has been growing day by day due to the constant demand of consumers seeking to obtain a healthier diet by the insertion of natural foods. The State of Rio Grande do Sul is responsible for more than 50% of the volume of grape harvest and around 90% of grape juice production in Brazil, ensuring food products with quality and provenance. However, this production is heterogeneous due to both the grape varieties used and the type of cultivation and mode of preparation of the juice. Moreover, the physical geography and climate of each region and each crop greatly influence the grapes produced and, consequently, in the juices produced through them. In this context, the present monograph sought to identify patterns of similarity between grape juices produced in Rio Grande do Sul through a classification study with respect to the mode of production using the methodology of molecular fluorescence spectroscopy and the use of chemometry. The best results showed that linear discriminant analysis (LDA) can efficiently and satisfactorily classify grape juice samples according to the adopted conventional or organic production process with 100% in model validation and 100% in estimating the classes of samples in the test set for the genetic algorithm (GA). In addition, the model presented high selectivity and sensitivity for the training and test samples and it was also possible to determine the most significant variables that explain the separation of classes. The other chemometry tools used as PCA, HCA and PLS-DA obtained moderate to good solutions in the hit rate. Therefore, the combination of fluorescence with chemometrics can be applied as a new alternative method of classification of grape juices, besides being feasible for quality control in food industries in order to avoid possible adulteration and/or counterfeits of the product.

Keywords: Grape Juice. Fluorescence. Classification. Chemometrics.

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Exemplo representativo de cultivo de videira <i>Vitis Vinífera</i>	22
FIGURA 2. Quantidade média produzida de uva no Brasil no período 2016-2018	26
FIGURA 3. Quantidade média produzida de uva no RS no período 2016-2018	27
FIGURA 4. Diagrama Jablonski com as transições de energia do fenômeno da fluorescência	29
FIGURA 5. Gráfico representativo de escores de PC1 versus PC2 obtido por PCA	32
FIGURA 6. Dendrograma representativo obtido por HCA com diferentes <i>clusters</i> formados ...	33
FIGURA 7. Trajeto e comportamento das formigas explicado pela presença de feromônios	35
FIGURA 8. pHmetro portátil empregado nas análises de suco de uva	40
FIGURA 9. Espectrômetro de fluorescência utilizado nas análises de suco de uva	41
FIGURA 10. Gráfico representativo do espectro de fluorescência das amostras de suco de uva ...	43
FIGURA 11. Espectros brutos de emissão de fluorescência das amostras de suco de uva ...	44
FIGURA 12. Região de trabalho dos espectros de emissão de fluorescência das amostras de suco de uva	44
FIGURA 13. Região de trabalho dos espectros de emissão de fluorescência de suco de uva em que a cor azul representa as amostras convencionais e a cor vermelha equivale as amostras orgânicas	45

FIGURA 14. Gráfico de escores da PC1 versus PC2 do modelo PCA das amostras de suco de uva	46
FIGURA 15. Gráfico de pesos da PC1 do modelo PCA das amostras de suco de uva	47
FIGURA 16. Dendrograma gerado por HCA das amostras de suco de uva	48
FIGURA 17. Variáveis mais relevantes das amostras de treinamento pelo algoritmo PLS-DA	49
FIGURA 18. Gráfico de escores das amostras de treinamento e das amostras de teste pelo algoritmo PLS-DA	50
FIGURA 19. Gráfico de escores das amostras de treinamento pelo algoritmo ACO	52
FIGURA 20. Gráfico de escores das amostras de teste pelo algoritmo ACO	52
FIGURA 21. Seleção das variáveis mais importantes nas amostras de treino pelo algoritmo ACO	53
FIGURA 22. Seleção das variáveis mais relevantes nas amostras de teste pelo algoritmo ACO	54
FIGURA 23. Gráfico de escores das amostras de calibração pelo algoritmo GA	55
FIGURA 24. Gráfico de escores das amostras de predição pelo algoritmo GA	55
FIGURA 25. Variáveis mais expressivas nas amostras de calibração pelo algoritmo GA	57
FIGURA 26. Variáveis mais significativas nas amostras de predição pelo algoritmo GA ...	57

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA I. Valores nutricionais padrão do suco de uva	24
TABELA II. Evolução anual da área plantada e volume produzido de uva no Brasil e no RS	26
TABELA III. Produção de suco de uva na safra 2019 no Estado do Rio Grande do Sul	28
TABELA IV. Metodologias e variedades das amostras de suco de uva analisadas	39
TABELA V. Matriz de confusão do modelo de classificação construído com o algoritmo PLS-DA baseado em dados de fluorescência de amostras de suco de uva	50
TABELA VI. Matriz de confusão do modelo de classificação desenvolvido com o algoritmo ACO-LDA a partir de dados de fluorescência de amostras de suco de uva	53
TABELA VII. Matriz de confusão do modelo de classificação produzido com o algoritmo GA-LDA segundo dados de fluorescência de amostras de suco de uva	56

ABREVIATURAS

¹HRMN - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

ACO - Algoritmo de Otimização por Colônia de Formigas

ATR - Reflectância Total Atenuada

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

CPE - Elemento de Fase Constante

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FTIR - Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

GA - Algoritmo Genético

GC-MS - Cromatografia em Fase Gasosa Acoplada com Espectrometria de Massa

HCA - Análise de Agrupamentos Hierárquicos

ICP-MS - Espectrometria de Massas por Plasma Acoplado Indutivamente

IR - Espectroscopia no Infravermelho

LDA - Análise Discriminante Linear

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MM - Massa Molar

NIR - Espectroscopia no Infravermelho Próximo

PC - Componente Principal

PCA - Análise de Componentes Principais

PLS - Regressão por Mínimos Quadrados Parciais

PLS-DA - Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais

PLS-DM - Modelagem de Densidade por Mínimos Quadrados Parciais

PMMA - Polimetilmetacrilato

RS - Rio Grande do Sul

SIMCA - Modelagem Independente e Flexível por Analogia de Classe

SPME - Microextração por Fase Sólida

TCC - Taxa de Classificação Correta

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UV-VIS - Espectroscopia por Ultravioleta-Visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVO	15
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. ESTADO DA ARTE	16
4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
4.1 UVA	20
4.1.1 Histórico	20
4.1.2 Suco de Uva	21
4.1.2.1 Composição Química	23
4.1.2.2 Legislação Brasileira	24
4.1.3 Consumo e Produção	25
4.2 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR	28
4.3 QUIMIOMETRIA	30
4.3.1 Análise Multivariada	30
4.3.1.1 Análise de Componentes Principais (PCA)	31
4.3.1.2 Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA)	32
4.3.1.3 Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-LDA)	33
4.3.1.4 Análise Discriminante Linear (LDA)	34
4.3.2 Seleção de Variáveis	34

4.3.2.1 Algoritmo de Otimização por Colônia de Formigas (ACO)	35
4.3.2.2 Algoritmo Genético (GA)	36
4.3.3 Pré-Processamento dos Dados	36
5. METODOLOGIA	38
5.1 MATERIAS E REAGENTES	38
5.2 INSTRUMENTAÇÃO	39
5.3 PREPARO DAS AMOSTRAS	41
5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
6.1 ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA	43
6.2 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS	45
6.3 ANÁLISE DE AGRUPAMENTOS HIERÁRQUICOS	47
6.4 ANÁLISE DISCRIMINANTE POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS	48
6.5 ANÁLISE DISCRIMINANTE LINEAR	51
7. CONCLUSÕES	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXOS	67

1. INTRODUÇÃO

A crescente procura por um estilo de vida mais saudável atrelado à prevenção de doenças tem conduzido para um consumo maior de produtos naturais. A inclusão de frutas e seus derivados como os sucos de frutas são fundamentais para mudanças nutricionais apropriadas a fim de se obter uma dieta balanceada e benéfica. Os sucos de frutas são apreciados e consumidos em todo o mundo, não só pelo seu sabor, mas também por serem fontes ricas e naturais de vitaminas, carboidratos, carotenoides e minerais¹⁻³. Nessa conjuntura, o setor da fruticultura tem sido impulsionado pela demanda na ingestão de espécies frutíferas que apresentem qualidade e procedência.

Esses alimentos são cultivados habitualmente por processos de produção referidos como convencionais, que são caracterizados pela aplicação intensiva de defensivos agrícolas e fertilizantes. Estes produtos químicos são empregados para eliminar vários tipos de pragas e para elevar a produtividade, no entanto ocasionam prejuízos ao meio ambiente e a saúde humana. Diante disso, o consumo dos produtos alimentícios conhecidos como orgânicos, em que o cultivo não utiliza pesticidas, estão em significativa expansão e surgem como alternativas substitutas valiosas. A produção em larga escala destes alimentos orgânicos ainda é complicada, o que torna, em consequência, mais caro o preço final para o consumidor⁴. Além disso, esses alimentos orgânicos são alvos de constantes adulterações ou falsificações intencionais pela mudança parcial ou total da matéria-prima original por outra de menor valor agregado como forma do fabricante obter vantagem.

No tocante à produção, o Brasil gera na ordem de 45 milhões de toneladas de frutas por ano, das quais 65% são reservadas ao mercado interno e 35% são destinadas para o exterior, mantendo-se constantemente entre os três maiores produtores do mundo, ficando somente atrás da China e Índia, o que demonstra o papel relevante do país, representando cerca de 5% da produção mundial de frutas. Metade da produção brasileira de frutas é usada para produzir sucos, néctares e polpas, em que o sabor mais preferido pelos consumidores é o de uva com 31% do total⁴⁻⁷. A produção de uvas no Brasil é em torno de 1,5 milhões de toneladas por ano. Deste volume, a maior parte produzida é principalmente destinada ao processamento via artesanal ou industrial para a elaboração de vinhos, sucos, geleias e outros derivados, enquanto que o restante da quantidade é comercializado para o consumo *in natura* como uvas de mesa⁸⁻¹⁰.

A produção vitivinícola apresenta atualmente, em 2020, um total de 74 mil hectares plantados com mais de 1,1 mil vinícolas distribuídas pelo país, a maioria instalada em

pequenas propriedades de agricultura familiar¹⁰⁻¹². A região sul é responsável por mais de 60% da produção de uva e suco no país, com destaque para o Estado do Rio Grande do Sul (RS) que produz cerca de 50%, sendo o maior produtor nacional da fruta. É ainda relevante mencionar que o Rio Grande do Sul fomenta, neste momento, cerca de 90% da fabricação nacional de vinhos e sucos de uva. O consumo do suco de uva integral, do mesmo modo, tem se ampliado no decorrer dos últimos anos, em evidência pelos inúmeros benefícios proporcionados à saúde, colocando o Brasil entre os maiores países produtores e consumidores de uva e suco da fruta⁹.

O suco de uva integral pode ser obtido por inúmeras metodologias, sem o acréscimo de açúcares e na sua concentração natural¹³. As propriedades e a autenticidade dos sucos de uva podem ser descritas por diferentes parâmetros físicos e químicos, no qual, para isso, se faz relevante avaliar o uso de métodos confiáveis, práticos, não destrutivos, de rápida execução e, de preferência, de baixo custo operacional para o controle do setor público, industrial e de pesquisas¹⁴. Nesse quadro insere-se a técnica espectroscópica de fluorescência, intensamente desenvolvida nos últimos anos, pois fornece informações relevantes sobre moléculas fluorescentes e seu ambiente em amostras biológicas e alimentares. Na uva estão presentes essas substâncias que emitem fluorescência como a classe dos compostos fenólicos. Portanto, a fluorescência fornece em poucos segundos um espectro que pode ser usado como impressão digital de sucos de uva¹⁵.

O progresso no desenvolvimento das tecnologias na instrumentação química e nos microcomputadores tem permitido a geração e o processamento de uma quantidade cada vez maior em termos de dados. No entanto, essa disponibilidade de um grande conjunto de informações não sugere que a interpretação dos dados seja simples e imediata. Dentro desse cenário se aplica a Quimiometria, que consiste no uso de princípios estatísticos, modelos matemáticos e ciência da computação para manusear, analisar e prever dados de origem química. Em outras palavras, permite converter dados numéricos adquiridos por meio dos instrumentos em informação de caráter químico. Assim, os métodos estatísticos multivariados já são aplicados com sucesso na ciência dos alimentos e tornam-se ferramentas úteis para controle de qualidade e caracterização de sucos com relação a sua origem geográfica^{16,17}.

Dentro deste contexto, o intuito dessa monografia foi desenvolver uma pesquisa para classificar sucos de uva originárias da serra gaúcha com respeito ao modo de produção convencional e orgânico utilizando como metodologia a espectroscopia de fluorescência aliada às técnicas de quimiometria.

2. OBJETIVO

Neste trabalho é proposto o uso da espectroscopia de fluorescência molecular combinada com quimiometria para classificação de sucos de uva produzidos no Rio Grande do Sul conforme o modo de produção convencional e orgânico empregado.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar as condições de aquisição do sinal de fluorescência molecular;
- Inspeccionar os dados de fluorescência de forma não supervisionada a fim de avaliar o poder discriminante dos mesmos;
- Classificar as amostras de sucos de uva segundo o processo de produção (convencional e orgânico).

3. ESTADO DA ARTE

A indústria de alimentos busca constantemente o auxílio de instrumentos com precisão em análises de caracterização e monitoramento da qualidade de seus insumos e produtos, uma vez que assegurar a garantia de autenticidade e de procedência sobre os gêneros alimentícios é uma demanda cada vez mais crescente^{18,19}. A importância do controle da fraude alimentar é indispensável, pois tem implicações na segurança alimentar e na saúde dos consumidores.

Diversas metodologias analíticas já foram desenvolvidas para estabelecer os atributos e o controle de qualidade dos produtos alimentares, incluindo a cromatografia líquida de alto desempenho, cromatografia gasosa com coluna capilar, ressonância magnética nuclear, espectrometria de massa com pirólise, análise isotópica, entre outras. Apesar dessas ferramentas serem muito úteis e precisas, são geralmente demoradas e requerem operadores altamente instruídos^{18,20}.

Nesse cenário, como exemplo da utilização de metodologias convencionais em sucos de uva, temos o estudo envolvendo a aplicação de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (¹H RMN) e análise quimiométrica para avaliação do controle de qualidade do suco de uva. A vantagem de utilizar esse método é de simultaneamente detectar todos os compostos em um único experimento de RMN adquirido diretamente da amostra. A pesquisa mostrou que o processo de esterilização de sucos de uva foi eficaz, sendo possível estocar por longos períodos sem aditivos. Além disso, a quimiometria pela análise por componentes principais (PCA) pode ser usada para determinar a autenticidade de sucos de uva após a adulteração²¹.

Outro trabalho abrange em determinar os componentes do aroma de sucos de uva comerciais por microextração em fase sólida (SPME) seguida de cromatografia em fase gasosa acoplada com espectrometria de massa (GC-MS) e combinada com técnica quimiométrica da PCA. Os resultados poderiam servir como referência para o controle de qualidade do suco de uva, pois foram identificados compostos químicos semelhantes para cada suco de uva, no entanto com quantidades diferentes desses constituintes. A diferença desses componentes aromáticos resultou nas características de sabor únicas dos sucos de uva analisados²².

Nessa linha de estudos em alimentos tendo como aliado o uso da técnica analítica de GC-MS, o estudo seguinte trata de uma abordagem metabolômica não direcionada para classificar perfis voláteis de sucos de uva com base na presença de diferentes patógenos

fúngicos. A deterioração das uvas por fungos leva à formação de compostos de sabor desagradáveis, alguns dos quais são bem caracterizados, mas outros permanecem não identificados. Deste modo, os cachos de uva foram inoculados com espécies fúngicas distintos e misturados com frutas saudáveis, a fim de fornecer em torno de 10% (v/v) de suco infectado. Os dados de GC-MS dos íons de massa somados normalizados foram processados pela análise quimiométrica de análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) e indicaram classificação amostral segundo o patógeno²³.

Avançando nessa abordagem sobre relacionar diferenças consideráveis entre sucos de uva para fins de classificação, além de verificar a sua autenticidade, a pesquisa seguinte propôs estabelecer os elementos químicos presentes em amostras de suco de diversas variedades de uva produzidos pelos métodos convencional (com o uso de defensivos agrícolas) e orgânico pelo uso de espectrometria de massas por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). A PCA e a modelagem independente e flexível por analogia de classe (SIMCA) empregadas para a interpretação dos dados espectrométricos foram capazes de discriminar amostras orgânicas das comuns e podem ser usados como alternativa para análise de adulteração²⁴.

O emprego e o estímulo ao intenso desenvolvimento de técnicas analíticas de simples operação, baratos e com rápida obtenção de resultados se mostram, assim, significativos para avaliar diretamente a qualidade dos alimentos. Os métodos espectroscópicos, nesse contexto, surgem como relevantes, visto que são comumente acessíveis, rápidos, não destrutivos e exigem pouca ou nenhuma preparação da amostra, apresentando, contudo, a desvantagem de baixa especificidade. Logo, são instrumentos robustos para testes de adulteração em sucos de uva²⁵. Mais adiante, os dados gerados a partir de métodos analíticos rápidos podem ser processados utilizando inúmeras técnicas de análise multivariada de Quimiometria como PCA, análise de *clusters*, análise discriminante linear (LDA), regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), dentre outros, para determinar os fatores mais importantes de origem, reconhecer padrões e modelos de classificação em alimentos e também para a detecção de fraudes alimentares^{20,26}.

A espectroscopia no infravermelho (IR) surgiu como uma opção atraente frente aos métodos clássicos que são habitualmente utilizados na indústria e nas áreas de pesquisas, pois oferece uma análise ligeira, econômica e não destrutiva das amostras, além da perspectiva de determinar inúmeros compostos químicos diferentes simultaneamente em uma única análise espectral. Por conseguinte, é uma técnica apontada como um meio válido e ágil de verificação das características e da segurança dos alimentos^{18,27}.

A espectroscopia no infravermelho médio com Transformada de Fourier (FTIR) pode ser aplicada para obter informações sobre a estrutura química presente em uma amostra alimentícia e também para verificar possíveis contrastes de composição entre amostras de alimentos, por meio da identificação de movimentos vibracionais e rotacionais das ligações moleculares de vários grupos químicos em comprimentos de onda específicos na região infravermelha média do espectro. Os benefícios em usar a espectroscopia do infravermelho médio abrangem a velocidade de análise, o mínimo de preparo de amostras, não ser poluente e a seletividade potencial quando associada às técnicas de análise de dados quimiométricos^{11,18,27}.

Nessa conjuntura, um trabalho utilizando o FTIR foi elaborado com a proposta de desenvolver uma metodologia alternativa para classificação entre vinho e suco de uva utilizando como ferramenta a técnica de espectroscopia no infravermelho aliada à técnica multivariada da PCA¹¹. Outro estudo compreende avaliar a capacidade da FTIR com reflectância total atenuada (ATR), em combinação com técnicas quimiométricas, de discriminar sucos de uva da variedade Chardonnay de diferentes regiões do Sul da Austrália em duas estações e prever o grau de qualidade dos frutos obtidos de cada região²⁷.

Ademais, outra pesquisa encontrada na literatura envolve o aproveitamento da FTIR-ATR em determinar se os néctares de uva foram adulterados por substituição por suco de maçã ou suco de caju e uso de diferentes tipos de classificação multivariada: SIMCA, PLS-DA e modelagem de densidade por mínimos quadrados parciais (PLS-DM)²⁵. Seguindo na linha de pesquisas para detectar adulterações, foi desenvolvido um dispositivo sensor de Elemento de Fase Constante (CPE, do inglês *Constant Phase Element*) com revestimento de filme fino de polimetilmetacrilato (PMMA) para identificar amostra de suco de uva adulterado com solução de açúcar e água empregando como técnica de análise de dados PCA, LDA e Box plot²⁸.

A utilização de sistemas multissensores, conhecidos como línguas eletrônicas, apresentam-se como promissores para a análise de alimentos. Esses dispositivos requerem o uso de uma matriz de sensores químicos com respostas parcialmente seletivas mais uma ferramenta quimiométrica multivariada e permite que análises qualitativas (caracterização, classificação) e/ou quantitativas (multideterminação) sejam obtidas em meio líquido. Como modelo temos um estudo em que se emprega um sistema multissensor combinado com análise multivariada (PCA e SIMCA) para a caracterização e classificação de sucos de uva branca. O sistema proposto consiste em uma matriz de microssensores eletroquímicos e um sistema

fluido-óptico colorimétrico. Os resultados revelam que o instrumento expressa alta capacidade para classificar e discriminar as variedades de uvas analisados²⁹.

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), do mesmo modo, tem sido empregada satisfatoriamente em estudos de autenticação de diversos gêneros alimentícios, incluindo vinho e suco de uva. Nesse método a informação surge de sobretons e combinações de tais vibrações moleculares com a formação de bandas de absorção menos nítidas, tornando-as mais difíceis de interpretar. Uma pesquisa desenvolvida que utiliza essa técnica propôs avaliar a utilidade da espectroscopia NIR e FTIR combinada com técnicas de reconhecimento de padrões para diferenciar variedades de suco de uva¹⁸.

A espectroscopia por ultravioleta-visível (UV-VIS) é, igualmente, uma das técnicas laboratoriais analíticas utilizadas mais comuns para análise quantitativa e qualitativa de alimentos, em que permite a determinação de moléculas orgânicas e inorgânicas e grupos funcionais em moléculas. As absorções na região UV-VIS decorrem devido a excitações eletrônicas e vibracionais. Todos os compostos orgânicos contêm elétrons suscetíveis à excitação a níveis mais altos por absorção de energia e essa absorção está relacionada com a concentração de moléculas absorventes. Os dados espectrais refletem, assim, a composição molecular dos alimentos^{14,29}. A espectroscopia na faixa de comprimento de onda visível fornece diretamente informações de cor, e tais comprimentos de onda são usados para quantificar pigmentos em amostras³⁰. A metodologia é considerada de fácil manuseio, veloz na obtenção de resultados, precisa, barata e benéfica ao meio-ambiente, sendo usada para autenticação da origem geográfica, a identificação varietal e a determinação da pureza e da qualidade de sucos de uva^{14,20}.

Um exemplo de pesquisa envolvendo a aplicação da espectroscopia por UV-VIS em sucos com quimiometria teve como objetivo propor um método de triagem rápido para detectar adulterações em sucos de romã pela adição de água ou outros sucos de enchimento que podem acarretar na redução da capacidade antirradical do suco puro. O método analítico foi aplicado a sucos comerciais, a sucos produzidos em laboratório e a misturas experimentais representativas em diferentes níveis de água e sucos de enchimento. A estratégia proposta pode ser um meio de seleção útil para avaliar a adição de sucos de enchimento e água para sucos de romã³¹. Portanto, o emprego de métodos espectroscópicos apresenta-se de grande importância e serventia na análise de vários gêneros alimentícios.

4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1 UVA

4.1.1 Histórico

O cultivo da videira é tão remoto quanto o início da civilização humana. Vestígios de fósseis de folhas e de sementes de uva descobertos na região do Cáucaso, situado entre a Europa oriental e Ásia ocidental, onde atualmente corresponde ao país da Geórgia, por volta de 7000 a 5000 anos a.C. (datados por marcação de carbono), apontam que o plantio para fins de consumo alimentar do fruto já era empregado pelos seres humanos. Territórios adjacentes como dos antigos povos do Egito e da Mesopotâmia também remontam a existência de viticultura há cerca de 5000 a 6000 anos por meio de registros arqueológicos. A disseminação da uva acompanhou a expansão do Império Romano, primeiro nas zonas costeiras do Mediterrâneo e posteriormente em direção ao interior, acompanhando as principais rotas de comércio da época³²⁻³⁴.

O ingresso da uva no Brasil foi realizado em 1532 por Martim Afonso de Souza que trouxe as primeiras videiras de *Vitis Vinífera*, provenientes de Portugal e da Espanha, para a capitania hereditária de São Vicente, atual Estado de São Paulo, sendo propícias para a produção de vinho. No começo a cultura foi cultivada no litoral, no entanto se dispersaram pelas demais áreas devido a boa adaptação ao solo e ao clima e passaram a fornecer bons frutos. As primeiras videiras plantadas no Estado do Rio Grande do Sul datam de 1626 pelos padres jesuítas e mais tarde foram trazidas também pelos imigrantes alemães. Entretanto, o plantio de vides para produção e comercialização de vinhos foram proibidos no país devido a um decreto protecionista imposto por Portugal em 1789³²⁻³⁵.

Durante o século XIX decorreu o declínio da plantação de uva, em razão da importação de videiras infectadas com doenças fúngicas. Mantida como agricultura familiar, a viticultura no Brasil, e principalmente a gaúcha, recebeu um forte estímulo a partir de 1875 com a vinda dos imigrantes italianos, que trouxeram a tradição de produção e consumo de vinhos, além de espécies europeias de vinhedo. Entretanto, as condições climáticas não propiciaram um plantio favorável dessas castas. Destarte, a inserção de espécies de origem americana forneceu a base para o estabelecimento e consolidação do cultivo de uva no Rio

Grande do Sul para fins de comércio. Nesse quadro, a viticultura no Brasil é recente em comparação com países tradicionais nesta cultura como Itália, França, Espanha e Portugal³²⁻³⁵.

A viticultura brasileira exibe particularidades que a diferenciam das tradicionais regiões vitícolas do mundo, relacionadas a condições territoriais, ambientais e históricas. Devido à vasta extensão de área no Brasil, há contrastes importantes de clima entre as regiões produtoras, localizadas principalmente no Sul, Sudeste e Nordeste, surgindo, como consequência, ciclos típicos dos estágios vegetativos da videira e das temporadas de colheita. As diversas produções agrícolas de uva no Brasil apresentam características de diversidade e de complexidade, distinguindo-se pelo solo, condições climáticas, modo de plantio, processamento, ciência e engenharia aplicadas, entre outros fatores, o que origina em propriedades variadas dos seus produtos derivados¹¹.

4.1.2 Suco de Uva

Os sucos de uva apresentam um conjunto de substâncias químicas complexo e variado, sendo ricos em metabólitos primários como proteínas, carboidratos e lipídios, e metabólitos secundários, dentre os quais se destacam os compostos fenólicos (particularmente antocianinas, taninos, flavonóis, catequinas e outros flavonoides), de muito interesse pois estão associados à qualidade do alimento. Estes compostos, de fato, contribuem para características sensoriais das uvas e dos sucos, particularmente em termos de cor, amargura e adstringência. Em geral, o teor de compostos fenólicos aumenta ao longo do amadurecimento da uva e pode ser diretamente alterado pelo déficit hídrico. Logo, a composição química está atrelada à matéria-prima empregada, ao estado de maturação, à forma de cultivo, aos tratamentos a que a uva foi submetida, entre outros. O estágio de amadurecimento da uva é, aliás, o principal fator que condiciona a qualidade do suco, e isso é dependente das modificações físicas e bioquímicas que ocorrem durante o ciclo de desenvolvimento da fruta^{13,14}.

A elaboração de suco é uma das diversas possibilidades de beneficiamento da uva, onde no Brasil corresponde em torno de 10% da produção total da fruta. Em virtude da simplicidade de fabricação, com qualquer variedade de uva sendo capaz de ser empregada desde que demonstre estar em boa condição sanitária e na maturação apropriada, aliada às propriedades organolépticas e importância nutricional, o suco de uva é considerado um alimento valioso e saudável que pode auxiliar na dieta alimentar^{34,36,37}.

O suco de uva é destacado por ser uma bebida única, tanto segundo o aspecto nutritivo e energético quanto pelos aspectos funcional e terapêutico. É um alimento de paladar doce e ácido, simultaneamente, apresentando fácil digestão e absorção dos seus componentes pelo organismo humano. Ainda, é considerada uma bebida não fermentada e não alcoólica, no qual o teor de álcool deve ser sempre inferior a 0,5% v/v. Com relação à cor, o suco de uva pode ser classificado como tinto, branco e rosado, e o aroma e sabor são inerentes da uva que deu origem ao suco^{34,36,37}.

Os cultivares reservados à elaboração de suco de uva devem possuir alguns atributos, como atingir uma boa relação açúcar/acidez, adequado rendimento em mosto, agradável e sensível aroma e sabor, além de apropriado nível de amadurecimento do fruto. Além disso, a metodologia aplicada na produção influencia na constituição química e nas propriedades do produto final, em particular o tempo e a temperatura de extração do suco, pois esses parâmetros regulam a intensidade e a solubilidade de difusão das substâncias presentes na casca para o mosto. Desse modo, as características finais do suco possuem afinidade com a qualidade e varietal da uva utilizada por ser um produto natural, no qual o processo tecnológico empregado também é fator determinante^{36,37}.

Do ponto de vista biológico, as videiras apresentam caule espesso e resistente, com coloração esverdeada quando jovem, tornando-se após escura. Ainda, exibem troncos tortuosos e retorcidos, folhas em tom verde e os frutos podem possuir pigmentação variando de verde, vermelho, preto e roxo, conforme retratado na Figura 1. É uma planta típica de lugares com clima temperado em que a temperatura não se altera muito ao longo do ano³⁴.

Figura 1. Exemplo representativo de cultivo de videira *Vitis Vinífera*.



Fonte: INFOESCOLA, 2020³⁸.

4.1.2.1 Composição Química

A composição química do suco de uva não se distingue muito do fruto, com exceção de constituintes vistos nas sementes em quantidade superior que são o óleo e a fibra bruta. Esse produto, perante o ponto de vista nutritivo, é semelhante com a própria uva, visto que na sua constituição estão todos os compostos essenciais, sendo rico em açúcares, sais minerais, ácidos orgânicos, vitaminas e compostos fenólicos, e, ao mesmo tempo, apresentando baixo teor em proteínas e lipídios. Os principais constituintes e suas concentrações respectivas encontrados geralmente no suco de uva estão retratados na Tabela I e são os seguintes^{36,37}:

Água – principal componente no suco de uva sob o aspecto quantitativo, é retirada do solo pelas raízes da videira e depositadas nas células da uva, passando para o suco durante o preparo.

Açúcares – correspondem aos constituintes energéticos do suco, sendo os predominantes a glicose e a frutose em proporções semelhantes e facilmente absorvíveis pelo corpo humano. A quantidade de açúcar no suco de uva está relacionada com a espécie e o estado de maturação da uva, contudo a lei brasileira determina um mínimo de 14 °Brix.

Ácidos orgânicos – responsáveis pelo gosto ácido, estímulo da secreção salivar e do suco gástrico e pela capacidade bactericida do suco de uva, esses ácidos conferem um pH baixo, variável entre 2,90 e 3,43, sendo os principais presentes os ácidos tartárico, málico e cítrico.

Minerais – sob a óptica fisiológica, são encarregados da constituição dos ossos, sangue e nervos, além de assegurar a alcalinidade do sangue e neutralizarem alguns ácidos, como o ácido úrico. Os sais minerais vistos no suco de uva são o potássio, sódio, cálcio, magnésio, manganês, ferro, fosfatos, sulfatos e cloretos, e os mesmos são absorvidos pela raiz da videira, por meio da solução do solo e se acumulam nos frutos.

Substâncias nitrogenadas – representados por proteínas, polipeptídeos, aminoácidos e nitrogênio amoniacal, no suco de uva estão incluídos os 20 aminoácidos considerados essenciais para o organismo humano, que contribuem para suprir as necessidades diárias desses nutrientes.

Compostos fenólicos – as principais famílias são os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos e são responsáveis pela cor, estrutura e adstringência do suco de uva tinto, além de apresentarem efeito antibiótico e ação favorável de regulação da permeabilidade e da resistência dos vasos sanguíneos.

Vitaminas – são indispensáveis para o desenvolvimento e funcionamento de processos vitais do organismo, tais como o metabolismo dos açúcares, conservação de resistência física e controle dos radicais livres, onde sua ausência ocasiona distúrbios e lesões.

No suco de uva estão presentes as vitaminas do complexo B (inositol, niacina, riboflavina e tiamina) e do complexo C (ácido ascórbico).

Pectina – auxilia no aumento da viscosidade devido ao seu poder gelificante e possui teor superior no suco de uva em relação aos demais sucos. É constituída por moléculas de ácido galacturônico, as quais podem ser hidrolisadas pelo calor ou pela atividade enzimática.

Tabela I. Valores nutricionais padrão do suco de uva.

Princípio alimentar	Concentração
Água (%)	81 – 86
Calorias (cal/L)	700 – 900
Açúcares (g/L)	140 – 180
Minerais (g/L)	1,5 – 3,0
Lipídios (g/L)	1,0 – 2,0
Proteínas (g/L)	2,0 – 3,0
Pectina (g/L)	0,3 – 0,6
Aminoácidos (g/L)	0,6 – 2,0
Vitaminas:	
Inositol (mg/100 g)	40 – 50
Tiamina (µg/100 g)	50 – 60
Riboflavina (µg/100 g)	50 – 60
Niacina (µg/100 g)	0,4 – 0,6
Ácido ascórbico (mg/ 100 g)	0,2 – 4,0

Fonte: Adaptado de RIZZON, 1998³⁶.

4.1.2.2 Legislação Brasileira

De acordo com a legislação brasileira, o suco ou sumo de fruta é a bebida líquida límpida ou turva de cor, aroma e sabor característicos, não fermentada, não alcoólica, não concentrada e nem diluída extraída da fruta madura e sã, ou parte do vegetal de origem, por meio de processo tecnológico adequado, submetido a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo. O suco não poderá conter substâncias estranhas à fruta, excetuadas as previstas na legislação específica. Ainda, é proibida a adição,

em sucos, de aromas e corantes artificiais³⁹. O suco de uva para consumo é classificado, segundo a legislação brasileira, conforme o tipo de processo e constituição como^{34,36,37}:

- **Suco de uva integral:** apresentado na sua concentração e composição natural, límpido ou turvo, sem adição de outros açúcares, apenas os que provém da uva.

- **Suco de uva desidratado:** resultado da desidratação do suco de uva, apresentando apenas 3% de umidade, e encontra-se na fase sólida.

- **Suco de uva adoçado:** é permitido a adição de açúcar, como sacarose.

- **Suco de uva processado ou reconstituído:** obtido pela diluição do suco concentrado ou desidratado.

- **Suco de uva concentrado:** parcialmente desidratado, com no mínimo 65 °Brix em sólidos solúveis totais.

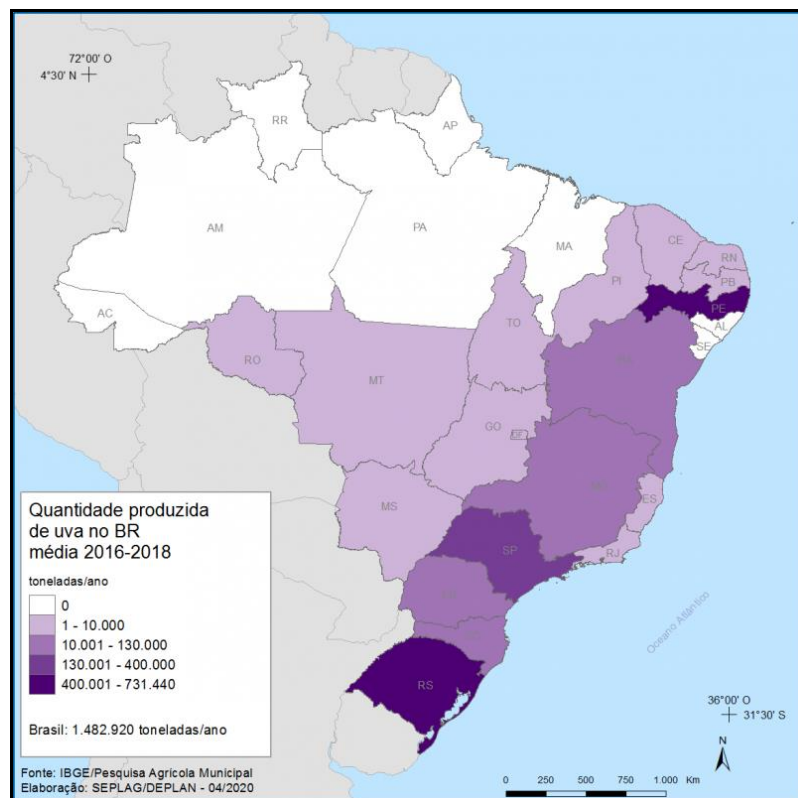
4.1.3 Produção e Consumo

O Brasil gera cerca de 1,5 milhões de toneladas de uva por ano, do qual o Estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor nacional da fruta, ao redor de 50% da produção. Do volume total de uva produzida, a utilização principal é na preparação de sucos e vinhos, sendo o Estado do RS responsável nacionalmente por 90% desses alimentos, ao passo que somente uma pequena parcela da fruta é destinada ao consumo de mesa⁹⁻¹¹. Cada habitante do país consumiu, em média, 3,61 kg de uvas de mesa *in natura* e em doces em 2018⁴⁰. A Tabela II mostra a evolução anual em anos recentes da área plantada e da quantidade produzida de uva no Brasil e no Rio Grande do Sul e a Figura 2, a seguir, retrata as quantidades médias produzidas de uva pelos estados brasileiros no período de 2016 a 2018¹⁰.

Tabela II. Evolução anual da área plantada e volume produzido de uva no Brasil e no RS.

Ano	Brasil		Rio Grande do Sul	
	Área Plantada (hectares)	Quantidade Produzida (toneladas)	Área Plantada (hectares)	Quantidade Produzida (toneladas)
2008	81.286	1.421.431	47.206	776.964
2009	81.677	1.365.491	48.259	737.363
2010	81.534	1.355.461	48.753	694.518
2011	81.840	1.495.336	49.198	839.286
2012	82.897	1.514.768	50.180	840.251
2013	79.759	1.439.535	50.056	807.693
2014	78.779	1.454.183	50.007	812.517
2015	78.026	1.497.302	49.739	876.215
2016	77.299	1.113.345	49.226	413.735
2017	75.968	1.743.430	48.397	965.887
2018	74.475	1.591.986	46.858	823.698

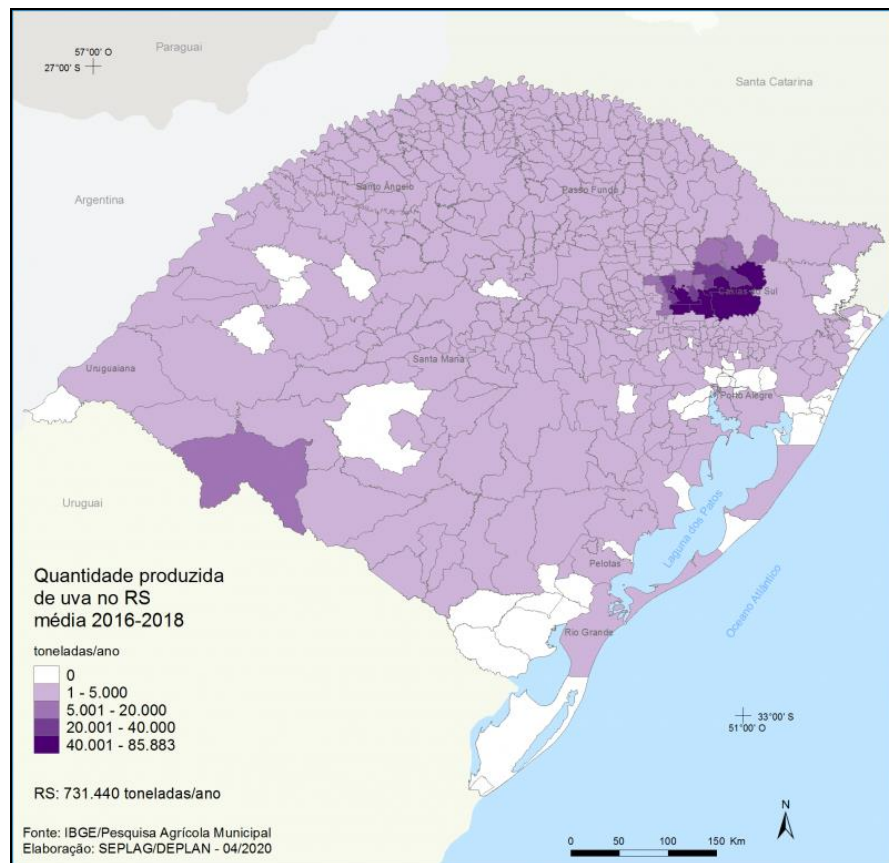
Fonte: Adaptado de ATLAS SOCIOECONÔMICO DO RIO GRANDE DO SUL, 2020¹⁰.

Figura 2. Quantidade média produzida de uva no Brasil no período 2016-2018.

Fonte: ATLAS SOCIOECONÔMICO DO RIO GRANDE DO SUL, 2020¹⁰.

A criação da cultura permanente de uva no Rio Grande do Sul é decorrência da forte influência da colonização italiana e está concentrada sobretudo no nordeste do Estado na região da Serra. Os municípios de Bento Gonçalves e de Flores da Cunha se destacam nesse território por apresentarem uma produção média anual acima de 80 mil toneladas por ano. Outras regiões localizadas a sudoeste do Estado como a Fronteira Oeste, a Campanha e o Médio Alto Uruguai são importantes de mencionar, pois também vem se salientando mais recentemente na elaboração de uva reservada a vitivinicultura¹⁰. A Figura 3 mostra a quantidade média produzida de uva no Rio Grande do Sul no período entre 2016 e 2018.

Figura 3. Quantidade média produzida de uva no RS no período 2016-2018.



Fonte: ATLAS SOCIOECONÔMICO DO RIO GRANDE DO SUL, 2020¹⁰.

Em relação à produção de suco de uva pelo método convencional, o Estado do Rio Grande do Sul na safra 2019 elaborou um volume maior de 50 milhões de litros, enquanto que o suco de proveniência orgânica correspondeu a mais de 600 mil litros, conforme demonstrado na Tabela III⁴¹. Já a comercialização de suco de uva produzido no RS esteve ao redor de 140 milhões de litros registrado para o ano de 2018, correspondendo a um consumo per capita de 1,33 litros por habitante por ano⁴⁰.

Tabela III. Produção de suco de uva na safra 2019 no Estado do Rio Grande do Sul.

Produto	Quantidade produzida (litros)
Suco de uva adoçado	120.320
Suco de uva integral branco	1.664.175
Suco de uva integral rosado	70.795
Suco de uva integral tinto	48.504.797
Suco de uva reconstituído	584.256
Total de suco de uva convencional	50.944.343
Total de suco de uva orgânico	628.474

Fonte: Adaptado de ESTADO RS, 2019⁴¹.

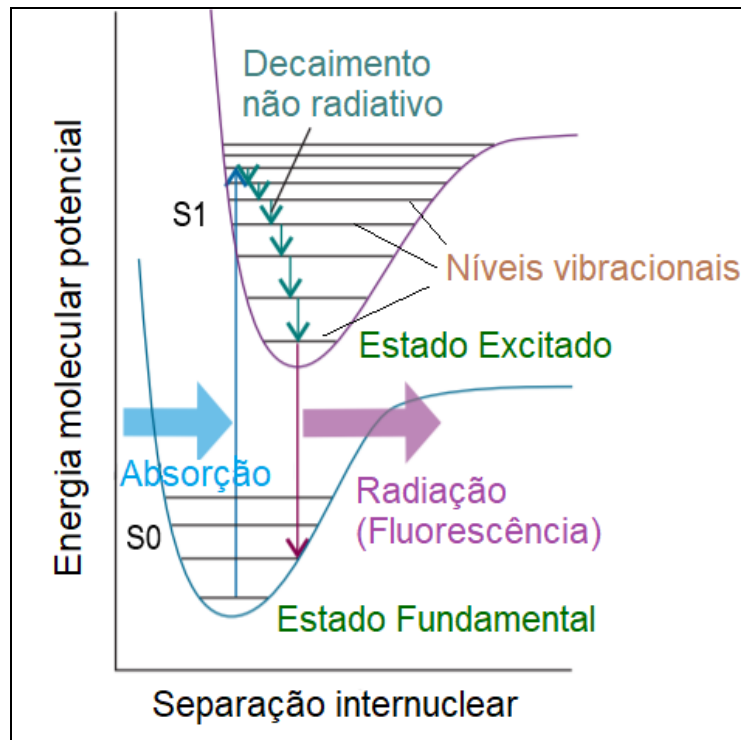
4.2 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

Os métodos de luminescência molecular se fundamentam em moléculas do analito que foram excitadas e que, ao retornarem ao seu estado fundamental, resultam na emissão de radiação eletromagnética na região do ultravioleta próximo do visível gerando, assim, um espectro com dados para análise qualitativa e quantitativa desses compostos. Quando a excitação das moléculas é em virtude da absorção de fótons, que é responsável pela transferência de elétrons de valência de um orbital menos energético para um orbital de maior energia, temos o fenômeno chamado de fotoluminescência. Se o spin do elétron permanece com sua orientação original no estado excitado singlete, o regresso dessa população para o estado fundamental, que também apresenta caráter singlete, é permitido, ocorrendo muito rapidamente (escala de nanosegundos) e tem-se a ocorrência da fluorescência. Desse modo, a fluorescência é a ocorrência luminescente mais frequente, visível facilmente na temperatura ambiente e diretamente em solução, e com metodologia experimental bastante acessível^{42,43}.

A exibição da fluorescência ocorre respeitando as regras de seleção, que limitam o número de transições, segundo a Figura 4: as moléculas são estimuladas do estado fundamental (S₀) pela absorção de radiação com comprimento de onda característico e promovidas para um estado excitado singlete (S₁). Após a população de moléculas excitadas se desativam mediante uma série de relaxamentos (transições não radiativas) dos níveis vibracionais de estados eletrônicos de mesma multiplicidade até atingir o primeiro nível vibracional do estado excitado singlete de menor energia. Esse processo de relaxação é um evento que acontece muito rapidamente (10^{-13} a 10^{-11} s) e sem emissão de radiação. A partir desse nível vibracional do estado excitado de menor

energia, se a multiplicidade não alterar, as moléculas podem prosseguir dois percursos para retornar ao estado fundamental. Caso a separação de energia entre S1 e S0 não seja muito elevada e houver possibilidade de sobreposição de níveis vibracionais, a população passa inicialmente para níveis vibracionais de S0 que possuem energia mais elevada (conhecido como cruzamento interno) sem emissão de radiação eletromagnética com posterior relaxamento vibracional até o estado vibracional fundamental de menor energia. Entretanto, se a diferença energética entre S1 e S0 for relativamente grande e as condições do meio favoráveis, a desativação para o estado fundamental se dá com emissão de radiação na forma de fluorescência^{42,43}.

Figura 4. Diagrama Jablonski com as transições de energia do fenômeno da fluorescência.



Fonte: Adaptado de ATKINS, 2006⁴³.

A fluorescência é a base da fluorimetria que engloba o conjunto de técnicas analíticas baseadas na detecção dos fótons emitidos por moléculas excitadas de caráter singleto quando estas retornam para o estado fundamental. As substâncias que frequentemente exibem esse fenômeno são os compostos aromáticos, alifáticos ou alicíclicos contendo carbonila ou duplas ligações altamente conjugadas. A maioria dos hidrocarbonetos aromáticos não-substituídos fluorescem em solução e a eficiência quântica geralmente aumenta com o número de anéis e seu grau de condensação. A fluorescência mais intensa e mais útil é encontrada em compostos contendo grupos aromáticos com transições de baixa energia⁴²⁻⁴⁴.

As variáveis que afetam principalmente a fluorescência são a estrutura molecular e o ambiente químico. Estes fatores também determinam a intensidade de emissão e quando a luminescência irá ocorrer. Isto posto, o controle de pH é necessário em medidas de fluorescência^{42,44}. Por fim, levando em consideração que as metodologias tradicionais de análises químicas são demoradas ou caras, é adequado empregar uma técnica para avaliar propriedades químicas de uma amostra de modo veloz e com baixo custo. Em vista disso, a análise por espectroscopia de fluorescência molecular apresenta-se como ferramenta apropriada.

4.3 QUIMIOMETRIA

A quimiometria é uma área da química que utiliza métodos matemáticos e estatísticos com o propósito de planejar ou escolher melhores procedimentos de medidas, interpretar experimentos e obter o máximo de informações relevantes que podem ser extraídas da análise de um conjunto de dados de origem química. O vocábulo surgiu na década de 1970, na química analítica, como consequência do extenso desenvolvimento no campo da instrumentação, que começou a fornecer gradativamente mais dados, e nos microcomputadores, que permitiram processar essas informações. Os métodos quimiométricos podem ser utilizados em dados multivariados com as finalidades de análise exploratória, reconhecimento de padrões, classificação e calibração^{16,17,34,45}.

4.3.1 Análise Multivariada

As técnicas de análise multivariada têm se destacado, recentemente, graças ao desenvolvimento tecnológico, uma vez que é possível avaliar muitas variáveis de uma amostra qualquer de um sistema de forma simultânea, podendo, deste jeito, modelar informações físicas e químicas a partir dos dados espectrais, ou seja, transformar uma resposta instrumental no dado químico de interesse. Esses instrumentos de exploração multivariada demandam a aplicação de técnicas de álgebra linear, estatística multivariada e análise numérica, no qual quase todos os métodos quimiométricos são montados em termos de matrizes^{16,17,34}.

A análise multivariada pode ser classificada conforme a configuração matricial em duas grandes classes: a análise exploratória e o reconhecimento de padrões na medida em que os dados são representados em uma única matriz, e os problemas de classificação e de calibração, quando se procura correlacionar duas ou mais matrizes. Dentre os métodos

multivariados de reconhecimento de padrões não supervisionados, em que não é considerado ou se conhece a que grupos pertencem os objetos de estudo, a análise de componentes principais (PCA) e a análise de agrupamentos hierárquicos (HCA) estão entre os principais e mais notáveis, sendo gradativamente mais utilizados com a finalidade de identificação de classes e reconhecimento da autenticidade e/ou adulteração de amostras com os dados químicos obtidos. Já entre as técnicas multivariadas ditas supervisionadas, onde se tem conhecimento prévio a que classes pertencem os objetos e essa informação disponível é aplicada no modelo, a análise discriminante linear (LDA) e a análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) são uns dos mais empregados em química analítica e ambos têm se destacado como ferramentas de classificação^{16,17,34,46}.

4.3.1.1 Análise de Componentes Principais (PCA)

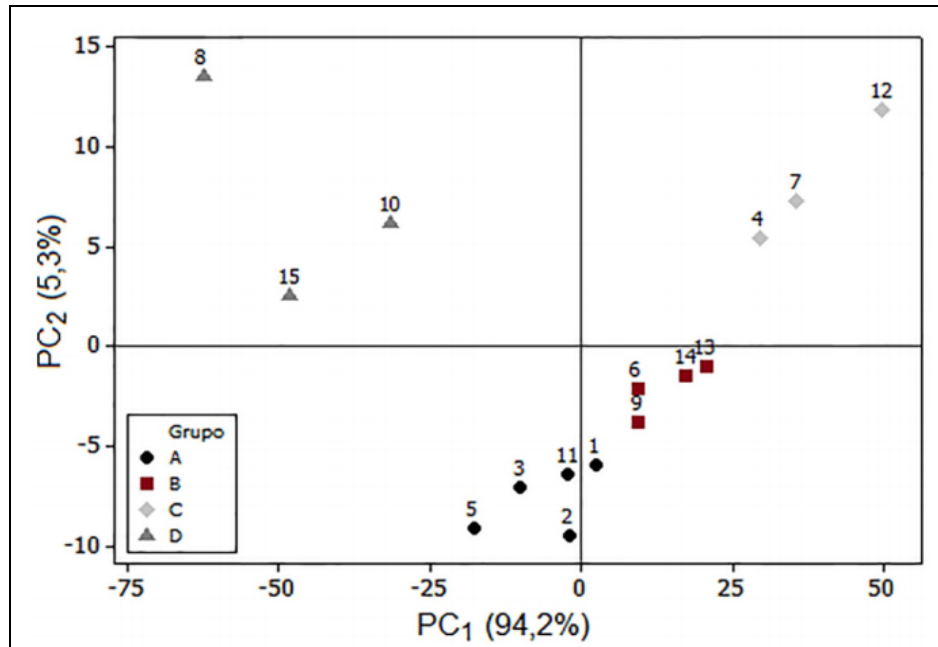
A técnica da Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) é a ferramenta matemática de análise multivariada não supervisionada mais empregada para investigar informações. O objetivo principal do método é reduzir a dimensionalidade de um conjunto de dados pela transformação da matriz original contendo muitas variáveis em um número menor de fatores, além da redução da covariância entre os aspectos sem que seja afetado as relações entre as amostras e sem perdas consideráveis de informações^{17,33,45-48}.

A PCA baseia-se em reformular a disposição das amostras com a formação de um outro sistema de eixos mais apropriado para a extração e análise dos informes relevantes e definindo novas variáveis. Assim, os dados iniciais são reunidos de acordo com as correlações presentes entre os fatores por meio de combinações lineares, o que resulta em novas coordenadas chamadas de componentes principais (PC), ortogonais entre si, que propiciam a visualização da natureza multivariada do conjunto de informações em gráficos bi ou tridimensionais^{17,33,45-48}.

A decomposição da matriz original é feita em um produto de duas matrizes, escores e pesos, mais uma matriz de erros, em que escores representam a projeção dos pontos experimentais nas PCs e os pesos correspondem a relevância das variáveis em cada PC. Dessa maneira, os novos dados são adquiridos em ordem decrescente de variância, no qual a primeira componente principal (PC1) apresenta maior variação com mais informações estatísticas que a segunda componente principal (PC2) e, assim, sucessivamente^{17,34,45-49}. A Figura 5 exibe de

modo representativo um gráfico de escores para PC1 versus PC2 obtido pela PCA, em que é possível, nesse exemplo, observar a separação das amostras em diferentes grupos.

Figura 5. Gráfico representativo de escores de PC1 versus PC2 obtido por PCA.



Fonte: CONSTANTINO, 2014⁴⁹.

Portanto, as informações essenciais são distinguidas e amplificadas, sendo viável encontrar, observar e compreender as diferenças que possam haver entre as variáveis e constatar e averiguar as analogias existentes entre as amostras, como também constatar espécimes anômalas do conjunto de dados. A metodologia pode ser utilizada em diversas áreas do conhecimento e em distintas técnicas analíticas com a adequada análise e compreensão da distribuição dos pontos no gráfico de componentes principais^{17,34,47-50}.

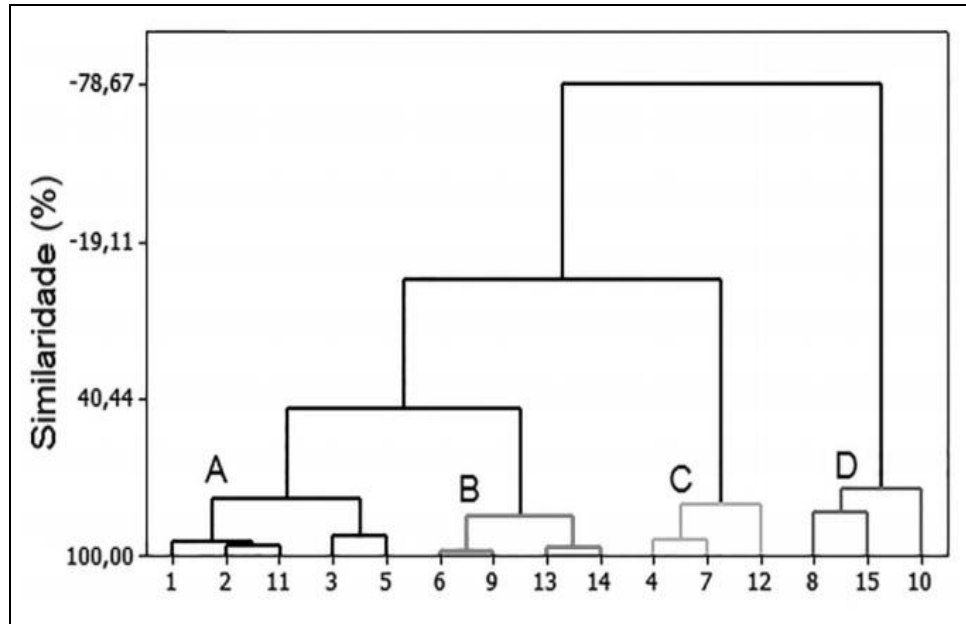
4.3.1.2 Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA)

O método da Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA, do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*) teve seu princípio na taxonomia numérica, desenvolvida por biólogos para estudar a semelhança entre organismos de diferentes espécies e gêneros. Seu objetivo fundamental é agrupar amostras de maneira que aquelas pertencentes a uma mesma classe sejam mais similares de modo recíproco do que com as amostras dos outros grupos, isto é, o intuito é potencializar a diversidade entre agrupamentos e uniformidade interna. A HCA é uma técnica que mensura e considera a distância da proximidade existente entre todos os

fatores para todas as amostras do conjunto de dados e demonstra essa informação por meio da representação de um gráfico bidimensional denominado dendrograma, que permite a visualização dos diferentes grupos e das semelhanças entre as amostras e/ou variáveis^{17,45,47,48}. A Figura 6 mostra de maneira representativa um dendrograma obtido pela HCA com formação de diferentes *clusters* entre amostras.

A elaboração de um dendrograma consiste na abordagem matemática de que cada amostra é um ponto no espaço multidimensional descrito pelas variáveis escolhidas, e então definido uma matriz de proximidade do qual os elementos são conhecidos como índices de similaridade que usualmente variam entre zero (0) e um (1). Um coeficiente elevado aponta um distanciamento pequeno entre dois agrupamentos e, por consequência, uma alta semelhança entre as amostras. A cada etapa, os dois grupos mais parecidos se aproximam e o processo vai se repetindo até que forme uma única classe. Logo, a interpretação de um dendrograma de similaridade baseia-se na percepção de que duas amostras próximas possuem também valores semelhantes para as variáveis medidas^{17,45,47,48}.

Figura 6. Dendrograma representativo obtido por HCA com diferentes *clusters* formados.



Fonte: CONSTANTINO, 2014⁴⁹.

4.3.1.3 Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA)

A análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA, do inglês *Partial Least Squares Discriminating Analysis*) é um ramo proveniente da regressão por mínimos

quadrados parciais (PLS), técnica essa mais popular em Quimiometria e construído em um único passo no qual as informações da matriz X e da propriedade de interesse são avaliadas durante a decomposição e a compressão dos dados. A PLS-DA é essencialmente a ferramenta PLS com uma variação na representação e na abordagem das variáveis dependentes.

O método de classificação supervisionado PLS-DA se baseia no princípio de que muitas classes podem obter a separação máxima pela rotatividade dos componentes principais¹⁷. Este instrumento consiste na concepção de um modelo multidimensional para prognóstico das características, estabelecido em uma variável dependente Y , usando uma variável independente X . A essência da PLS-DA é diminuir o volume de dados originais X e trocá-los pela matriz de escores e pesos, potencializando a covariância entre X e Y ⁵¹.

4.3.1.4 Análise Discriminante Linear (LDA)

A metodologia da análise discriminante linear (LDA, do inglês *Linear Discriminant Analysis*) foi desenvolvida por Fisher em 1936 e é uma técnica supervisionada de extração de características, largamente aplicada e exitosa em diversos cenários de reconhecimento de padrões. O propósito fundamental é realizar uma redução de dimensionalidade a fim de simplificar o problema com a manutenção ou melhora da capacidade de discriminação entre as classes. Ainda, procura minimizar a dispersão intraclasse e maximizar a separação entre classes distintas. Para tanto, o LDA utiliza duas matrizes de dispersão diferentes, uma que calcula a variância entre as classes e outra que computa a variância dos padrões em relação a classe à qual pertence^{52,53}.

4.3.2 Seleção de Variáveis

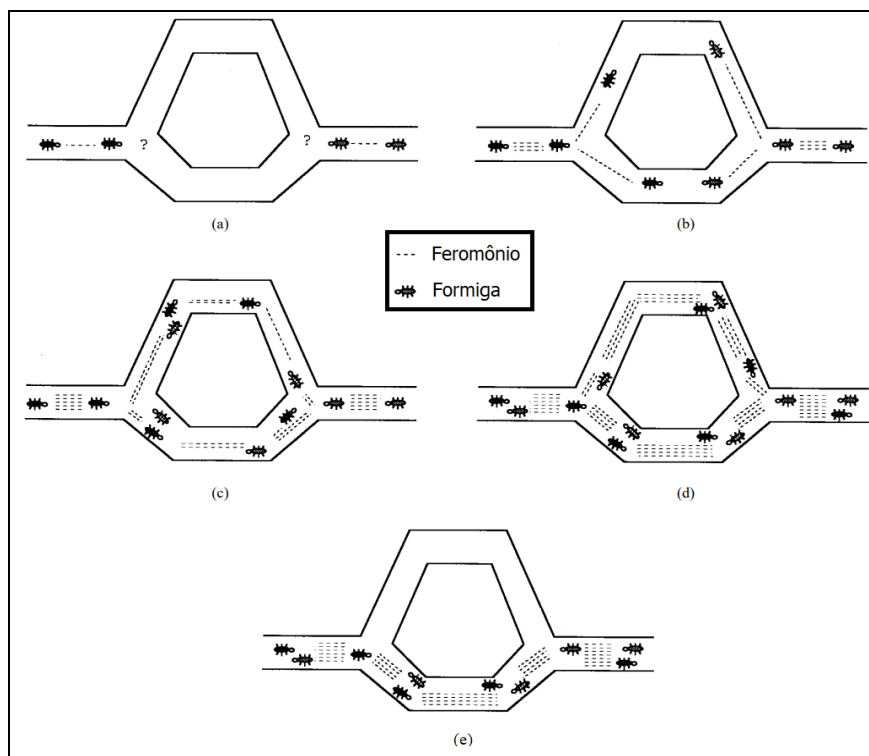
O procedimento de seleção de variáveis consiste em selecionar um subconjunto de características, que contém informações relevantes, em um amplo conjunto de dados. É uma prática importante quando se tem aspectos repetitivos e irrelevantes que não propiciam aproveitamento útil e que podem reduzir a capacidade de predição dos modelos. Devido à grande quantidade de dados complexos gerados pelos métodos instrumentais, o desenvolvimento de algoritmos bioinspirados para a seleção de variáveis torna-se essencial para se obter uma melhora nos modelos de classificação tendo como exemplos o algoritmo de otimização por colônia de formigas e o algoritmo genético^{54,55}.

4.3.2.1 Algoritmo de Otimização por Colônia de Formigas (ACO)

O algoritmo de otimização por colônia de formigas (ACO, do inglês *Ant Colony Optimization*) corresponde a uma técnica da inteligência artificial e são modelos matemáticos inspirados no comportamento das formigas na qual são aptas a encontrar a trilha mais curta entre seus ninhos e as fontes de alimento. Representam a classe de meta-heurísticos, ou seja, algoritmo de alto nível customizável a uma grande quantidade de problemas que usam combinação de escolhas aleatórias e conhecimento histórico dos resultados anteriores para se guiarem⁵⁶⁻⁵⁸.

As formigas, à medida que procuram alimento, investigam casualmente o ambiente ao redor de seu ninho de um modo supostamente desorganizado e, ao mover-se neste percurso, liberam compostos químicos conhecidos como feromônios. Simultaneamente, as formigas são induzidas pela presença dessas substâncias no ambiente e apresentam uma tendência probabilística a trilhar no caminho em que a concentração de feromônios é mais forte, visto que devem selecionar um trajeto entre todos os existentes com base na posição atual. Portanto, a escolha das formigas é fundamentada na quantidade de feromônios acumulada na trilha das formigas antecedentes e na distância em cada trajeto. A Figura 7 exemplifica de maneira simplificada esse comportamento na sequência (a, b, c, d, e)⁵⁶⁻⁵⁸.

Figura 7. Trajeto e comportamento das formigas explicado pela presença de feromônios.



Fonte: Adaptado de DORIGO, 1997⁵⁹.

4.3.2.2 Algoritmo Genético (GA)

Os algoritmos genéticos (GA, do inglês *Genetic Algorithm*) são métodos de otimização meta-heurística inspirados em evolução e foram inventados por Holland em 1975. A teoria da evolução, proposta por Charles Darwin em 1859, diz que o cromossomo biológico contém genes que são responsáveis pelos atributos próprios para cada indivíduo, ou seja, os indivíduos mais adaptados sobrevivem e transmitem suas características para as gerações seguintes. Similarmente, torna-se viável desenvolver um cromossomo artificial e simular um processo evolutivo natural. O algoritmo genético se baseia, então, na geração de um conjunto inicial de soluções que são iterativamente melhoradas e a busca de soluções segue uma sistemática de evolução⁶⁰⁻⁶³.

Quando se aborda processos químicos, cada gene reflete um parâmetro a ser otimizado. Sendo assim, o GA codifica subconjuntos de variáveis em um sistema composto por valores binários (0/1) denominados “cromossomos”. Cada localização (ou “gene”) no cromossomo está relacionada a uma das variáveis disponível para seleção. As etapas empregadas nessa estratégia são as seguintes: criação de uma população inicial com indivíduos escolhidos aleatoriamente que podem ser considerados como possíveis soluções para o problema; avaliação dos indivíduos por meio de uma nota ou índice que transmite a capacidade de adaptação para um determinado ambiente; seleção dos indivíduos mais aptos e os restantes descartados, sendo significativo destacar que os indivíduos selecionados podem ser modificados por meio de mutações ou cruzamentos; e, por fim, geração de uma nova população (descendentes) para a próxima seleção com características genéticas dos indivíduos escolhidos. Esta metodologia é replicada até que um estabelecido critério de parada seja definido como resultado adequado atingido, processo de investigação estagnado ou número máximo de gerações atingido⁶⁰⁻⁶³.

4.3.3 Pré-Processamento dos Dados

O pré-processamento dos dados é estabelecido como qualquer manipulação no conjunto de dados antes da análise quimiométrica e é uma fase do processo muito significativo e indispensável para aprimorar a eficácia e a validade dos modelos multivariados. O propósito da técnica é suprimir informações não importantes por meio da extração matemática de fontes de variação inconvenientes que não seriam retiradas

espontaneamente no decorrer da análise e através do tratamento das matrizes de dados para tornar os cálculos mais adequados antes da modelagem. Há inúmeros métodos de pré-tratamentos de dados para serem aplicados na espectroscopia como alisamento, normalização, centralização na média, cálculo de primeira ou segunda derivada, entre outros^{16,17,34,48}.

A ferramenta de alisamento ou suavização tem por finalidade diminuir o ruído aleatório causado, por exemplo, pelas vibrações mecânicas do equipamento, movimento das moléculas, ar ou luz que interferem no sinal analítico, por algoritmos matemáticos. Ainda, tem como objetivo o aumento da razão sinal/ruído, visto que os sinais instrumentais são compostos pelo sinal verdadeiro e ruído aleatório. O recurso da normalização possui como escopo a redução da influência de oscilações indesejadas existentes no conjunto de dados e é realizada dividindo cada variável por uma constante, tendo como resultado que todas as amostras ficam numa mesma escala^{16,17,34,50}.

O intuito de centralizar os dados na média é de deslocar o sistema de eixos para o centro dos dados para que os pontos mais afastados não induzam mais do que os sinais mais perto do centro. O método consiste em primeiro se calcular o valor médio para cada variável e subtrair este valor para cada elemento de uma variável. Deste modo, cada variável passa a ter média zero e, então, o sistema de coordenadas é movido para o centro dos dados e as diferenças nas intensidades relativas das variáveis são melhores perceptíveis^{16,17,34,50}.

Por fim, a técnica do cálculo da derivada tem como objetivo a correção do deslocamento da linha de base do espectro produzido para melhorar a separação de sinais sobrepostos. O algoritmo matemático mais utilizado é o de Savitzky-Golay, em que o cálculo da primeira e da segunda derivada acarretam alterações nas informações processadas, e essas modificações podem ter resultado positivo ao revelar um sinal analítico de interesse e negativo ao salientar ruídos instrumentais. Logo, o uso da primeira derivada corrige o espectro deslocado da linha de base, já a aplicação da segunda derivada conserta o espectro que apresenta um problema de inclinação na linha de base^{16,17,34,50}.

5. METODOLOGIA

5.1 MATERIAIS E REAGENTES

As matérias-primas empregadas neste trabalho foram sucos de uva integrais produzidos no ano de 2019 e doados pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Unidade Uva e Vinho, sediada no município de Bento Gonçalves, Estado do Rio Grande do Sul. Ao todo foram avaliadas 46 amostras de suco de uva, sendo 18 amostras de distintas variedades (BRS Cora, Isabel, Violeta, Magna, Bordô, Concord, Rúbea, Carmem e Niágara) desenvolvidas pelo método convencional com emprego de defensivos agrícolas e 28 amostras igualmente de diferentes varietais (BRS Cora, Violeta, Magna, Bordô, Concord, Rúbea, Isabel Precoce, Carmem e Seleção) elaborados pelo método orgânico, conforme a Tabela IV. Todos os materiais de partida cedidos vieram envasados em garrafas de vidro de 1 litro de capacidade.

Os reagentes químicos utilizados no preparo das amostras de suco de uva para obtenção de soluções-tampão em uma escala com valores distintos de pH (2, 4, 6, 8, 10 e 12) foram os seguintes: hidróxido de sódio P.A. (NaOH, marca Dinâmica, MM = 39,99 g/mol), ácido clorídrico 37% P.A. (HCl, marca Neon, MM = 36,46 g/mol), ácido fosfórico 85% P.A. (H₃PO₄, marca Anidrol, MM = 97,99 g/mol), ácido acético glacial 99,8% P.A. (CH₃COOH, marca Synth, MM = 60,04 g/mol), carbonato de sódio anidro P.A. (Na₂CO₃, marca Dinâmica, MM = 105,98 g/mol), bicarbonato de sódio P.A. (NaHCO₃, marca Neon, MM = 84,01 g/mol), acetato de sódio anidro P.A. (CH₃COONa, marca Synth, MM = 82,03 g/mol), fosfato de potássio monobásico anidro P.A. (KH₂PO₄, marca Dinâmica, MM = 136,09 g/mol) e fosfato de potássio bibásico anidro P.A. (K₂HPO₄, marca Dinâmica, MM = 174,18 g/mol). Ainda, foi empregado água purificada Milli-Q para diluição das amostras consideradas puras, sem adição de outras substâncias químicas.

Tabela IV. Metodologias e variedades das amostras de suco de uva analisadas.

Metodologia	Variedade	Código	Variedade	Código
Convencional	BRS Cora	SU01	Carmem	SU10
	Isabel	SU02	Bordô	SU11
	Violeta	SU03	Magna	SU12
	Magna	SU04	Niágara	SU13
	Bordô	SU05	Niágara	SU14
	Bordô	SU06	Niágara	SU15
	Concord	SU07	Niágara	SU16
	Rúbea	SU08	Niágara	SU17
	Isabel Precoce	SU09	Niágara	SU18
Orgânica	Bordô	SU19	Violeta	SU33
	Bordô	SU20	Violeta	SU34
	Bordô	SU21	BRS Cora	SU35
	Bordô	SU22	BRS Cora	SU36
	Concord	SU23	Seleção	SU37
	Concord	SU24	Seleção	SU38
	Concord	SU25	Seleção	SU39
	Concord	SU26	Rúbea	SU40
	Magna	SU27	Rúbea	SU41
	Magna	SU28	Rúbea	SU42
	Isabel Precoce	SU29	Carmem	SU43
	Isabel Precoce	SU30	Carmem	SU44
	Isabel Precoce	SU31	Carmem	SU45
	Isabel Precoce	SU32	Carmem	SU46

Fonte: Elaborada pelo autor.

5.2 INSTRUMENTAÇÃO

A análise dos valores de pH para as diversas amostras de suco de uva foi realizada em um pHmetro portátil marca Metrohm 827, segundo a Figura 8 abaixo. O aparelho corresponde a um eletrodo de vidro combinado com eletrodo de referência de Ag/AgCl (voltímetro eletrônico). Para a utilização do pHmetro, inicialmente sempre foi efetuado a calibração do equipamento da seguinte maneira: primeiro o eletrodo foi lavado cuidadosamente com água destilada ou Milli-Q dando atenção à membrana de vidro. A seguir, o eletrodo foi seco e mergulhado na solução tampão de pH nominal 7,00 até estabilizar para calibrar. Após, o eletrodo foi novamente lavado com água destilada ou Milli-Q, seco e colocado na solução tampão de pH nominal 4,00 até estabilizar para calibração. Por fim, o eletrodo agora calibrado

estava pronto para as medições de pH das amostras, na qual em cada leitura era constantemente lavado com água destilada ou Milli-Q.

Figura 8. pHmetro portátil empregado nas análises de suco de uva.



Fonte: AZOCLEANTECH, 2020⁶⁴.

Os espectros de fluorescência molecular foram obtidos em um espectrômetro Cary Eclipse (Varian, Estados Unidos), conforme a Figura 9, equipado com uma lâmpada de xenônio, monocromadores de excitação e emissão e um suporte de célula de amostra frontal. As configurações instrumentais foram: modo excitação com comprimentos de onda variando de 244 a 350 nm (a cada 10 nm) e modo emissão com comprimentos de onda variando de 280 a 600 nm (a cada 2 nm). Uma tensão fotomultiplicadora média foi usada para evitar a saturação do detector. Os dados constituídos por espectros de fluorescência 3D foram exportados em formato ASCII para o tratamento dos dados usando MATLAB[®] versão 7.10.0.499 (The MathWorks, Natick, Estados Unidos).

Figura 9. Espectrômetro de fluorescência utilizado nas análises de suco de uva.



Fonte: ALT, 2020⁶⁵.

5.3 PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras de sucos de uva analisadas foram preparadas nas seguintes etapas: primeiramente foi realizado a homogeneização das garrafas contendo suco de uva com 10 inversões no envase de vidro original. A seguir, foram coletados 100 mL de suco de uva em béquer e transferido para um liquidificador e mantido sob agitação por cerca de 1 minuto para melhor homogeneização do produto. Após, o suco de uva liquidificado foi submetido a filtração simples com papel filtro com intuito de remoção de quaisquer resquícios sólidos e as amostras de suco filtradas, então, foram acondicionadas em tubos cônicos tipo Falcon. Depois, foi realizado diluição das amostras na proporção de 45 μ L de suco de uva para 15 mL de água purificada Milli-Q utilizando micropipeta automática, sendo colocados em frasco de vidro transparente, para obtenção das amostras consideradas puras/brutas. O procedimento de diluição do suco de uva também foi realizado nas mesmas proporções (45 μ L de suco de uva para 15 mL de reagente ácido, alcalino ou neutro) a fim de se obter amostras como soluções-tampão em diferentes pHs (2, 4, 6, 8, 10 e 12), sendo avaliadas por meio de um pHmetro. A elaboração das amostras de sucos de uva e posterior análise analítica no espectrômetro de fluorescência foi efetuada no mesmo dia.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

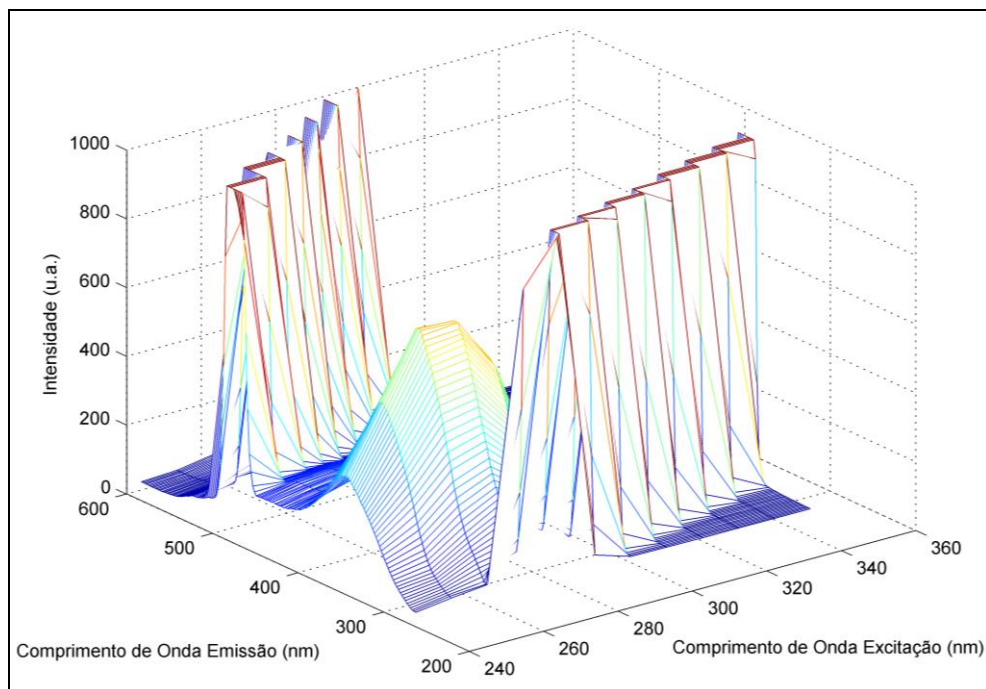
A organização das matrizes dos dados espectrais de fluorescência molecular e os respectivos pré-processamentos foram realizados usando o software MATLAB[®] 7.10.0.499 (The Mathworks, Natick, Estados Unidos). Os algoritmos PCA, HCA, PLS-DA e LDA foram executados no software MATLAB[®] 7.10.0.499 empregando as rotinas gratuitas obtidas na Internet `pca_toolbox`, `classification_toolbox` e `vstoolbox_gui` (Milano Chemometrics and QSAR Res. Group website).

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA

A Figura 10 exibe um gráfico representativo do espectro de fluorescência molecular referente às amostras de suco de uva. No espectro pode ser observado as intensidades das substâncias químicas presentes no suco de uva que emitem radiação. No anexo da monografia estão os gráficos dos espectros de fluorescência obtidos para todas as amostras analisadas.

Figura 10. Gráfico representativo do espectro de fluorescência das amostras de suco de uva.



Por meio da visualização de cada espectro gerado de fluorescência para cada amostra, foi determinado as melhores condições de meio químico (pH) e de comprimento de onda de excitação (λ_{exc}) para análise dos dados. Desta forma, após inspeção visual dos espectros, determinou-se que as amostras de suco de uva com $pH = 2$ e $\lambda_{exc} = 254$ nm apresentavam os melhores resultados em relação ao sinal/ruído da intensidade de fluorescência e foram os parâmetros escolhidos para o prosseguimento do trabalho.

A Figura 11 revela a compilação dos espectros brutos de emissão de fluorescência das amostras de suco de uva fixados no pH e no comprimento de onda de excitação selecionados anteriormente. A seguir, foi definido a região de trabalho dos dados originais do espectro pela

intensidade de sinal observado. Assim, foram escolhidos para análise 100 comprimentos de onda de emissão para análise entre 280 a 480 nm, a cada 2 nm, conforme representado na Figura 12. Em sequência, a Figura 13 demonstra que é necessário o emprego de ferramentas matemáticas para solucionar a separação para classificação das amostras de suco de uva consideradas convencionais (coloração azul) das orgânicas (coloração vermelha).

Figura 11. Espectros brutos de emissão de fluorescência das amostras de suco de uva.

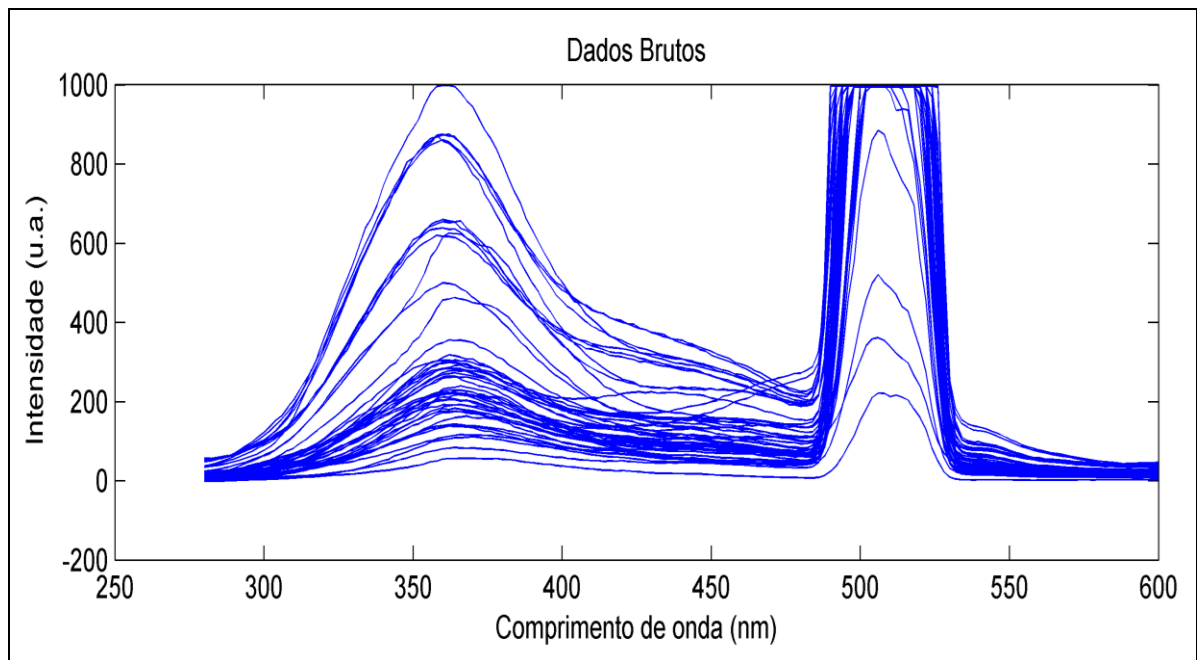


Figura 12. Região de trabalho dos espectros de emissão de fluorescência das amostras de suco de uva.

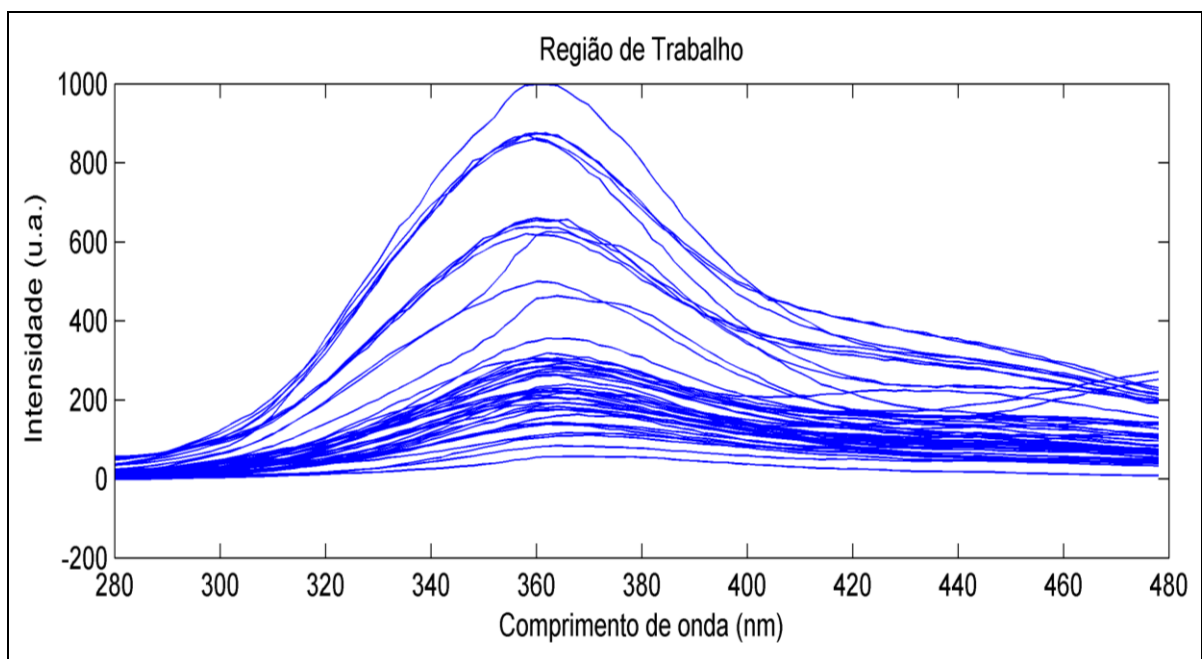
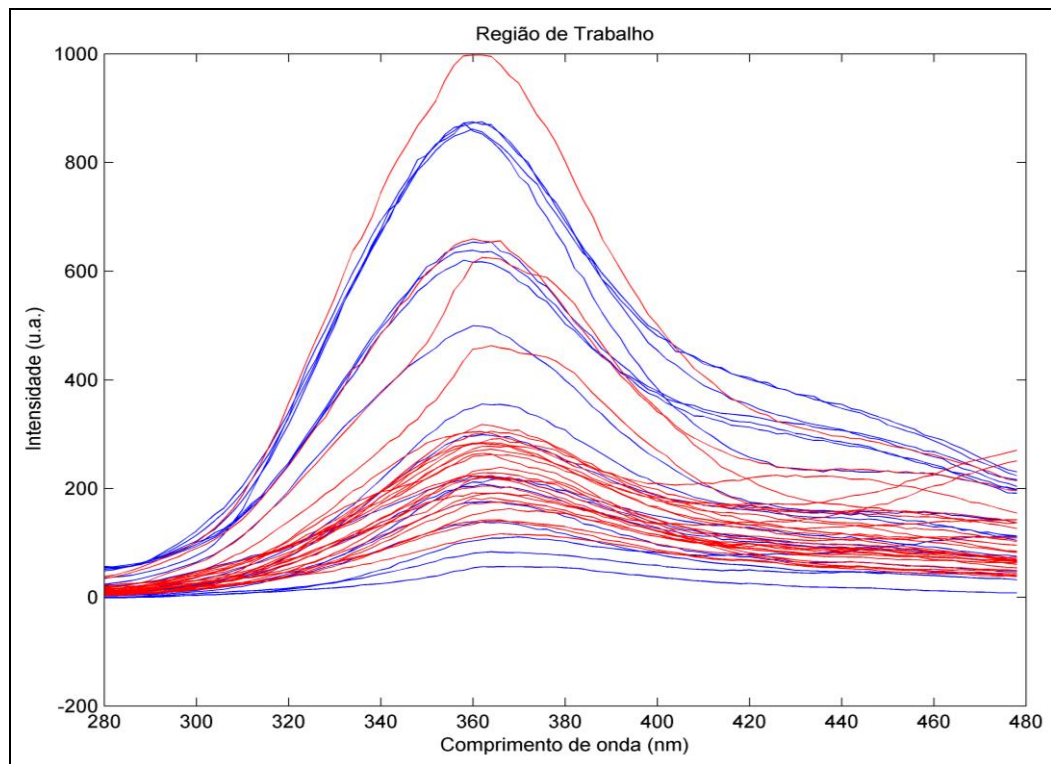


Figura 13. Região de trabalho dos espectros de emissão de fluorescência de suco de uva em que a cor azul representa as amostras convencionais e a cor vermelha equivale as amostras orgânicas.

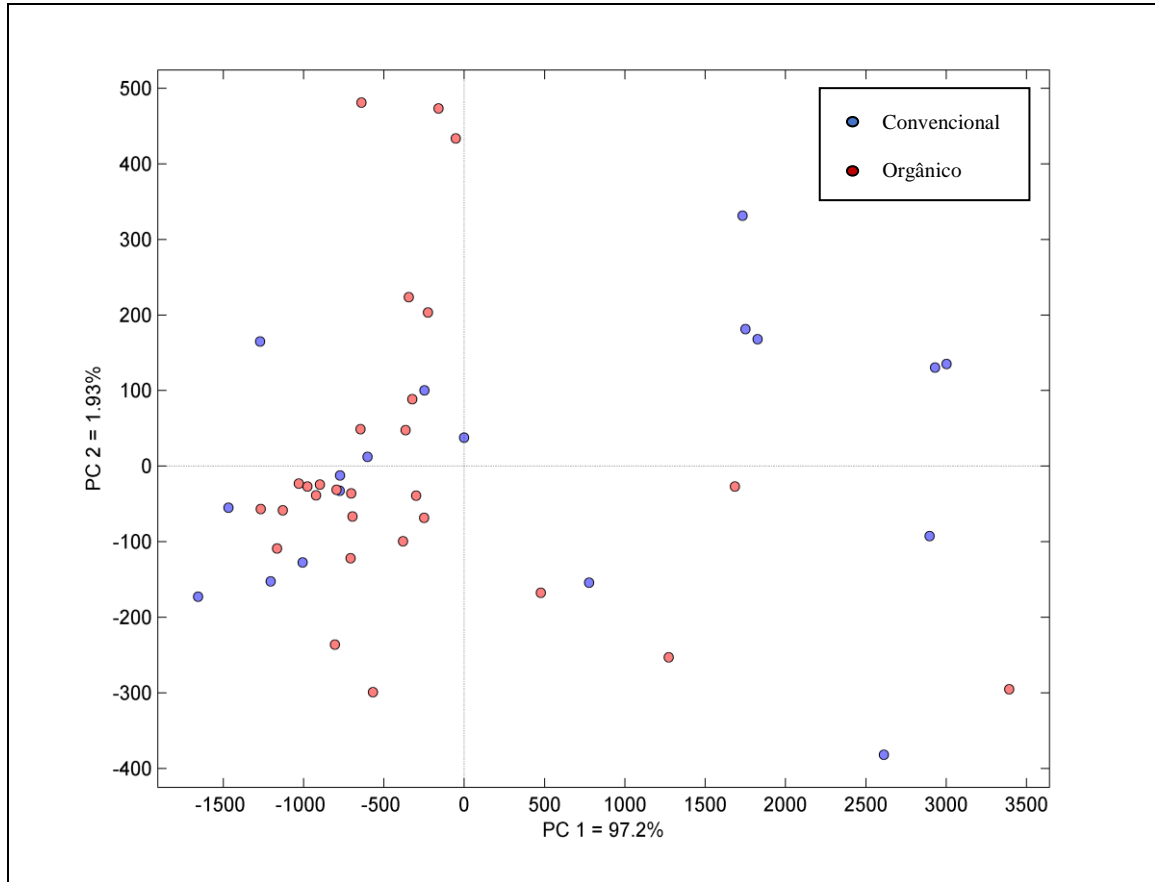


A seguir, é necessário criar uma matriz contendo o conjunto de dados de todas as amostras no software MATLAB[®]. A matriz é organizada da seguinte maneira: nas linhas são colocadas as amostras e nas colunas as variáveis. No caso dos espectros, nas linhas temos as amostras de suco de uva e nas colunas os valores de comprimento de onda de emissão.

6.2 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

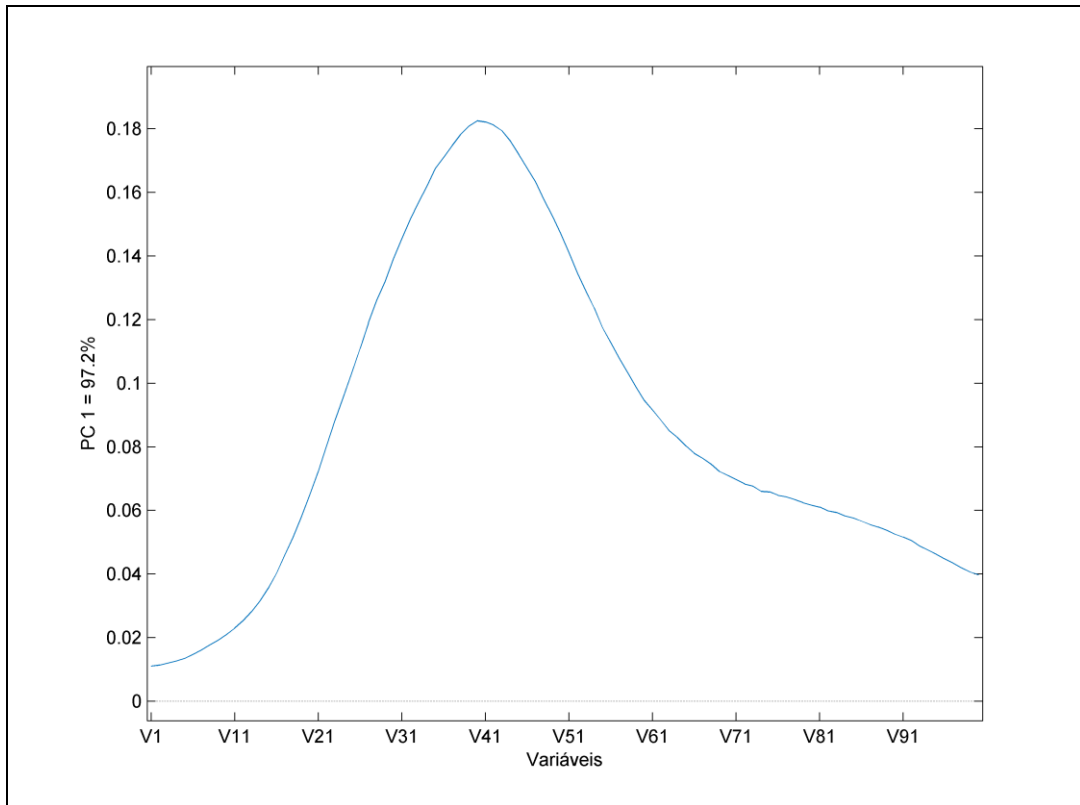
O método PCA inicialmente foi suportado no programa MATLAB[®] pela utilização do comando `pca_gui` empregando a rotina `pca_toolbox_1.5`. O conjunto de dados nomeado X_{trabalho} , que corresponde as 46 amostras analisadas nos 100 comprimentos de onda de emissão escolhidos para faixa de trabalho (variáveis), e as duas classes (convencional e orgânico) de suco de uva foram carregados no algoritmo. A seguir, foi calculado a análise por componentes principais estimando como 20 o número de componentes e os dados foram centrados na média. A variância dos dados explicada pelo método condiz com 100%. A Figura 14 mostra o resultado de escores da PCA da primeira componente principal (PC1) (97,2% da variância explicada) com a segunda componente principal (PC2) (1,93% da variância explicada) das amostras de suco de uva.

Figura 14. Gráfico de escores da PC1 versus PC2 do modelo PCA das amostras de suco de uva.



Nota-se que as amostras de ambas as classes convencional (círculos na cor azul) e orgânica (círculos na cor vermelha) estão sobrepostas e com enorme dispersão entre os eixos, sobretudo as amostras da classe convencional que estão ainda mais dispersas. Esta grande variância nos escores da PCA para as amostras pode ser atribuída a composição química dos sucos de uva visto que diferentes tipos de variedades estão representadas no estudo. Portanto, não é possível reconhecer um padrão de similaridade para que as amostras possam ser separadas e classificadas. A Figura 15 exibe os pesos de PC1 do modelo e indica as variáveis (comprimentos de onda de emissão) que mais influenciam no comportamento das amostras de suco de uva.

Figura 15. Gráfico de pesos da PC1 do modelo PCA das amostras de suco de uva.

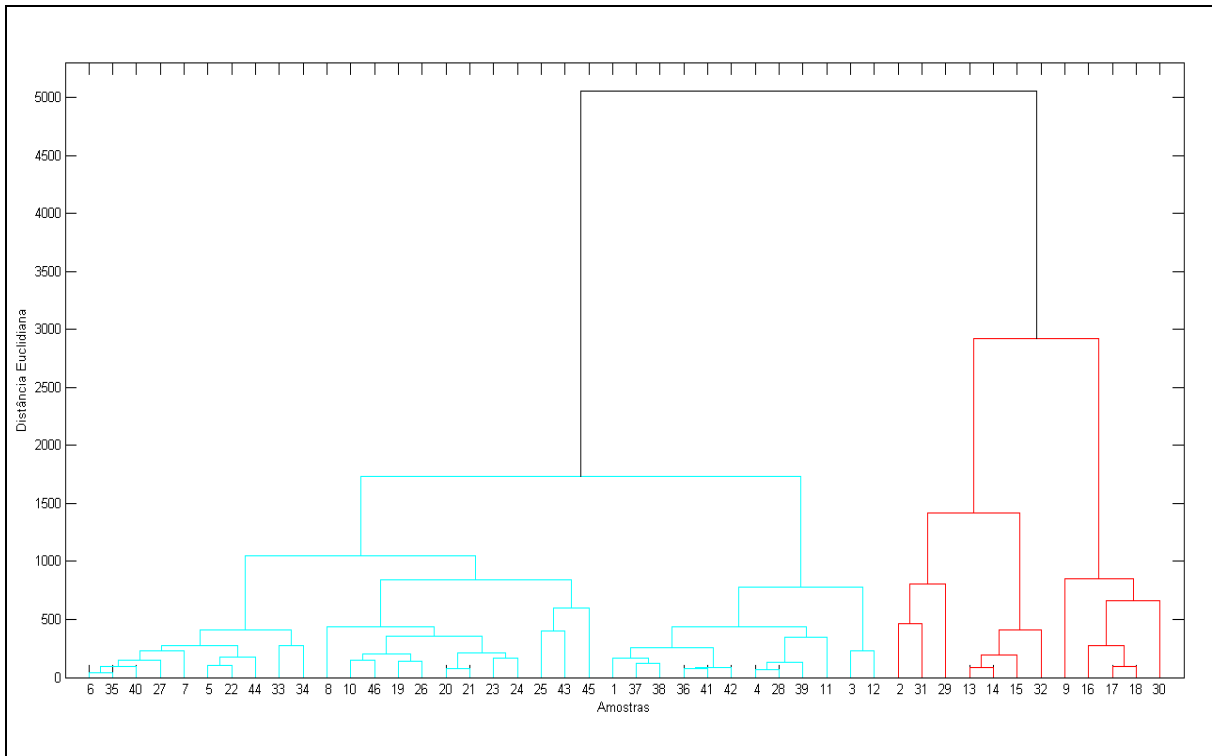


Desse modo, pode-se concluir que o emprego do método não supervisionado da análise por componentes principais (PCA) aos espectros de fluorescência molecular não consegue discriminar com precisão apropriadamente as duas classes analisadas consoante o modo de produção (convencional e orgânico) devido aos distintos varietais de uva empregados.

6.3 ANÁLISE DE AGRUPAMENTOS HIERÁRQUICOS

A técnica HCA também foi estruturada no programa MATLAB[®] pelo uso da idêntica rotina `pca_toolbox_1.5` e pelo emprego do mesmo conjunto de dados e classes. O cálculo foi definido pela distância euclidiana entre as amostras, centrado na média os dados e *linkage* completa (considera a distância máxima entre os elementos de cada *cluster*). O resultado do dendrograma gerado, Figura 16, não evidencia nitidamente a formação das duas classes de sucos de uva com relação ao meio de produção, entretanto, de modo peculiar, resolve bem a distinção entre algumas variedades de uva. O *cluster* vermelho é formado pelos varietais Niágara e Isabel, ao passo que todas as demais espécies estudadas pertencem ao *cluster* azul. Novas pesquisas se fazem necessárias a fim de elucidar a razão desse resultado.

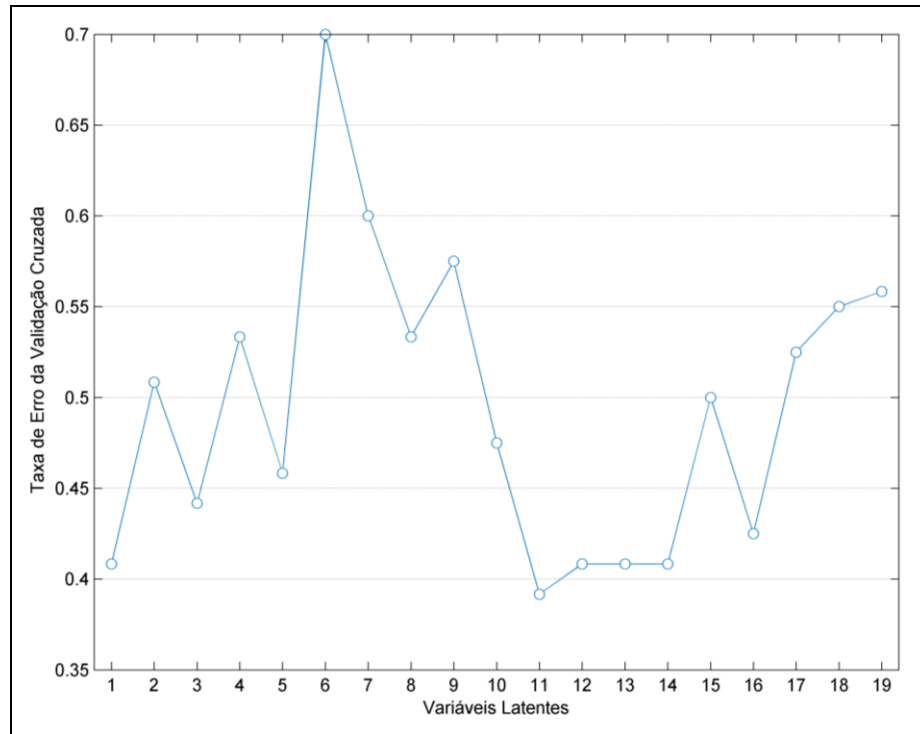
Figura 16. Dendrograma gerado por HCA das amostras de suco de uva.



6.4 ANÁLISE DISCRIMINANTE POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS

O método PLS-DA teve suporte no programa MATLAB[®] pelo emprego do comando `class_gui` utilizando a rotina `classification_toolbox_5.4`. Primeiramente, foi realizado a partição do conjunto de dados em amostras de treinamento e de predição do modelo pelo método Kennard-Stone, em que as distâncias euclidianas entre os vetores das respostas instrumentais e das amostras selecionadas são maximizadas. O conjunto de dados de treinamento (calibração) corresponde a 32 amostras (12 amostras da classe convencional e 20 amostras da classe orgânica) e o conjunto de dados de teste (predição) é equivalente a 14 amostras (6 amostras da classe convencional e 8 amostras da classe orgânica), ambos com a escolha do número de amostras realizada de forma fortuita. O modelo PLS-DA foi otimizado com os dados do conjunto de treinamento centrados na média, no qual evidencia o número de 11 variáveis latentes como adequado ao modelo, conforme a Figura 17.

Figura 17. Variáveis mais relevantes das amostras de treinamento pelo algoritmo PLS-DA.



A seguir, foi aplicado novamente a ferramenta PLS-DA adotando o número de 11 variáveis latentes estimado anteriormente e o conjunto de dados de treinamento centrado na média. A Figura 18 exibe o gráfico de escores das amostras de treino e de teste em razão da resposta usando os dados de fluorescência molecular para classificação de sucos de uva de acordo com o modo de produção. Os círculos azuis indicam as amostras de treino verdadeiramente da classe convencional, os círculos vermelhos representam fielmente as amostras de treinamento da classe orgânica, os asteriscos azuis simbolizam as amostras de teste da classe convencional, ao passo que os asteriscos vermelhos constituem as amostras de predição da classe orgânica. A linha discriminante tracejada corresponde a fronteira entre as duas classes, onde as amostras identificadas como pertencentes à classe convencional estão posicionadas acima dela e as amostras classificadas como relacionadas à classe orgânica estão localizadas abaixo. O modelo obteve 100% de variância explicada.

A interpretação da Figura 18 indica que a modelagem processada com PLS-DA sobre os dados de fluorescência das amostras de treinamento apresenta moderada taxa de acerto na classificação com três falsos negativos da classe convencional e nove falsos positivos da classe orgânica, além de outras três amostras que se encontram vizinhas à divisa das classes. Já para as amostras de teste o modelo produzido também evidencia eficiente taxa de acerto na classificação com um falso negativo da classe convencional e quatro falsos positivos da classe

orgânica. Em suma, a PLS-DA totalizou 20 erros de classificação, sendo 15 no conjunto de treinamento e 5 no conjunto de teste. As métricas de desempenho como sensibilidade, seletividade e taxa de classificação correta (TCC), bem como o número de acertos e de erros em cada um dos conjuntos de treinamento e de teste estão resumidas na matriz de confusão apresentada na Tabela V.

Figura 18. Gráfico de escores das amostras de treinamento e das amostras de teste pelo algoritmo PLS-DA.

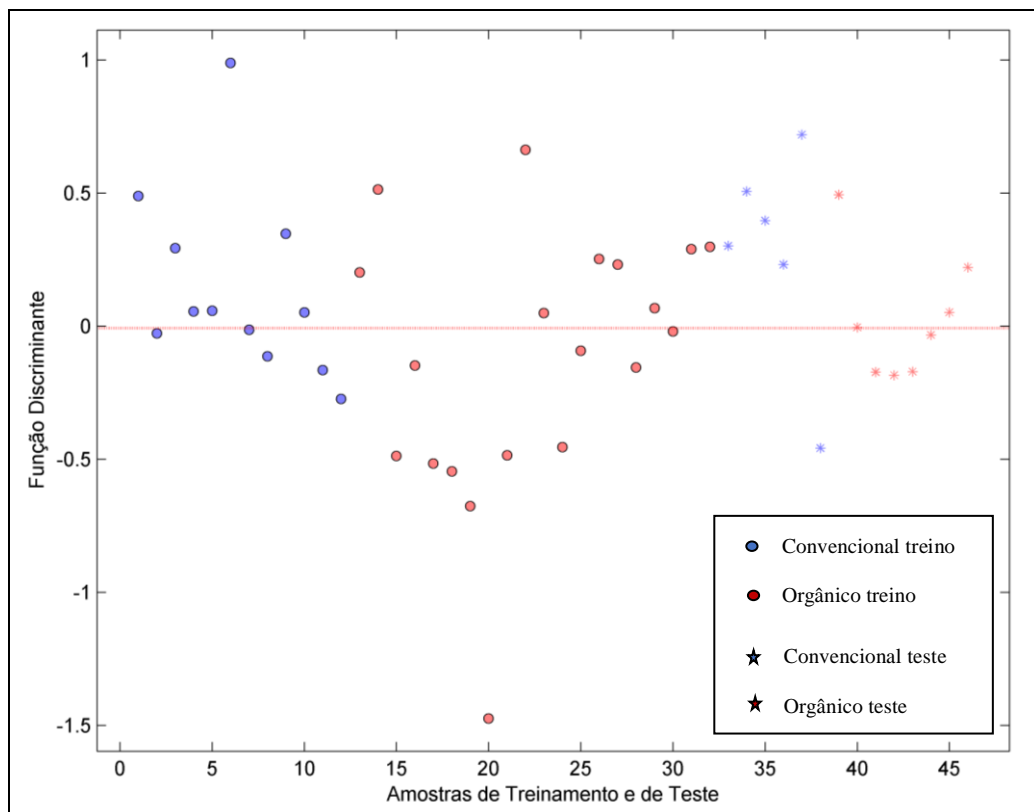


Tabela V. Matriz de confusão do modelo de classificação construído com o algoritmo PLS-DA baseado em dados de fluorescência de amostras de suco de uva.

Classe assinalada		Treinamento (11)		Teste (11)	
		Convencional	Orgânica	Convencional	Orgânica
Classe verdadeira	Convencional	8	4	5	1
	Orgânica	9	11	4	4
Sensibilidade (%)		67	55	83	50
Seletividade (%)		55	67	50	83
Taxa de Classificação Correta (TCC) (%)		59		64	

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nota: Números entre parênteses indicam o número de variáveis usadas pelo modelo.

6.5 ANÁLISE DISCRIMINANTE LINEAR

O método LDA foi estruturado no programa MATLAB[®] pela aplicação do comando `vstoolbox_gui` e uso da rotina com mesma denominação. Do mesmo modo, o conjunto de treinamento equivale a 32 amostras e o conjunto de teste corresponde a 14 amostras. Os dados de treinamento correspondem a 12 amostras da classe convencional e 20 amostras da classe orgânica e os dados de previsão se referem a 6 amostras da classe convencional e 8 amostras da classe orgânica.

Depois de realizado o ajuste de partição do conjunto de dados, foi efetuado a classificação do modelo e seleção das variáveis pelo emprego do algoritmo randômico de Otimização de Colônia de Formigas (ACO). Os parâmetros utilizados na metodologia das amostras de treinamento foram os seguintes: o número de formigas igual a 100, o número de colônias equivalente a 250, haviam 0,35 formigas cegas e um máximo de variância de 15. O modelo foi replicado 10 vezes a fim de se obter a melhor solução.

As Figuras 19 e 20 representam os gráficos de escores das amostras de treinamento e de teste, respectivamente, em função das duas classes estudadas empregando os dados de fluorescência para classificação de sucos de uva com relação a forma de elaboração. As amostras de treinamento convencionais (círculos de coloração azul) apresentaram a função discriminante com escore acima de zero. Por outro lado, as amostras de treino orgânicas (círculos de cor vermelha) exibiram a função discriminante abaixo de zero, com exceção de uma amostra orgânica que ficou no modelo classificada como convencional.

O modelo ACO-LDA sobre os dados de fluorescência nas amostras de treinamento evidencia um alto nível de acerto na classificação com apenas uma imprecisão de uma amostra da classe orgânica agrupado como convencional, isto é, um falso positivo com escore da função discriminante acima de zero. O conjunto de amostras de teste alcançaram completo índice de acerto na discriminação dos sucos de uva conforme o meio de processamento. O algoritmo ACO apresenta resultados com maior robustez do que a PCA e a PLS-DA com 97,5% na validação do modelo e 100% na estimação das classes das amostras do conjunto de teste. As figuras de mérito como o número de acertos e de erros em cada um dos conjuntos de treinamento e de teste, assim como os valores de sensibilidade, de seletividade e da taxa de classificação correta estão reunidas na matriz de confusão apresentada na Tabela VI.

Figura 19. Gráfico de escores das amostras de treinamento pelo algoritmo ACO.

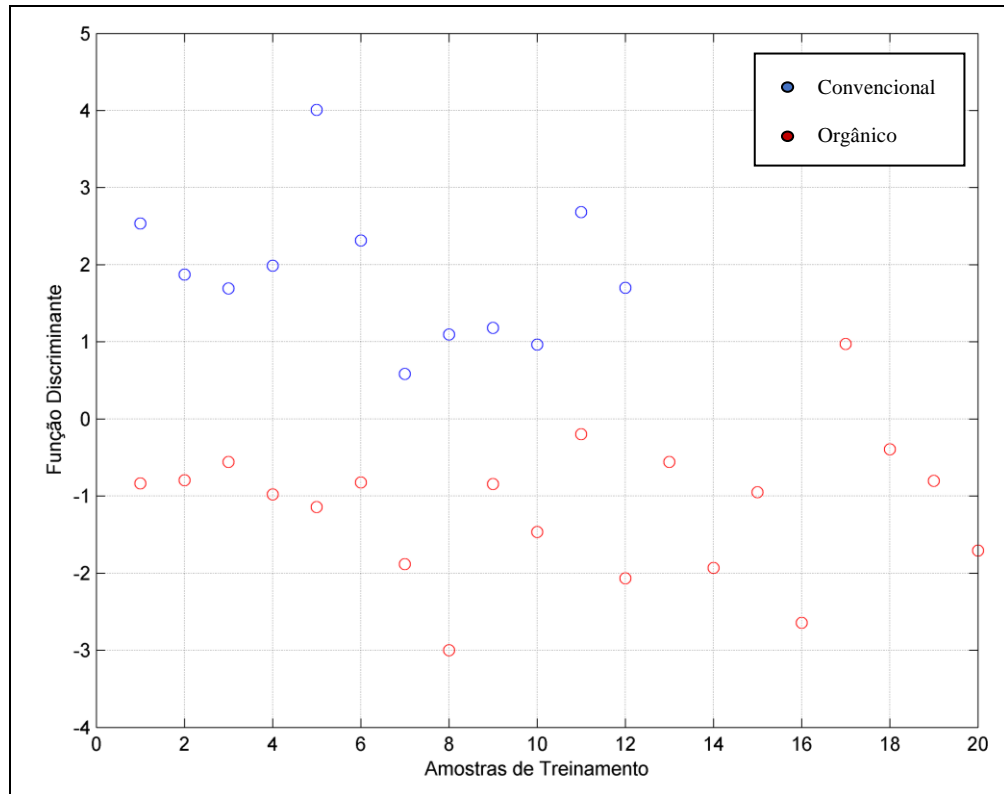


Figura 20. Gráfico de escores das amostras de teste pelo algoritmo ACO.

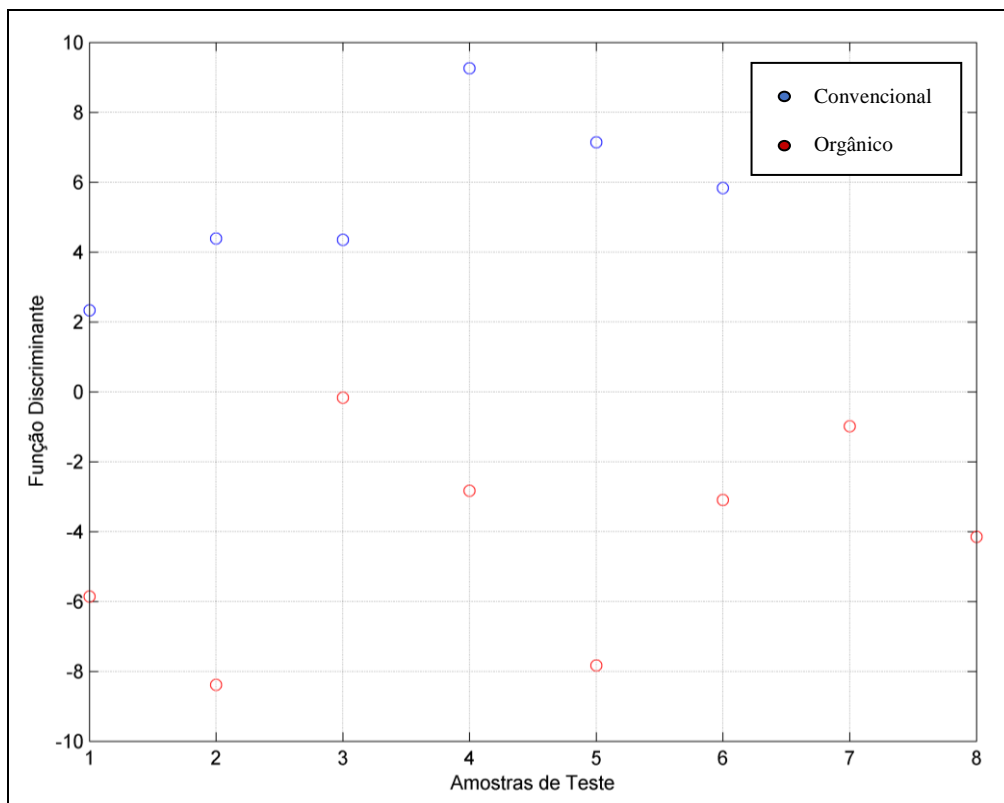


Tabela VI. Matriz de confusão do modelo de classificação desenvolvido com o algoritmo ACO-LDA a partir de dados de fluorescência de amostras de suco de uva.

Classe assinalada		Treinamento (11)		Teste (3)	
		Convencional	Orgânica	Convencional	Orgânica
Classe verdadeira	Convencional	12	0	6	0
	Orgânica	1	19	0	8
Sensibilidade (%)		100	95	100	100
Seletividade (%)		95	100	100	100
Taxa de Classificação Correta (TCC) (%)		97,5		100	

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nota: Números entre parênteses indicam o número de variáveis usadas pelo modelo.

As Figuras 21 e 22 exibem as variáveis selecionadas de comprimentos de onda de emissão mais relevantes que caracterizam e explicam a separação das classes de sucos de uva das amostras de treinamento e de teste usando o algoritmo ACO. Para as amostras de treino, as variáveis escolhidas são as seguintes: 286, 322, 346, 390, 404, 410, 412, 414, 444, 456 e 474 nm. Já para as amostras de predição, os fatores escolhidos são 356, 396 e 412 nm. Esses comprimentos de onda de emissão correspondem a ácidos fenólicos, catequinas monoméricas e flavonoides, compostos químicos característicos presentes em sucos de uva, e a quantidade existente desses compostos na uva mudam conforme o modo de produção aplicado⁶⁶⁻⁶⁸.

Figura 21. Seleção das variáveis mais importantes nas amostras de treino pelo algoritmo ACO.

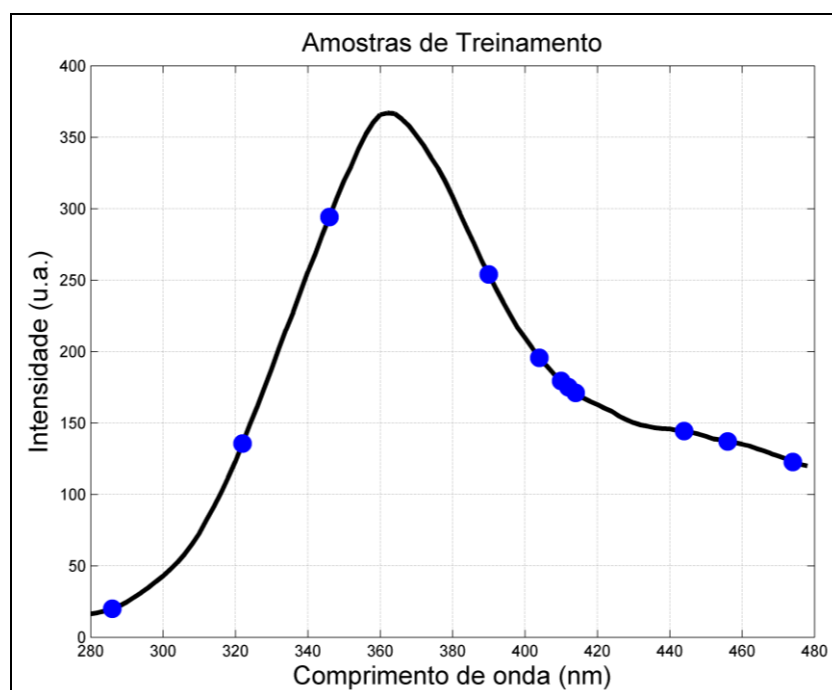
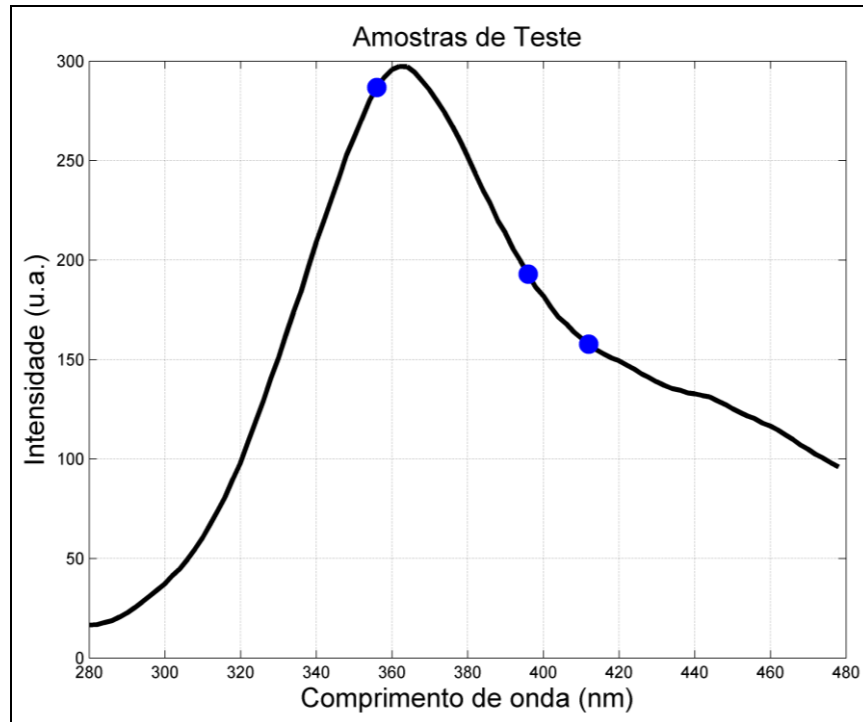


Figura 22. Seleção das variáveis mais relevantes nas amostras de teste pelo algoritmo ACO.



Diferentemente dos gráficos de escores obtidos pela PCA e pela PLS-DA, os resultados atingidos pela análise discriminante linear (LDA) utilizando a otimização por colônia de formigas (ACO) evidenciam que o algoritmo resolve bem a discriminação entre as classes das amostras de suco de uva no que diz respeito ao modo de produção convencional ou orgânico. Além da boa resposta obtida em função da não existência de erros para o conjunto de teste (100% de sensibilidade e de seletividade), fica evidenciado a eficiência do modelo em selecionar as variáveis espectrais que sejam suficientes para o estudo de classificação de sucos de uva.

Procedimento semelhante foi realizado para classificação das amostras de suco de uva e seleção das principais variáveis pela utilização do algoritmo genético (GA). Os critérios aplicados para as amostras de treinamento foram os seguintes: o número da população era de 100, o número de gerações igual a 250 e um máximo de variância de 15. O método também foi feito 10 vezes a fim de se atingir a melhor resposta. As Figura 23 e 24 apresentam os gráficos de escores das amostras de calibração e de predição, nessa ordem, de acordo com as classes analisadas utilizando os dados de fluorescência para classificação de sucos de uva. As amostras de calibração convencionais (círculos de coloração azul) ostentaram a função discriminante com escore acima de zero. Em contrapartida, as amostras de predição orgânicas (círculos de cor vermelha) revelaram a função discriminante abaixo de zero.

Figura 23. Gráfico de escores das amostras de calibração pelo algoritmo GA.

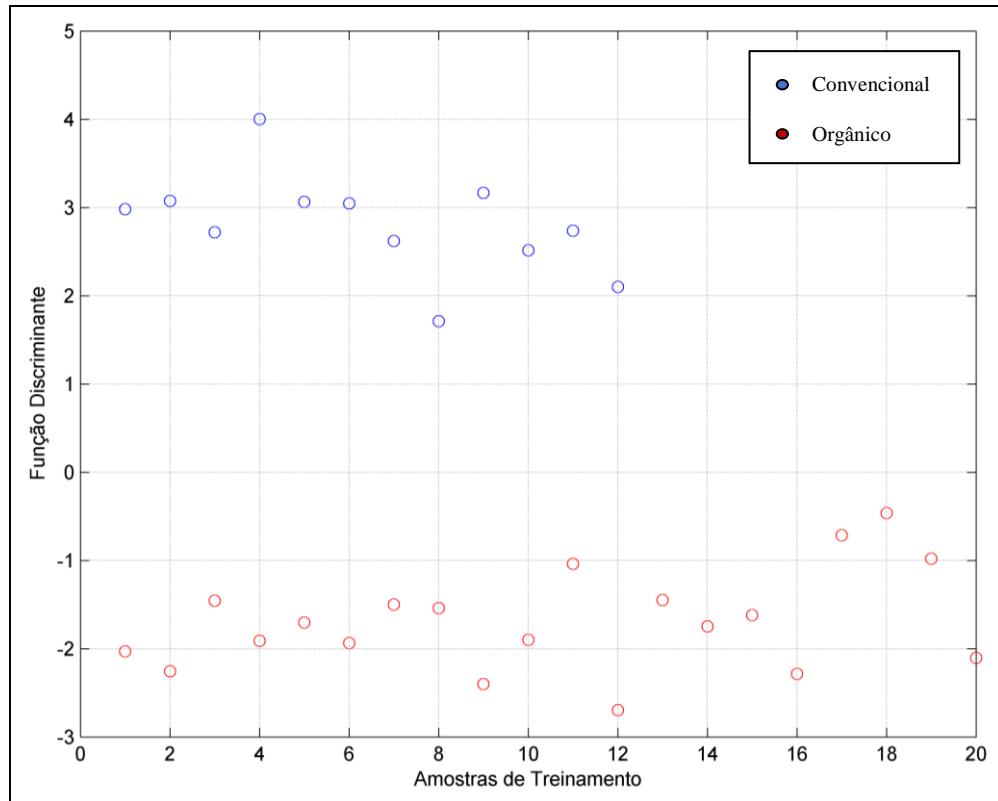
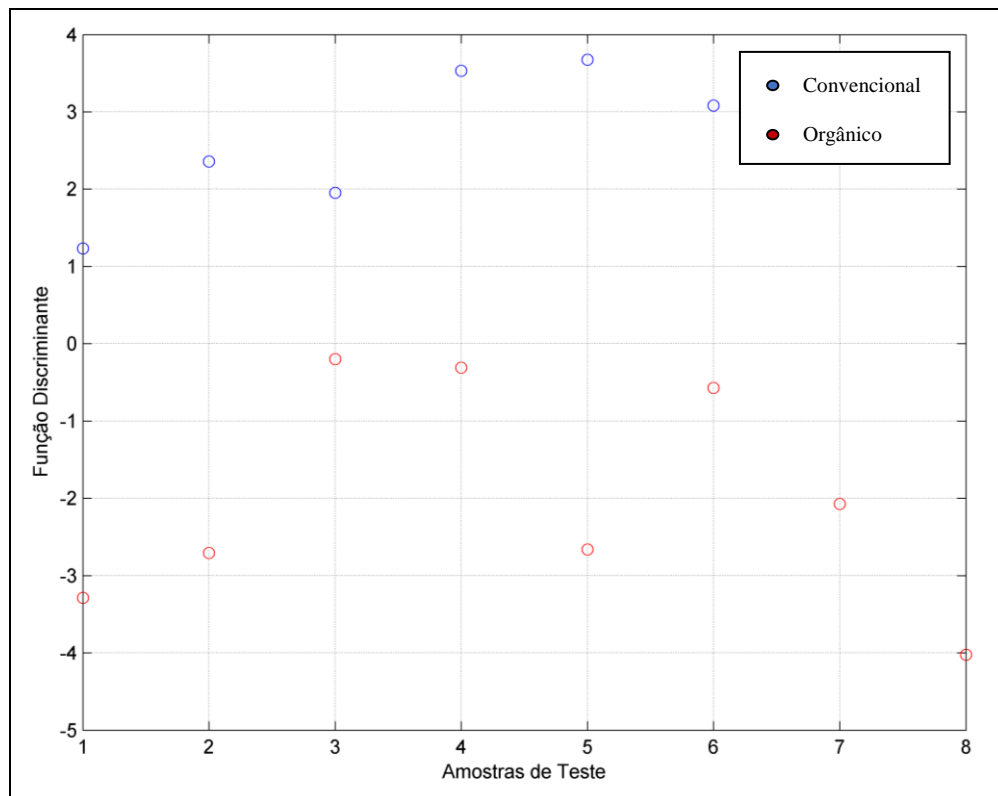


Figura 24. Gráfico de escores das amostras de predição pelo algoritmo GA.



O modelo GA-LDA sobre o conjunto de dados de fluorescência nas amostras de treinamento e de teste se mostra adequado pois expressa uma extraordinária taxa de acerto na classificação dos sucos de uva com 100% de acurácia e nenhum erro. O algoritmo GA exibe os melhores resultados quando comparado com as outras ferramentas aplicadas com 100% na validação do modelo e 100% na estimação das classes das amostras do conjunto de teste. Os valores de sensibilidade, de seletividade e da taxa de classificação correta, bem como os números de acertos e de erros em cada um dos conjuntos de treinamento e de testes estão resumidos na matriz de confusão apresentada na Tabela VII. As figuras de mérito possibilitam avaliar o desempenho do algoritmo e fica evidenciado neste estudo que o método GA-LDA apresenta os melhores resultados.

Tabela VII. Matriz de confusão do modelo de classificação produzido com o algoritmo LDA-GA segundo dados de fluorescência de amostras de suco de uva.

Classe assinalada		Treinamento (11)		Teste (3)	
		Convencional	Orgânica	Convencional	Orgânica
Classe verdadeira	Convencional	12	0	6	0
	Orgânica	0	20	0	8
Sensibilidade (%)		100	100	100	100
Seletividade (%)		100	100	100	100
Taxa de Classificação Correta (TCC) (%)		100		100	

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nota: Números entre parênteses indicam o número de variáveis usadas pelo modelo.

As Figuras 25 e 26 mostram as variáveis escolhidas de comprimentos de onda de emissão mais significativas que definem e justificam a diferenciação das classes de sucos de uva das amostras de treinamento e de teste usando o algoritmo GA. Para as amostras de calibração, as variáveis escolhidas são as seguintes: 334, 336, 380, 384, 390, 402, 404, 410, 422, 456 e 466 nm. Já para as amostras de predição, os fatores selecionados são 352, 384 e 390 nm. Como mencionado anteriormente, esses comprimentos de onda de emissão obtidos se referem a compostos fenólicos, catequinas e flavonoides, grupos fluoróforos existentes em sucos de uva⁶⁶⁻⁶⁸.

Figura 25. Variáveis mais expressivas nas amostras de calibração pelo algoritmo GA.

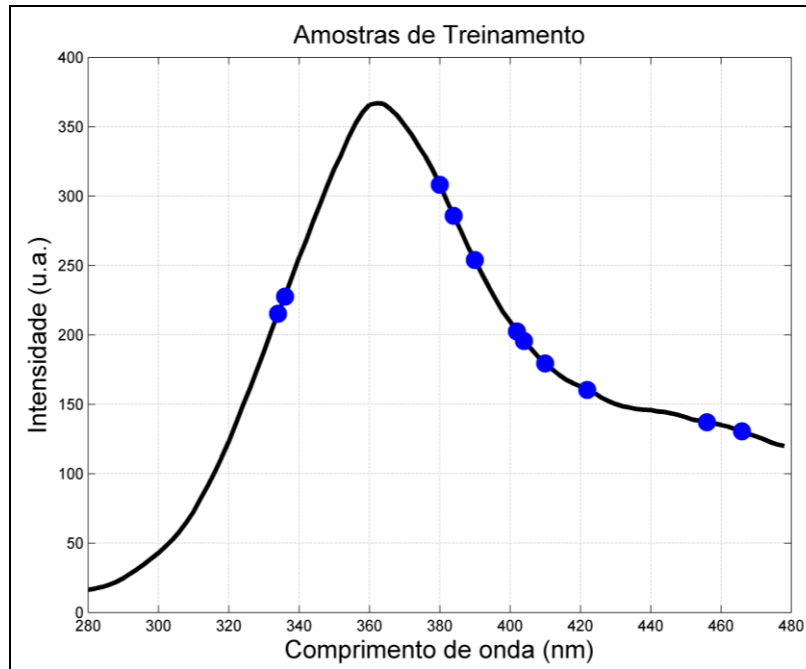
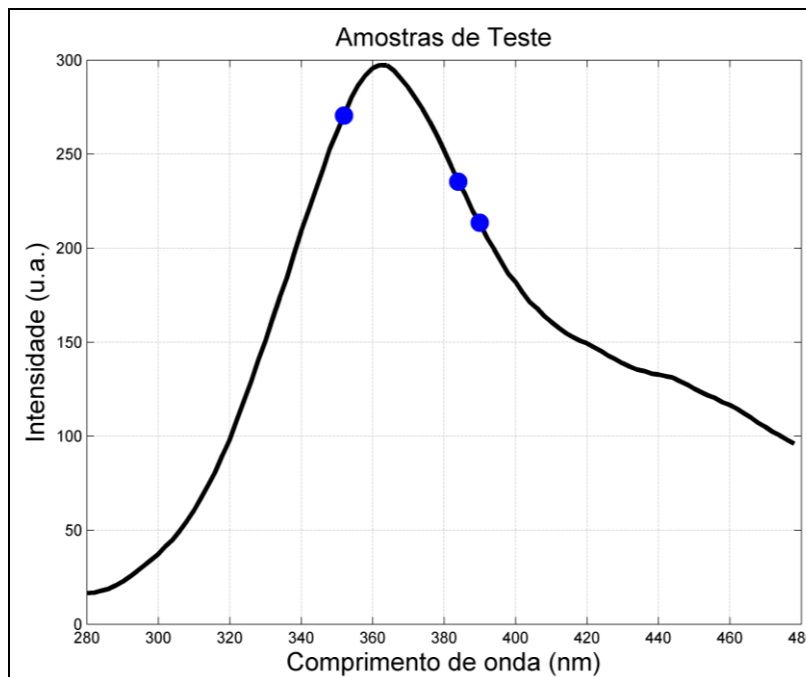


Figura 26. Variáveis mais significativas nas amostras de predição pelo algoritmo GA.



Os resultados obtidos pela análise discriminante linear (LDA) empregando o algoritmo genético (GA), do mesmo jeito que o algoritmo colônia de formigas (ACO), mostram a capacidade da ferramenta em definir as variáveis espectrais mais significativas que permitem determinar a classificação entre as classes das amostras de suco de uva no tocante ao método de produção convencional ou orgânico.

7. CONCLUSÕES

Neste estudo foi realizado uma análise exploratória de dados de sucos de uva desenvolvidos no Estado do Rio Grande do Sul pela técnica de espectroscopia de fluorescência molecular com emprego de diversos métodos quimiométricos. Os melhores resultados alcançados demonstraram que a análise discriminante linear (LDA) pode classificar de modo eficiente e satisfatório as amostras de suco de uva de acordo com o processo adotado de produção convencional ou orgânico com 100% na validação do modelo e de 100% na estimação das classes das amostras do conjunto de teste para o algoritmo genético (GA). Ademais, o modelo apresentou elevada seletividade e sensibilidade para as amostras de treino e de teste e foi possível, ainda, determinar as variáveis mais significativas que explicam a separação das classes. As demais ferramentas de quimiometria utilizadas como a PCA, a HCA e a PLS-DA obtiveram soluções moderadas a boas na taxa de acerto.

O uso da fluorescência molecular associada à ferramenta estatística mostrou-se, assim, eficiente na diferenciação entre amostras de suco de uva em relação ao seu processo de produção com o uso ou não de defensivos agrícolas devido à natureza química dos compostos orgânicos presentes em cada tipo de matriz serem diferentes. Portanto, pode ser aplicado como um novo método alternativo de classificação de sucos de uva, além de ser viável para o controle de qualidade em indústrias alimentícias a fim de evitar possíveis adulterações e/ou falsificações do produto. Novas pesquisas se fazem necessárias com o propósito de elucidar a distinção entre algumas variedades de uva quando empregado a análise de *cluster*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ BLENFORD, D. E. Winner drinks: use of amino acids and peptides in sports nutrition. *International Foods Ingredients*, n. 3, p. 20, 1996.
- ² BROEK, A. V. D. Functional Foods. The Japanese Approach. *International Food Ingredients*, n. 1/2, p. 4-10, 1993.
- ³ SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M. *Modern nutrition in health and disease*. 8a ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 2 v., 1994.
- ⁴ REBOITA, P. S. Análise socioeconômica do perfil dos consumidores de produtos orgânicos no município de Rio Grande – RS. 2018. 43 f. Monografia de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Econômicas) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2018.
- ⁵ FIDELIS, M.; SANTOS, J. S.; COELHO, A. L. K.; RODIONOVA, O. Y.; POMERANTSEV, A.; GRANATO, D. Authentication of juices from antioxidant and chemical perspectives: A feasibility quality control study using chemometrics. *Food Control*, 73, p. 796-805, 2017.
- ⁶ SANCHES, J.; LINO, A. C. L. Uso de imagem digital para seleção e classificação de frutas e hortaliças. Disponível em: http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/9.pdf. Acesso em 13/03/2020.
- ⁷ PARRA, C. D. Engarrafador Moderno. Produtos saudáveis e naturais ganham a preferência do consumidor e movimentam o mercado de sucos no Brasil. Disponível em: <https://engarrafadormoderno.com.br/mercado/estimulando-o-consumidor>. Acesso em 12/03/2020.
- ⁸ IBGE. Sidra. Banco de Tabelas Estatísticas. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>. Acesso em: 11/03/2020.

- ⁹ MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2017. Comunicado Técnico 207 (1 ed.). Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1100897/vitivinicultura-brasileira-panorama-2017>. Acesso em 13/03/2020.
- ¹⁰ ATLAS SOCIOECONÔMICO DO RIO GRANDE DO SUL. Economia. Agropecuária. Uva e Maçã. Disponível em: <https://atlassocioeconomico.rs.gov.br/uva-e-maca>. Acesso em: 17/09/2020.
- ¹¹ BICAS, T. C.; FERNANDES, A.; PRASNIEWSKI, A.; CALEGARI, M. A.; LIMA, V. A.; OLDONI, T. L. C. Brazilian Journal of Food Research, Campo Mourão, v. 8, n. 2, p. 89-97, 2017.
- ¹² IBRAVIN. Brasil Vitivinícola. Panorama Geral. Disponível em: <https://www.ibravin.org.br/Panorama-Geral>. Acesso em 11/03/2020.
- ¹³ CANOSSA, A. T.; REINEHR, J.; BEM, B. P.; ALLENBANDT, R.; WURZ, D. A.; KRETZCHMAR, A. A. Composição química e análise sensorial do suco de uva elaborado com três variedades cultivadas em Lages – Santa Catarina. Revista da Jornada da Pós-Graduação e Pesquisa - Congrega, URCAMP, 2017.
- ¹⁴ SEN, I.; TOKATLI, F. Differentiation of wines with the use of combined data of UV-visible spectra and color characteristics. Journal of Food Composition and Analysis, 45, p. 101-107, 2016.
- ¹⁵ MOIGNE, M. L.; DUFOUR, E.; BERTRAND, D.; MAURY, C.; SERAPHIN, D.; JOURJON, F. Front face fluorescence spectroscopy and visible spectroscopy coupled with chemometrics have the potential to characterise ripening of Cabernet Franc grapes. Analytica Chimica Acta, 621, p. 8-18, 2008.
- ¹⁶ PUCRIO. Quimiometria. Disponível em: https://www.maxwell.vrac.pucrio.br/4333/4333_6.PDF. Acesso em 13/04/2020.
- ¹⁷ FERREIRA, M. M. C. Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações. Editora Unicamp, Campinas, p. 493, 2015.

- ¹⁸ COZZOLINO, D.; CYNKAR, W.; SHAH, N.; SMITH, P. Varietal Differentiation of Grape Juice Based on the Analysis of Near- and Mid-infrared Spectral Data. *Food Anal. Methods*, 5, p. 381-387, 2012.
- ¹⁹ VERSARI, A.; LAURIE, V. F.; RICCI, A.; LAGHI, L.; PARPINELLO, G. P. Progress in authentication, typification and traceability of grapes and wines by chemometric approaches. *Food Research International*, 60, p. 2-18, 2014.
- ²⁰ URBANO, M.; CASTRO, M. D. L.; PÉREZ, P. M.; GARCÍA-OLMO, J.; GÓMEZ-NIETO, M. A. Ultraviolet-visible spectroscopy and pattern recognition methods for differentiation and classification of wines. *Food Chemistry*, 97, p. 166-175, 2006.
- ²¹ GRANDIZOLI, C. W. P. S.; CAMPOS, F. R.; SIMONELLI, F.; BARISON, A. Controle de qualidade do suco de uva por meio de espectroscopia de ¹H NMR e análises quimiométricas. *Química Nova*, 37, p. 1227-1232, 2014.
- ²² LI, B.; DENG, J.; CAI, X.; LIU, R.; TAN, J.; WANG, H. Studies on aroma components in pure grape juice by HS-SPME-GC-MS coupled with PCA. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 16, p. 258-270. 2016.
- ²³ SCHUEURMANN, C.; STEEL, C. C.; BLACKMAN, J. W.; CLARK, A. C.; SCHWARZ, L. J.; MORAGA, J.; COLLADO, I. G.; SCHMIDTKE, L. M. A GC-MS untargeted metabolomics approach for the classification of chemical differences in grape juices based on fungal pathogen. *Food Chemistry*, 270, p. 375-384, 2019.
- ²⁴ BORGES, E. M.; VOLMER, D. A.; BRANDELERO, E.; GELINSKI, J. M. L. N.; GALLIMBERTI, M.; BARBOSA, F. Monitoring the Authenticity of Organic Grape Juice via Chemometric Analysis of Elemental Data. *Food Anal. Methods*, 9, p. 362-369, 2016.
- ²⁵ MIAW, C. S. W.; SENA, M. M.; SOUZA, S. V. C.; CALLAO, M. P.; RUISANCHEZ, I. Detection of adulterants in grape nectars by attenuated total reflectance Fourier-transform mid-infrared spectroscopy and multivariate classification strategies. *Food Chemistry*, 266, p. 254-261, 2018.

- ²⁶ GAMBETTA, J. M.; COZZOLINO, D.; BASTIAN, S. E. P.; JEFFERY, D. W. Exploring the Effects of Geographical Origin on the Chemical Composition and Quality Grading of *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay Grapes. *Molecules*, 22, p. 218, 2017.
- ²⁷ GAMBETTA, J. M.; COZZOLINO, D.; BASTIAN, S. E. P.; JEFFERY, D. W. Classification of Chardonnay Grapes According to Geographical Indication and Quality Grade Using Attenuated Total Reflectance Mid-infrared Spectroscopy. *Food Analytical Methods*, 12, p. 239-245, 2019.
- ²⁸ NASKAR, H.; NANDESHWAR, V.; DAS, S. Adulteration Detection of Grape Fruit Juice Using PCA and LDA Pattern Recognition Technique. *Proceedings of 2018 IEEE Applied Signal Processing Conference, ASPCON*, 8748633, p. 83-86, 2018.
- ²⁹ GUTIÉRREZ-CAPITÁN, M.; SANTIAGO, J.-L.; LLOBERA, A.; BOSO, S.; GAGO, P.; MARTÍNEZ, M.-C.; JIMÉNEZ-JORQUERA, C. Classification and Characterization of Different White Grape Juices by Using a Hybrid Electronic Tongue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, p. 9325-9332, 2013.
- ³⁰ MARTELO-VIDAL, M. J.; VÁSQUEZ, M. Advances in ultraviolet and visible light spectroscopy for food authenticity testing. *Advances in Food Authenticity Testing*, Cap. 3, p. 35-70, 2016.
- ³¹ BOGGIA, R.; CASOLINO, M. C.; HYSENAJ, V.; OLIVERI, P.; ZUNIN, P. A screening method based on UV-Visible spectroscopy and multivariate analysis to assess addition of filler juices and water to pomegranate juices. *Food Chemistry*, 140, p. 735-741, 2013.
- ³² LEÃO, P. C. S. Breve histórico da vitivinicultura e a sua evolução na região semiárida brasileira. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica*, Recife, vol. 7, p. 81-85, 2010.
- ³³ UFSCAR. A História do Vinho. Disponível em: <http://www.vico.ufscar.br/bebidas/vinho/a-historia-do-vinho/view>. Acesso em: 04/04/2020.
- ³⁴ FERNANDES, A. Uso de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (IVTF) e Quimiometria para Classificação de Vinho e Suco de Uva. 2015. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2015.

- ³⁵ DE ROSSI, G. Identificação e Análise do Sistema de Monitoramento de Fornecedores da Cadeia de Suprimentos do Setor Vitivinícola do Rio Grande do Sul: o Caso da Vinícola Miolo. 2009. 66 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Gestão de Operações Logísticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
- ³⁶ RIZZON, L. A.; MANFROI, V.; MENEGUZZO, J. Elaboração de suco de uva na propriedade vitícola. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 24 p., 1998.
- ³⁷ RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. Suco de uva. Coleção Agroindústria Familiar. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 45 p., 2007.
- ³⁸ INFOESCOLA. Tipos de Uvas. Disponível em: <https://www.infoescola.com/frutas/tipos-de-uvas/>. Acesso em 04/04/2020.
- ³⁹ BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.871 de 4 de junho de 2009. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm. Acesso em: 07/09/2018.
- ⁴⁰ MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: panorama 2018. Comunicado Técnico 210. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1113215/1/ComunicadoTecnico210.pdf>. Acesso em: 17/09/2020.
- ⁴¹ ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural. Disponível em: <https://estado.rs.gov.br/upload/arquivos/sisdevin-dados-da-safra-2019.pdf>. Acesso em: 17/09/2020.
- ⁴² PUCRIO. Espectrometria de Fluorescência Molecular. Disponível em: https://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/6260/6260_3.PDF. Acesso em 05/04/2020.
- ⁴³ ATKINS, P.; DE PAULA, J. Atkins' Physical Chemistry, Oxford University Press, 8ª ed., 494 p., 2006.

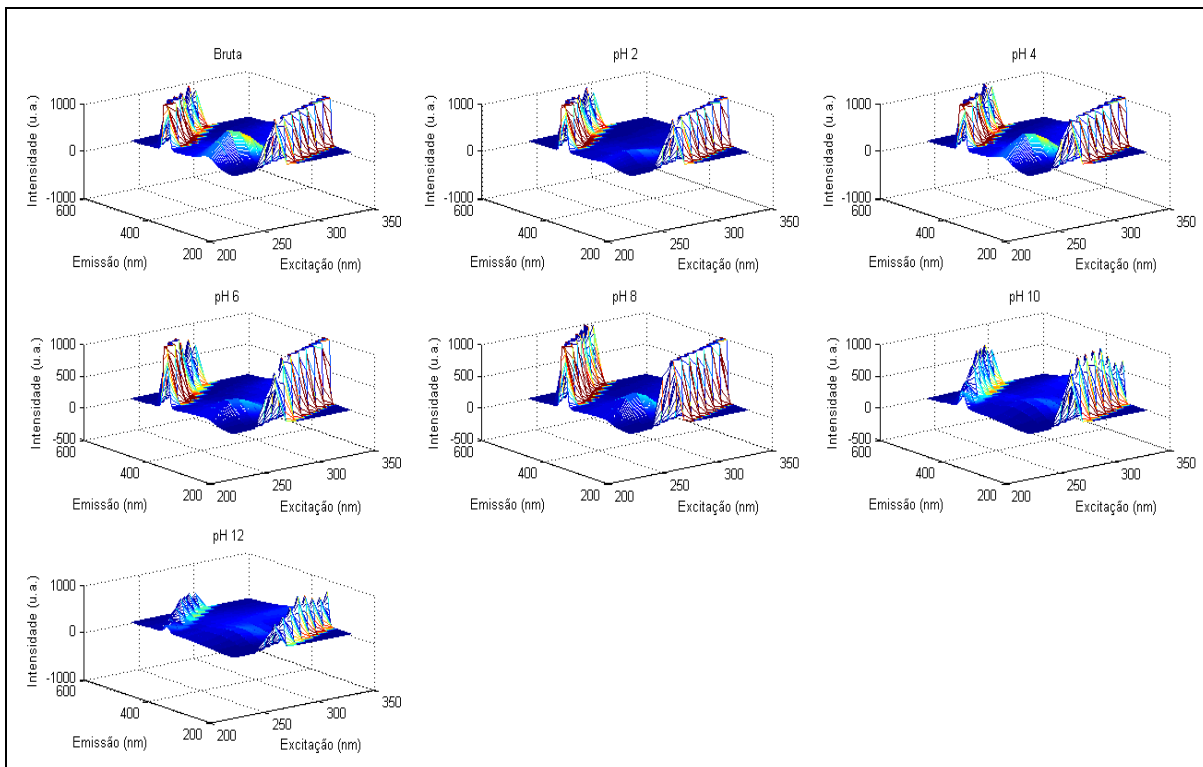
- ⁴⁴ UFJF. Espectrometria de Luminescência Molecular. Disponível em: <http://www.ufjf.br/nupis/files/2015/10/aula-9-fluoresc%C3%A7%C3%A3o-1.pdf>. Acesso em 05/04/2020.
- ⁴⁵ TREVISAN, M. G.; POPPI, R. J. Química Analítica de Processos. Química Nova, v. 29, n. 5, p. 1065-1071, 2006.
- ⁴⁶ SANTANA, F. B.; SOUZA, A. M.; ALMEIDA, M. R.; BREITKREITZ, M. C.; FILGUEIRAS, P. R.; SENA, M. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para classificação de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio combinado com análise discriminante por mínimos quadrados parciais: um tutorial, parte V. Química Nova, vol. 43, p. 371-381, 2020.
- ⁴⁷ SOUZA, M. O.; RAINHA, K. P.; CASTRO, E. V. R.; CARNEIRO, M. T. W. D.; FERREIRA, R. Q. Análise exploratória das concentrações dos metais NA, CA, MG, SR e FE em extrato aquoso de petróleo, determinados por ICP OES, após otimização empregando planejamento de experimentos. Química Nova, vol. 38, p. 980-986, 2015.
- ⁴⁸ RECH, A. M. Avaliação da Espectroscopia no Infravermelho Combinada a Análise Multivariada para Caracterização e Controle de Qualidade de Bebidas Saborizadas a Base de Soja. 2014. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Química Industrial) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
- ⁴⁹ CONSTANTINO, A. F.; JUNIOR, V. L.; SANTOS, R. B.; GRECO, S. J.; SILVA, R. C.; NETO, A. C.; BARBOSA, L. L.; CASTRO, E. V. R.; FREITAS, J. C. C. Análise do teor e da qualidade dos lipídeos presentes em sementes de oleaginosas por RMN de baixo campo. Química Nova, vol. 37, p. 10-17, 2014.
- ⁵⁰ PASQUINI, C. Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR), Módulo II, Métodos de Análise e Regressão Multivariada: Teoria e Prática. 2011. Disponível em: http://www.gia.iqm.unicamp.br/artigospdfematerialcursos/Material%20didatico/Curso_QP812_2011_Parte%20II.pdf. Acesso em: 18/04/2020.

- ⁵¹ GORSKI, Ł.; SORDÓN, W.; CIEPIELA, F.; KUBIAK, W. W.; JAKUBOWSKA, M. Voltammetric classification of ciders with PLS-DA. *Talanta*, 146, p. 231-235, 2016.
- ⁵² YANG, W.-H.; DAÍ, D.-Q. Two-Dimensional Maximum Margin Feature Extraction for Face Recognition. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics, Part B: Cybernetics*, vol 39, nº 4, p. 1002-1012, 2009.
- ⁵³ UFPE. Centro de Informática. Disponível em: <https://www.cin.ufpe.br/~if699/NotasdeAula/14.LDA.pdf>. Acesso em: 18/09/2020.
- ⁵⁴ HAIR, J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L. Análise multivariada de dados. Editora Bookman, 6ª ed., Porto Alegre, 682 p., 2009.
- ⁵⁵ SILVA, W. R.; PAULA, L. C. M.; SOARES, A. S.; COELHO, C. J. Algoritmo do morcego para seleção de variáveis em calibração multivariada. *Revista Arithmós, Escola de Ciências Exatas e da Computação da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia*, v.1, p. 13-17, 2019.
- ⁵⁶ DORIGO, M.; STÜTZLE, T. *Ant Colony Optimization*. Bradford Book, 1ª ed., 319 p., 2004.
- ⁵⁷ SANTOS, R. L.; LEAL, J. E. Solução de um problema de roteirização com janelas de tempo através de um algoritmo de múltiplas colônias de formigas. *Transportes (Rio de Janeiro)*, v. XV, n. 2, p. 5-16, 2007.
- ⁵⁸ FERREIRA, R. P.; SASSI, R. J.; COSTA, F. M.; FERREIRA, A.; SOUZA, A. S. Aplicando o algoritmo de otimização por colônia de formigas e os mapas auto-organizáveis de Kohonen na roteirização e programação de veículos. Universidade Nove de Julho, São Paulo. Disponível em: <https://www.marinha.mil.br/spolm/sites/www.marinha.mil.br.spolm/files/102807.pdf>. Acesso em: 18/09/2020.
- ⁵⁹ DORIGO, M.; GAMBARDELLA, L. M. Ant Colony System: A Cooperative Learning Approach to the Traveling Salesman Problem. *IEEE Transactions on Evolutionary Computation*, v. 1, n. 1, p. 53-66, 1997.

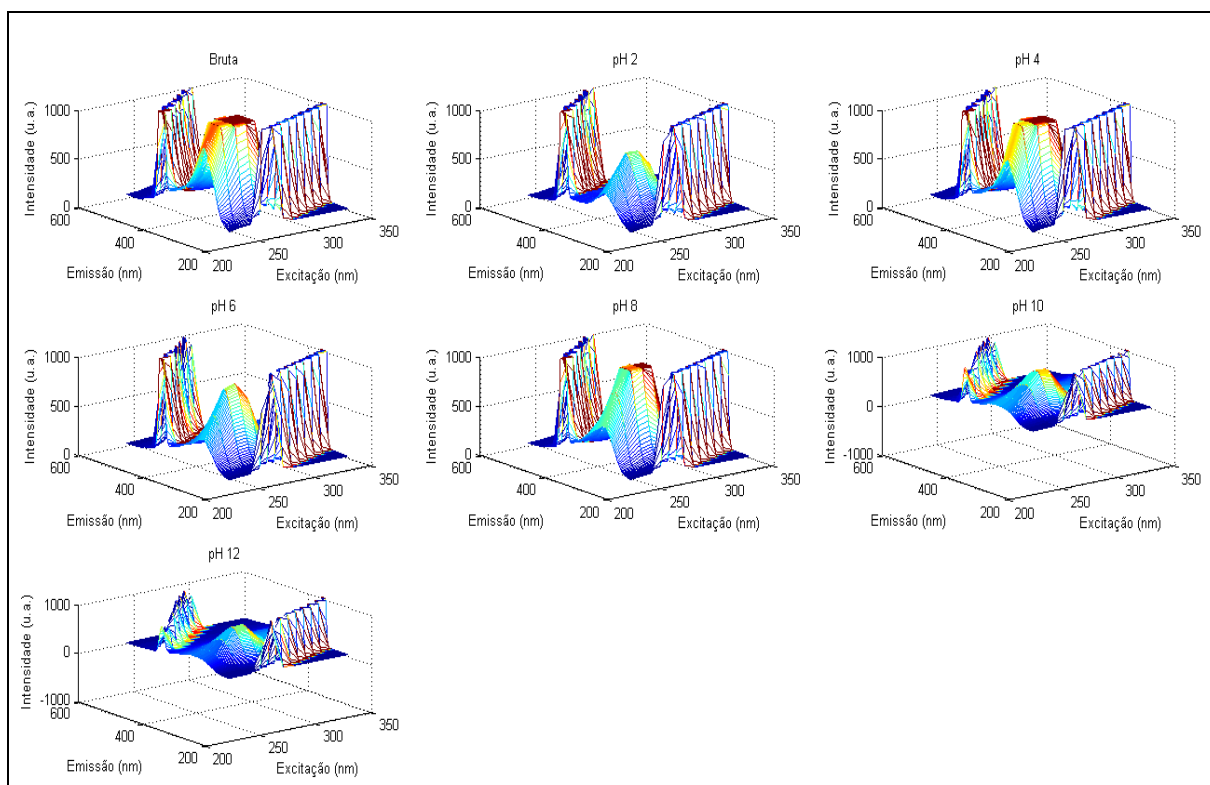
- ⁶⁰ UFSC. Departamento de Informática e Estatística. Aula Algoritmo Genético. Disponível em: <https://www.inf.ufsc.br/~alexandre.goncalves.silva/courses/14s2/ine5633/slides/aulaAG.pdf>. Acesso em: 18/09/2020.
- ⁶¹ CARVALHO, A. P. L. F. Algoritmos Genéticos. Departamento de Ciência da Computação. USP. Disponível em: <https://sites.icmc.usp.br/andre/research/genetic/>. Acesso em: 18/09/2020.
- ⁶² OBITKO, M. Introdução aos Algoritmos Genéticos. Disponível em: <https://www.obitko.com/tutorials/genetic-algorithms/portuguese/about.php>. Acesso em: 18/09/2020.
- ⁶³ LEARDI, R. Genetic algorithms in chemometrics and chemistry: a review. *Journal of Chemometrics*, 15, p. 559-569, 2001.
- ⁶⁴ AZOCLEANTECH. Equipment. 827 pH Lab for Routine Laboratory Work from Metrohm. Disponível em: <https://www.azocleantech.com/equipment-details.aspx?EquipID=114>. Acesso em: 23/09/2020.
- ⁶⁵ ALT. American Laboratory Trading. Varian Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer. Disponível em: https://americanlaboratorytrading.com/lab-equipment-products/varian-cary-eclipse-fluorescence-spectrophotometer_9111. Acesso em: 07/04/2020.
- ⁶⁶ MARTIN C.; BRUNEEL J. L.; CASTET, F.; FRITSCH A.; TEISSEDE P. L.; JOURDES M.; GUILLAUME F. Spectroscopic and theoretical investigations of phenolic acids in white wines. *Food Chemistry*, 221, p. 568-575, 2017.
- ⁶⁷ ŽIAK, L'; SÁDECKÁ, J.; MÁJEK P.; HROBOŇOVÁ, K. Simultaneous determination of phenolic acids and scopoletin in brandies using synchronous fluorescence spectrometry coupled with partial least squares. *Food Anal. Method*, 7, p.563-570, 2014.
- ⁶⁸ SÁDECKÁ, J.; JAKUBÍKOVÁ, M. Varietal classification of white wines by fluorescence spectroscopy. *J. Food. Sci. Technol.*, 57, p.2545-2553, 2020.

ANEXOS

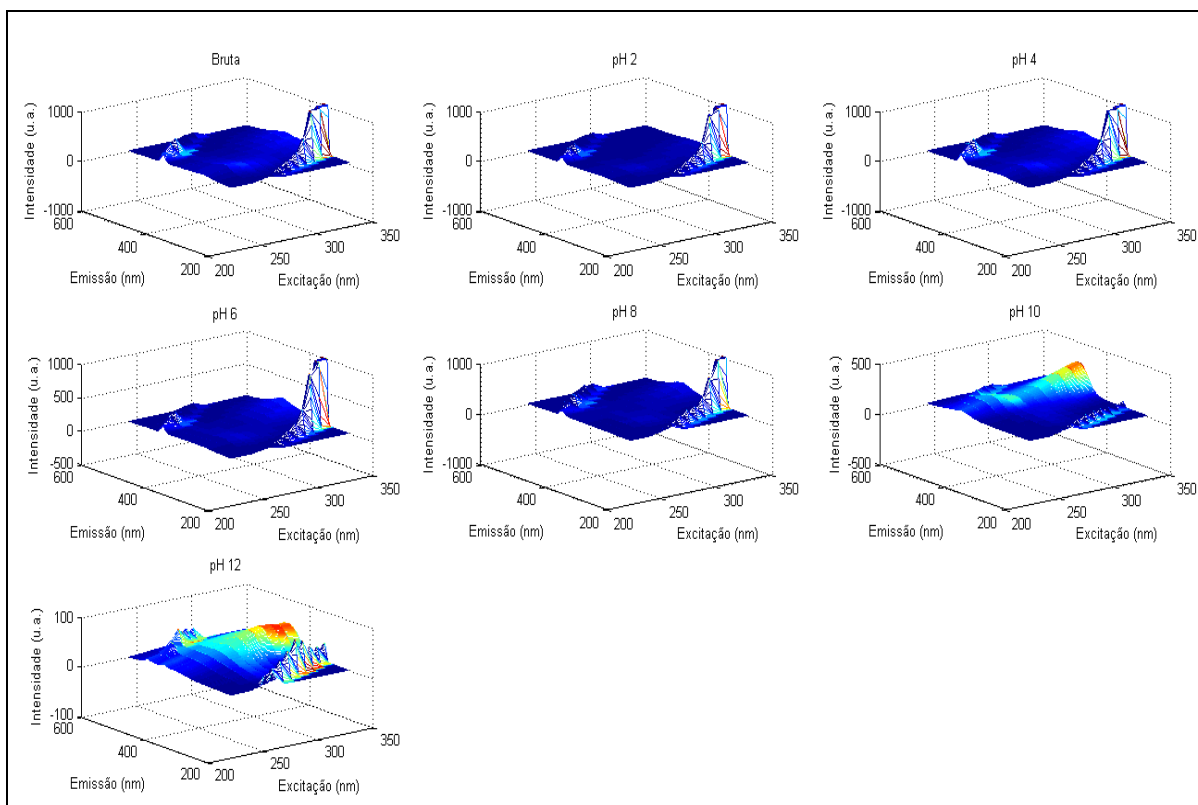
SU01 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade BRS Cora pelo método de produção convencional.



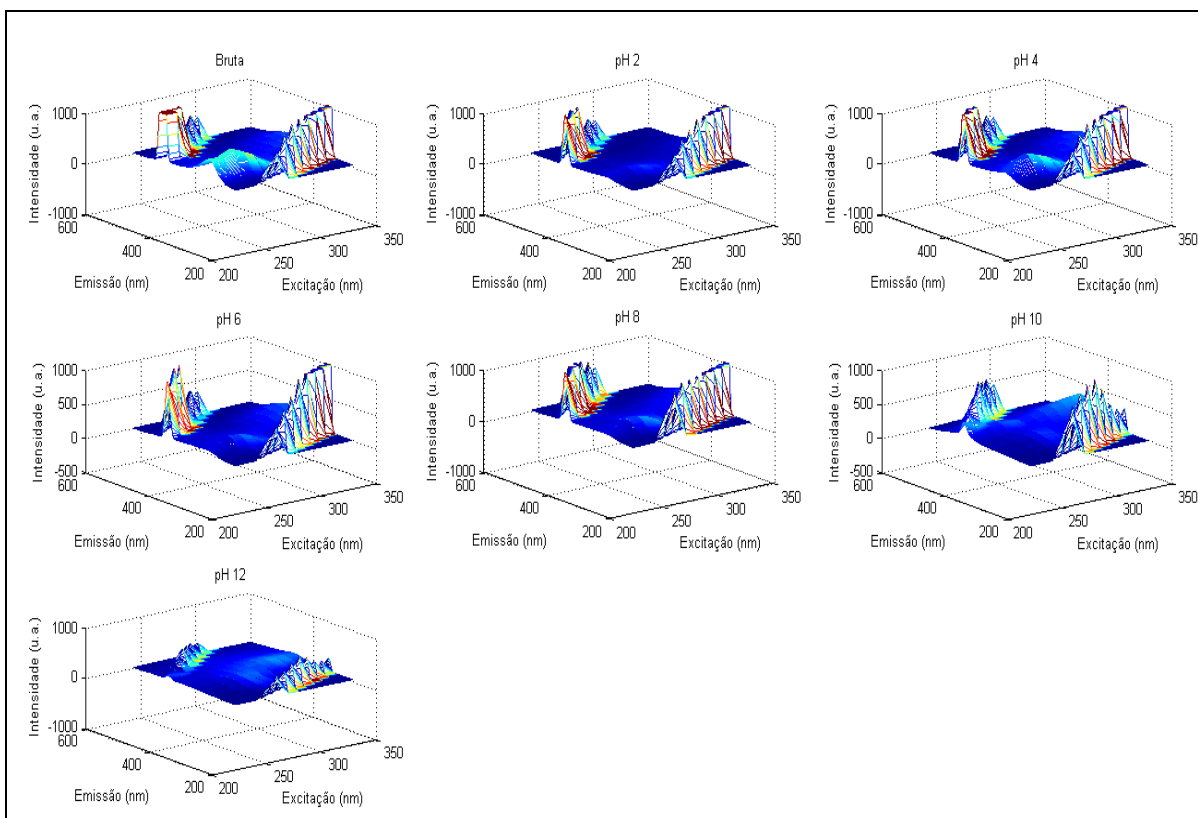
SU02 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Isabel pelo método de produção convencional.



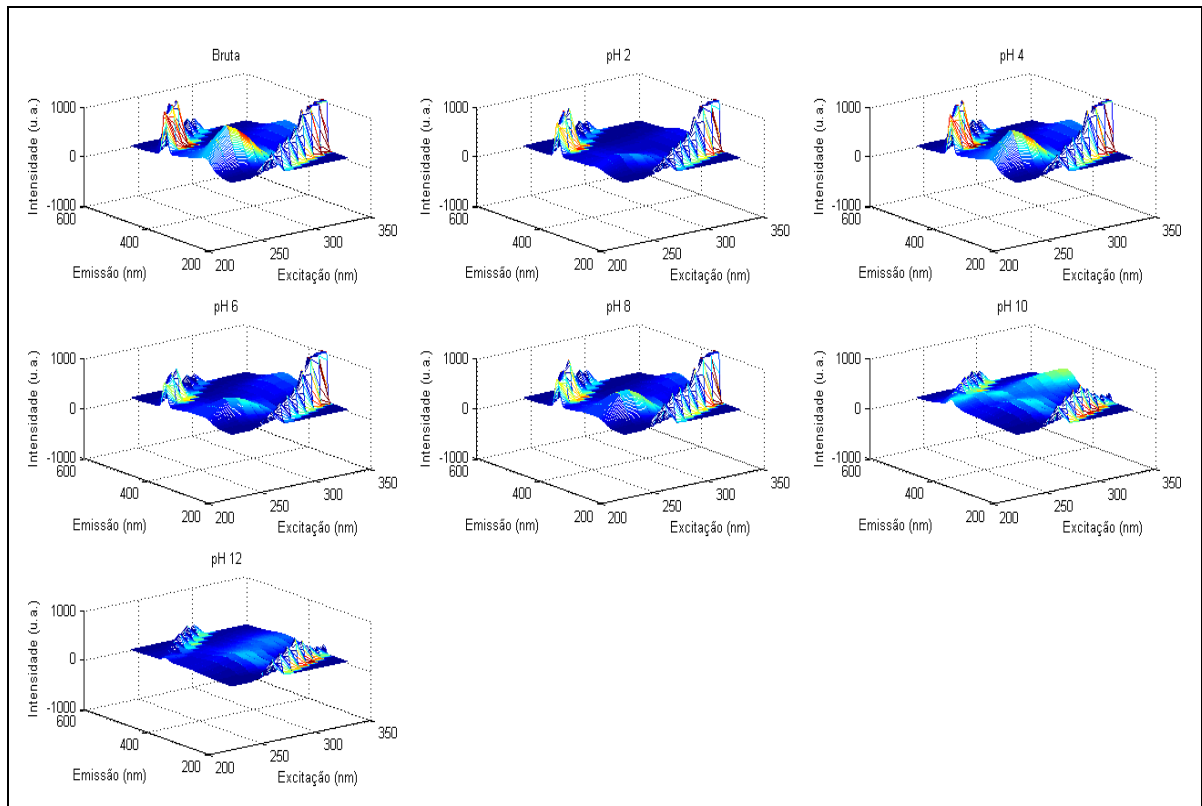
SU03 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Violeta pelo método de produção convencional.



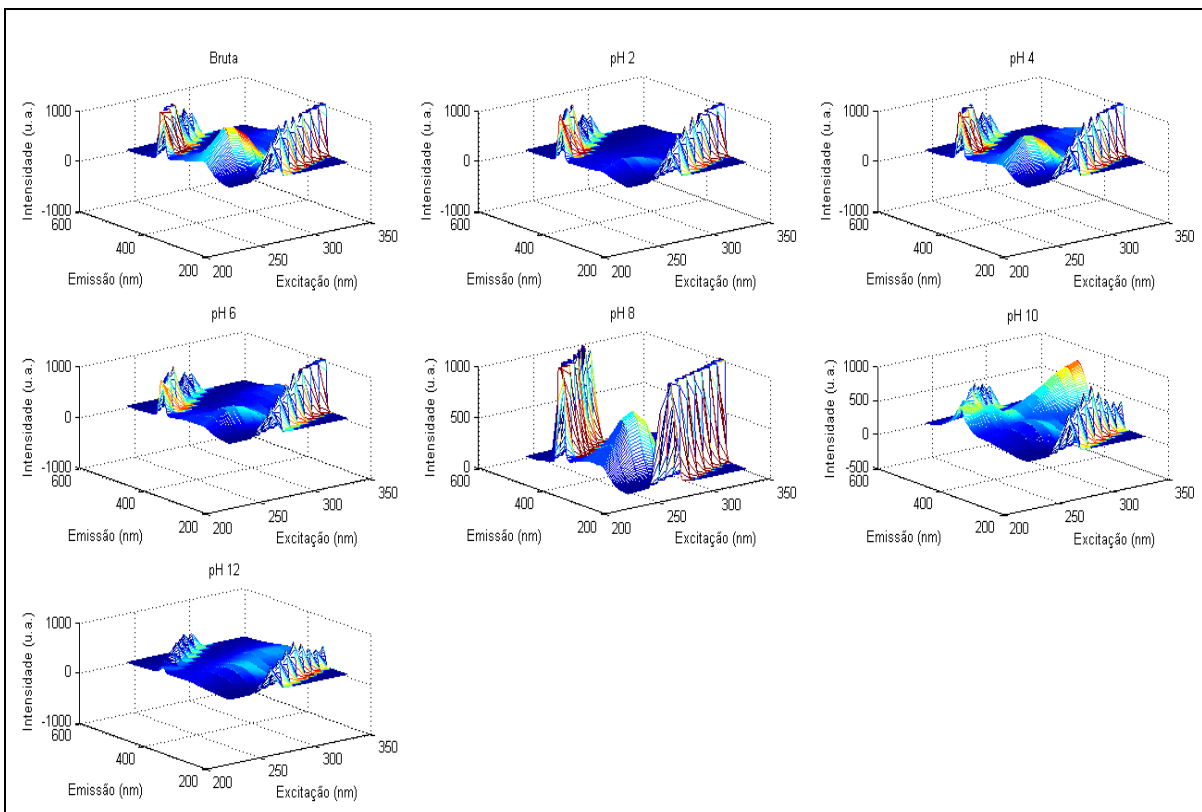
SU04 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Magna pelo método de produção convencional.



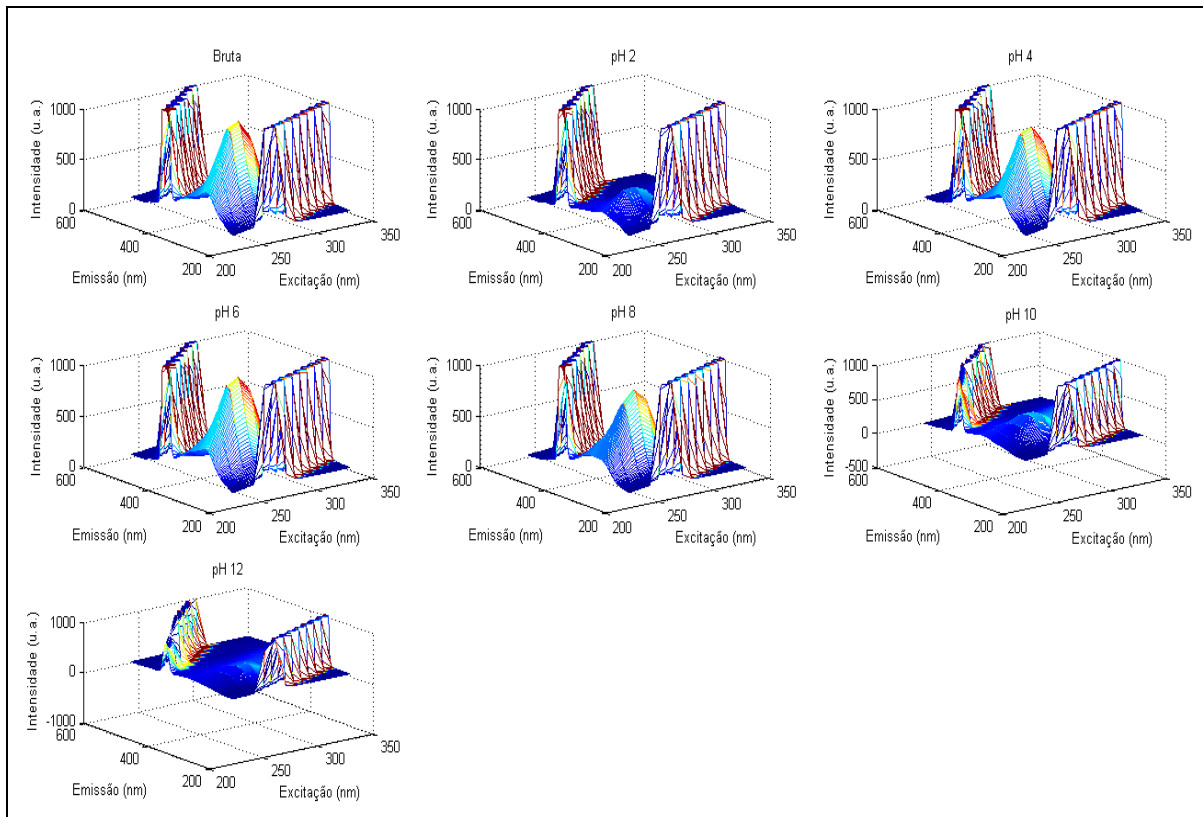
SU05 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Bordô pelo método de produção convencional.



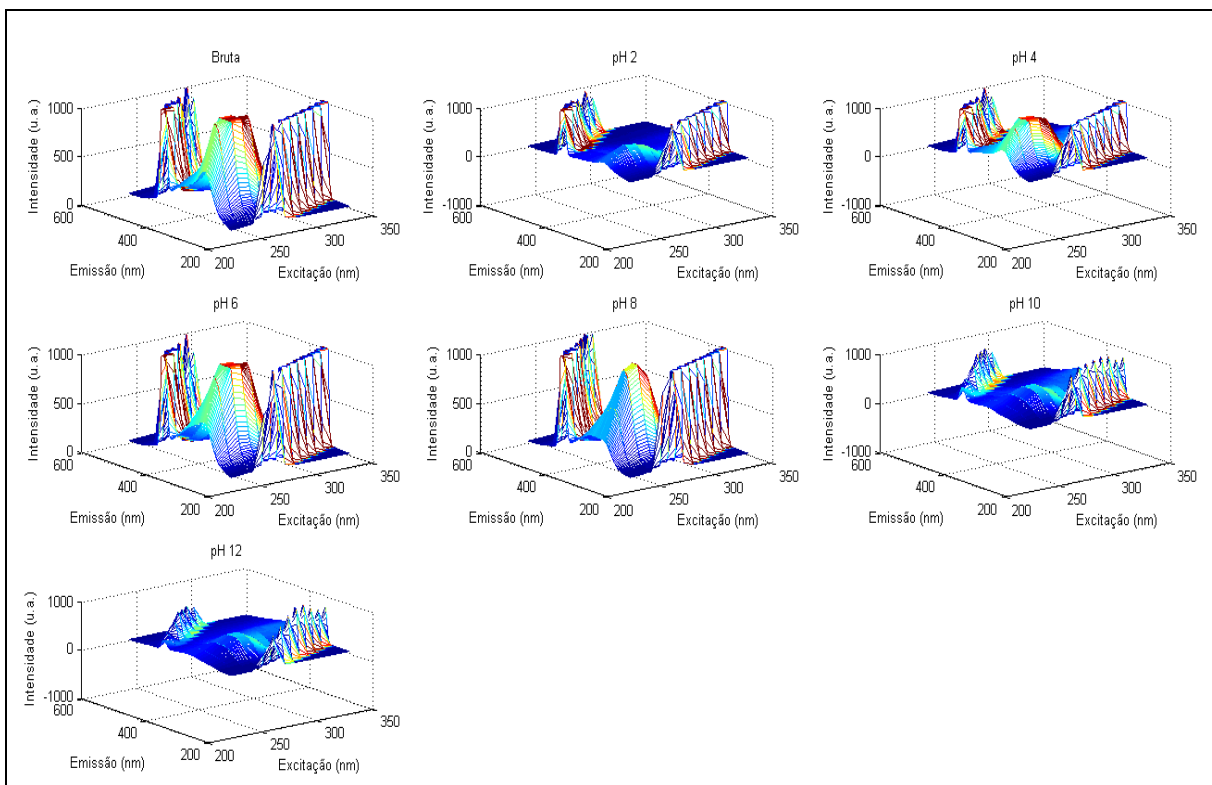
SU06 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Bordô pelo método de produção convencional.



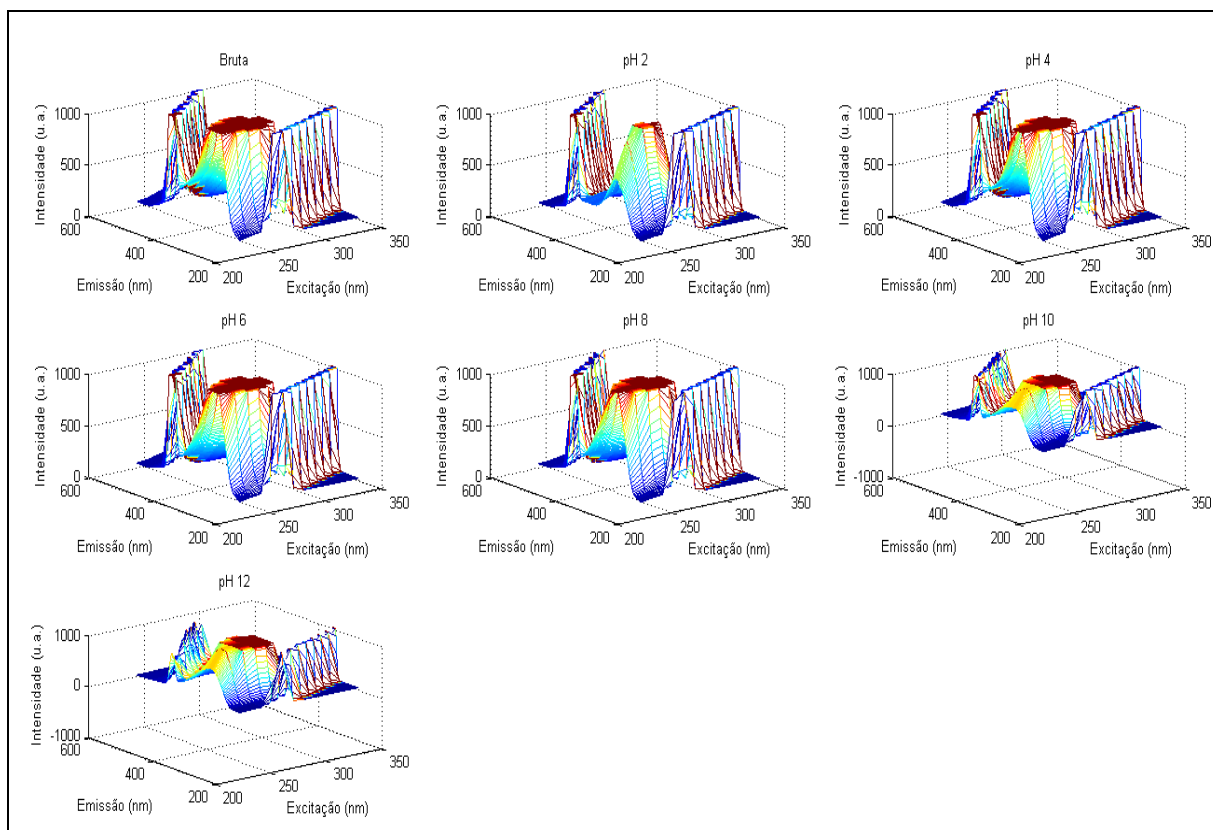
SU07 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Concord pelo método de produção convencional.



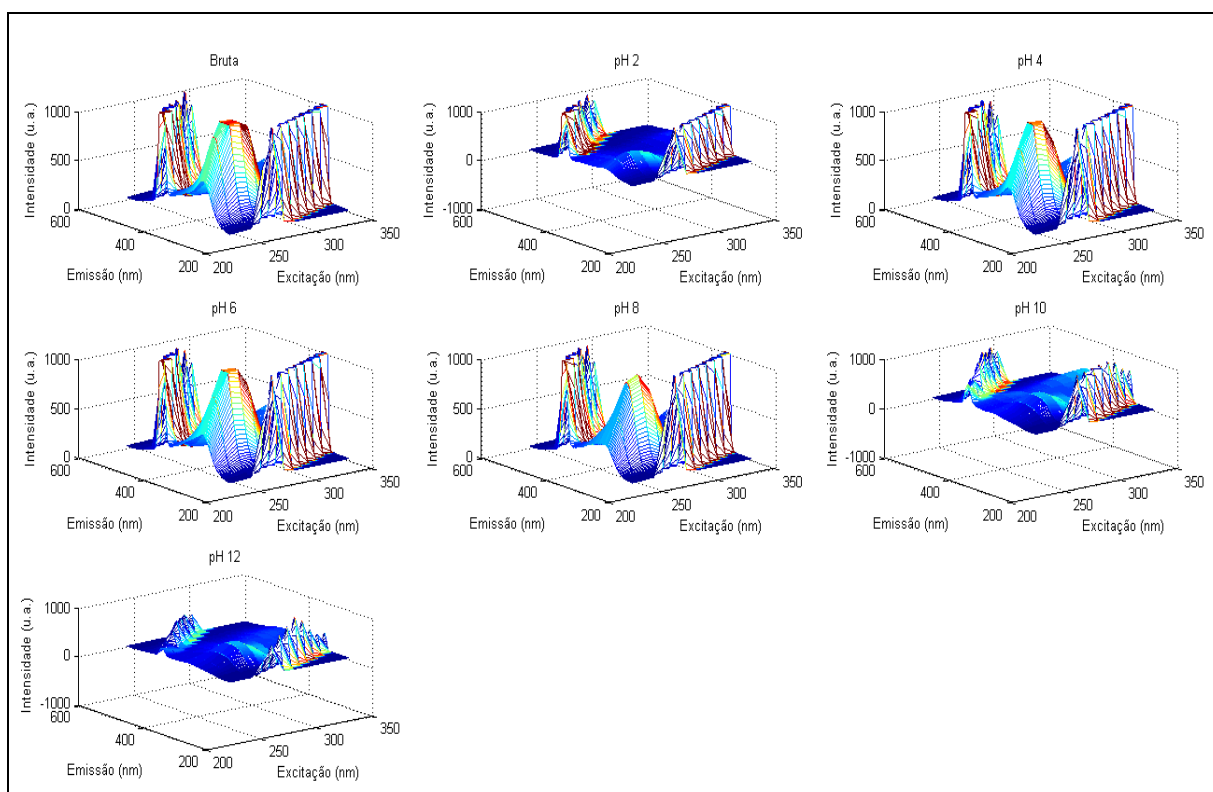
SU08 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Rúbea pelo método de produção convencional.



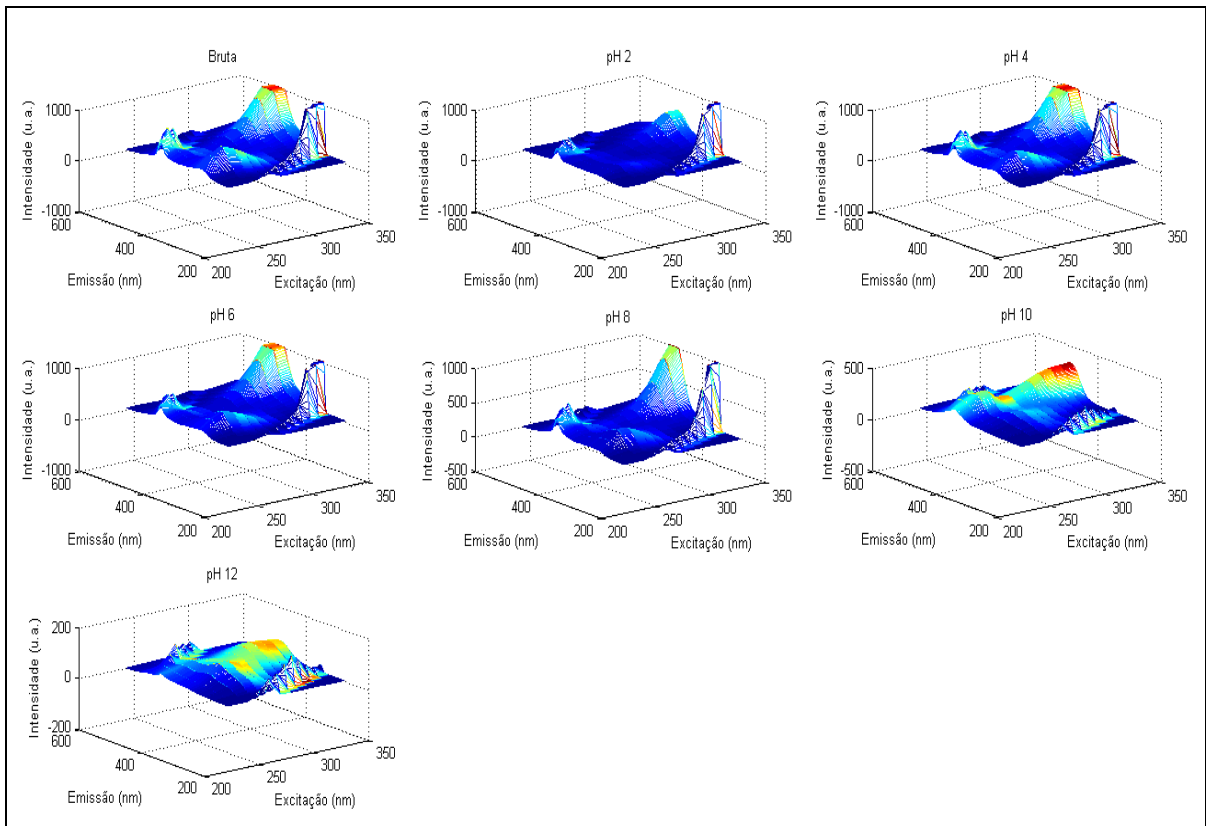
SU09 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Isabel Precoce pelo método de produção convencional.



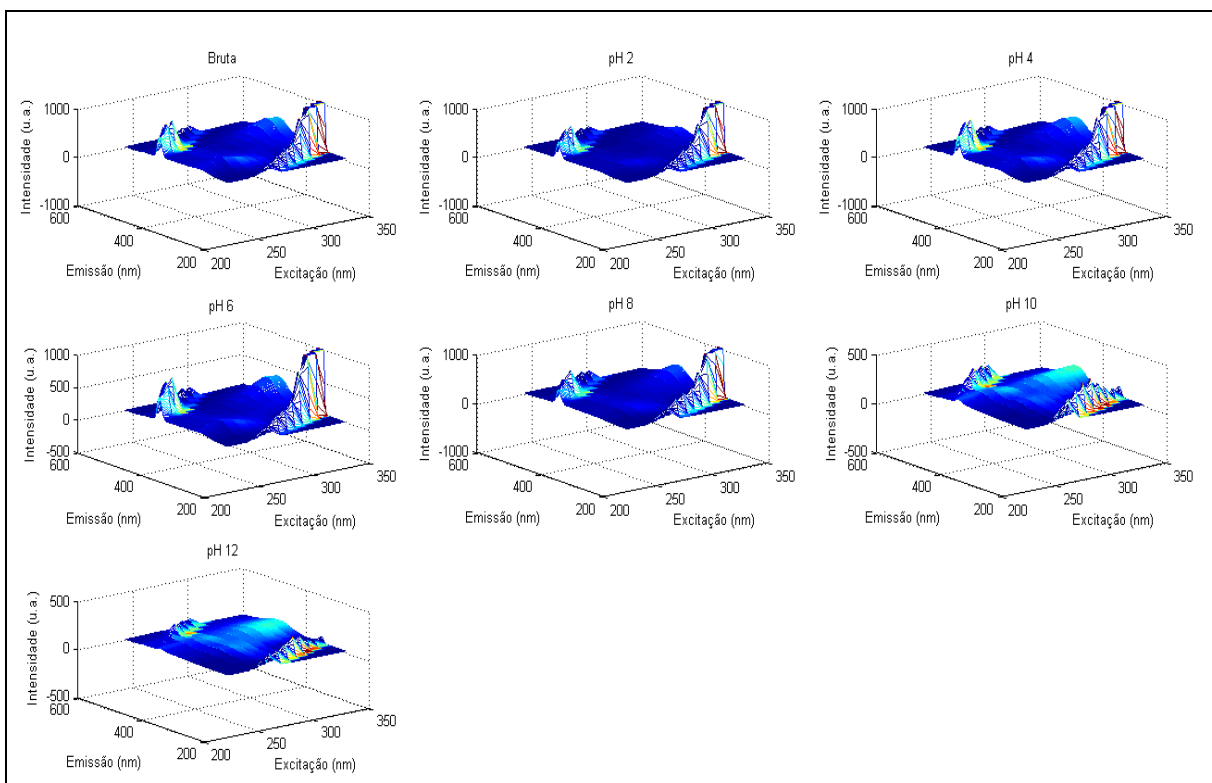
SU10 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Carmem pelo método de produção convencional.



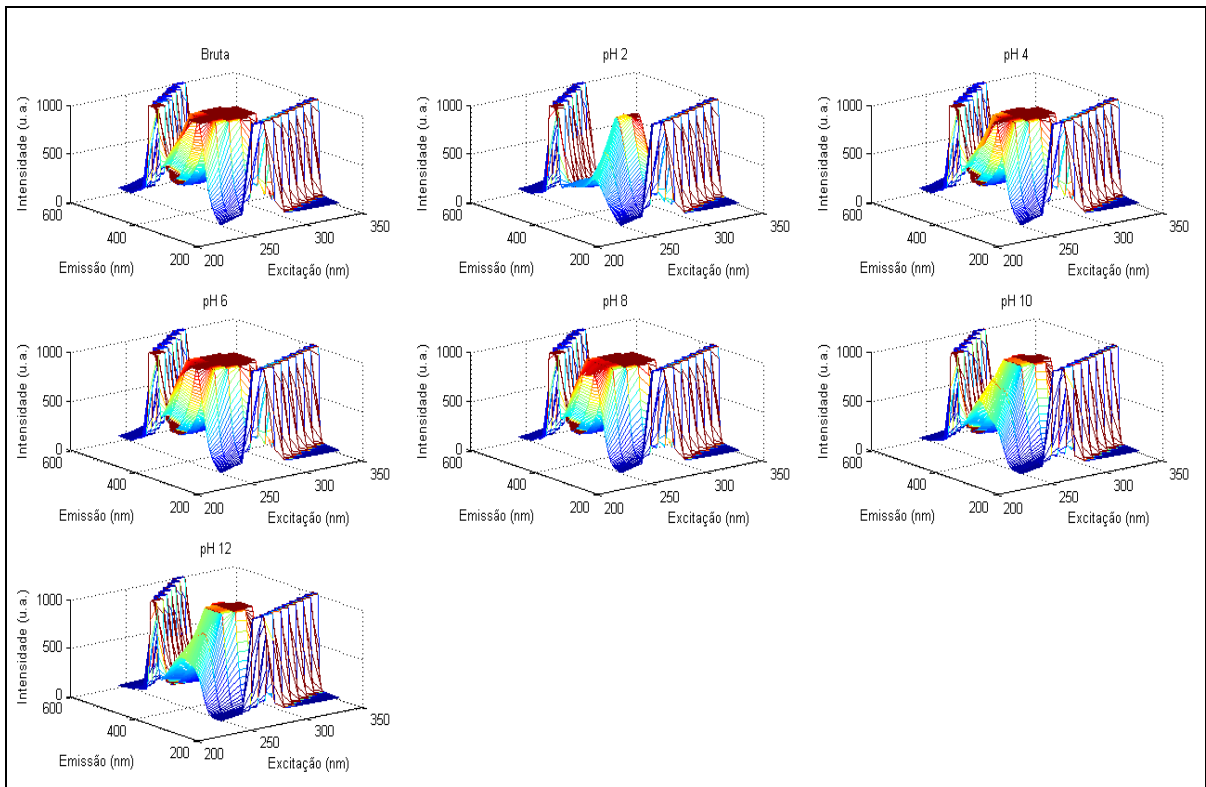
SU11 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Bordô pelo método da produção convencional.



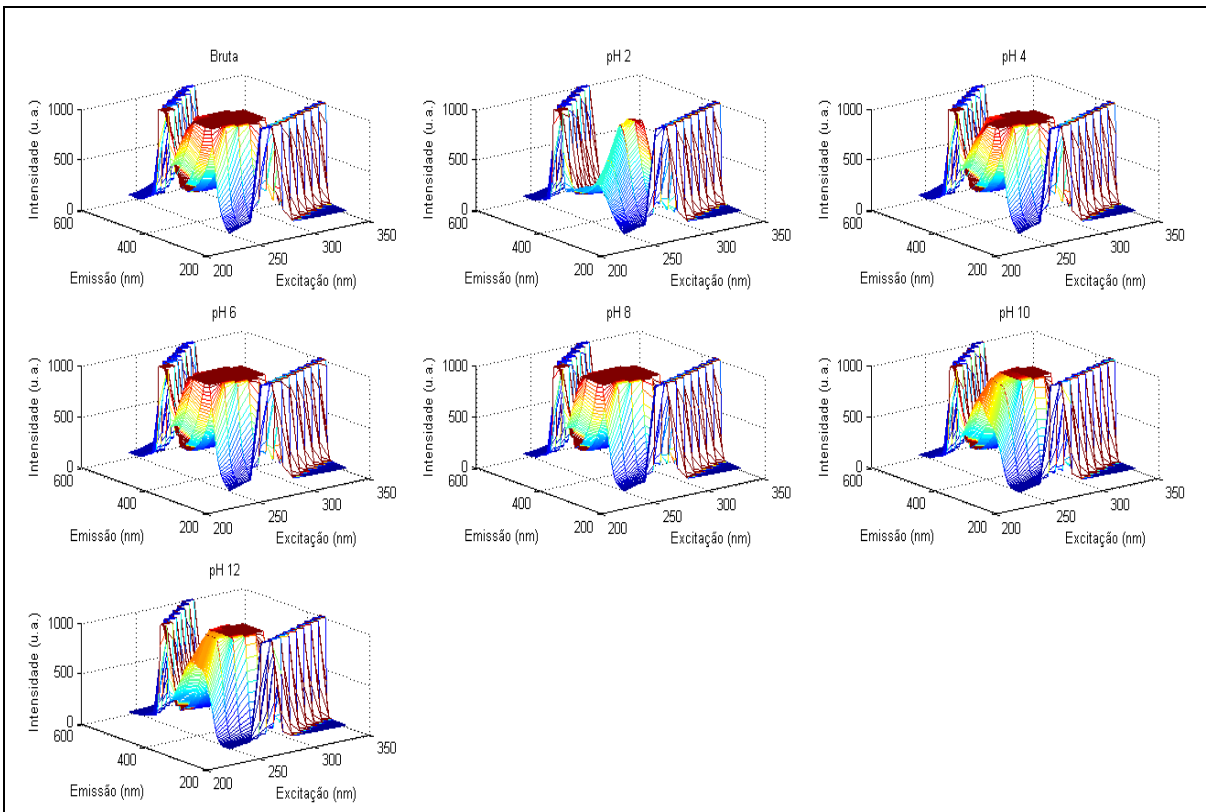
SU12 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Magna pelo método de produção convencional.



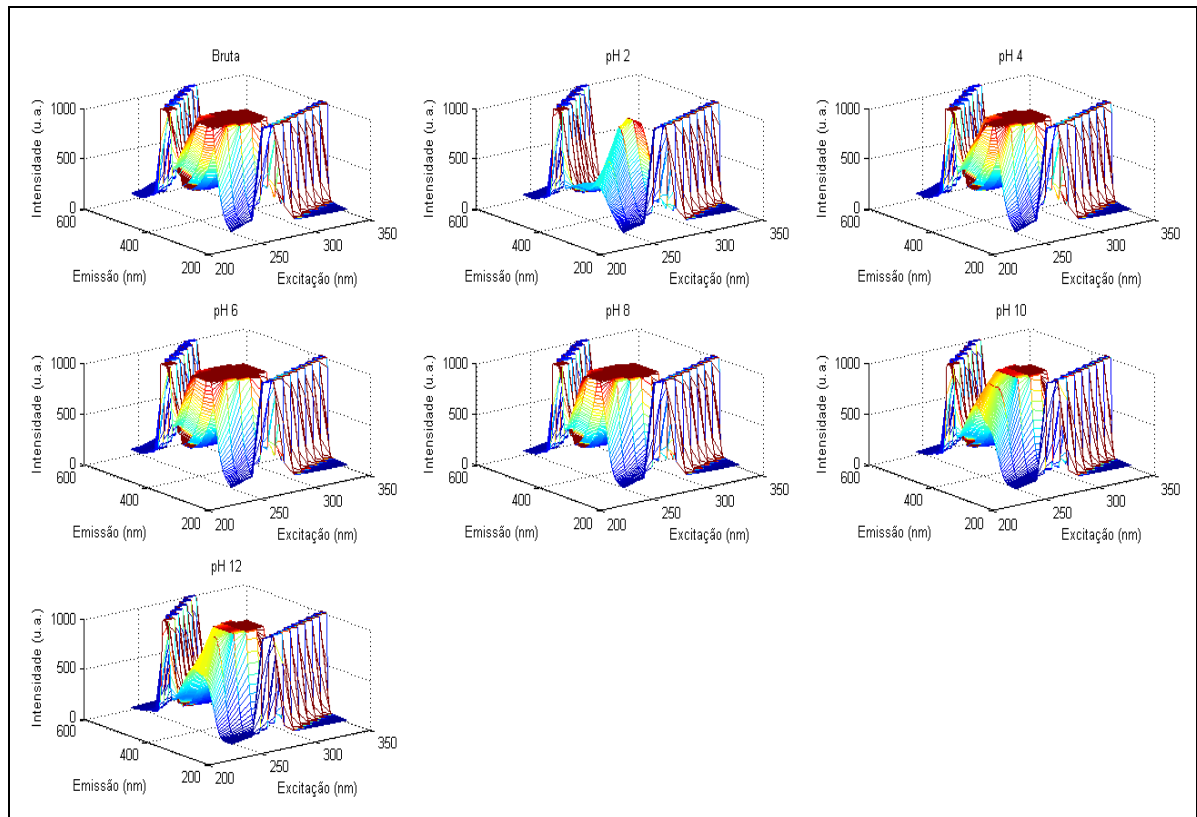
SU13 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Niágara pelo método de produção convencional.



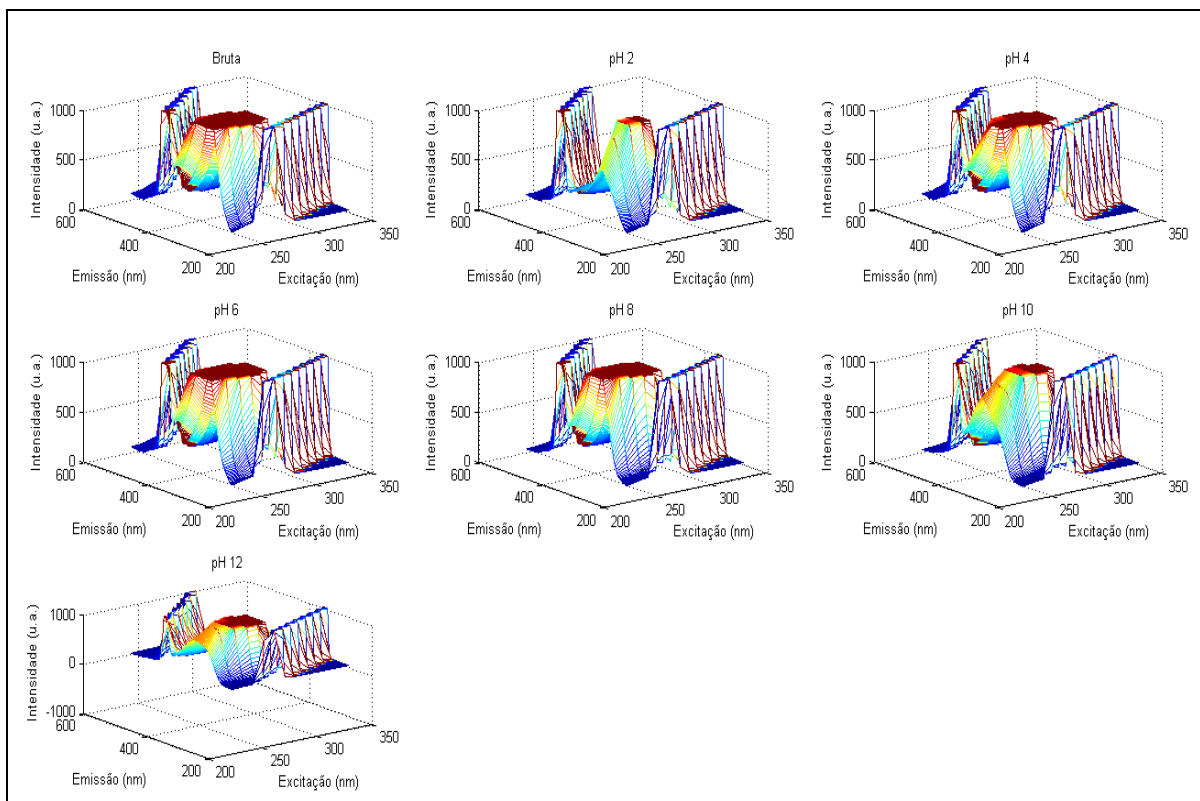
SU14 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Niágara pelo método de produção convencional.



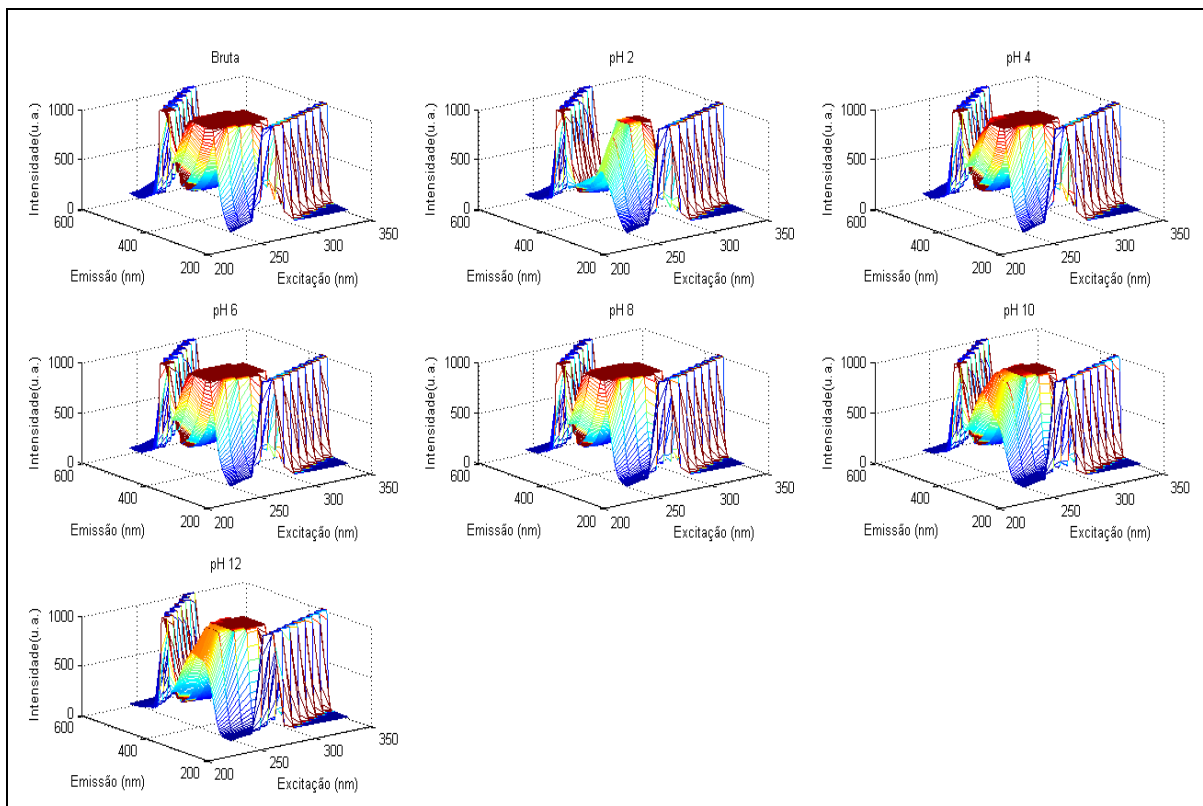
SU15 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Niágara pelo método de produção convencional.



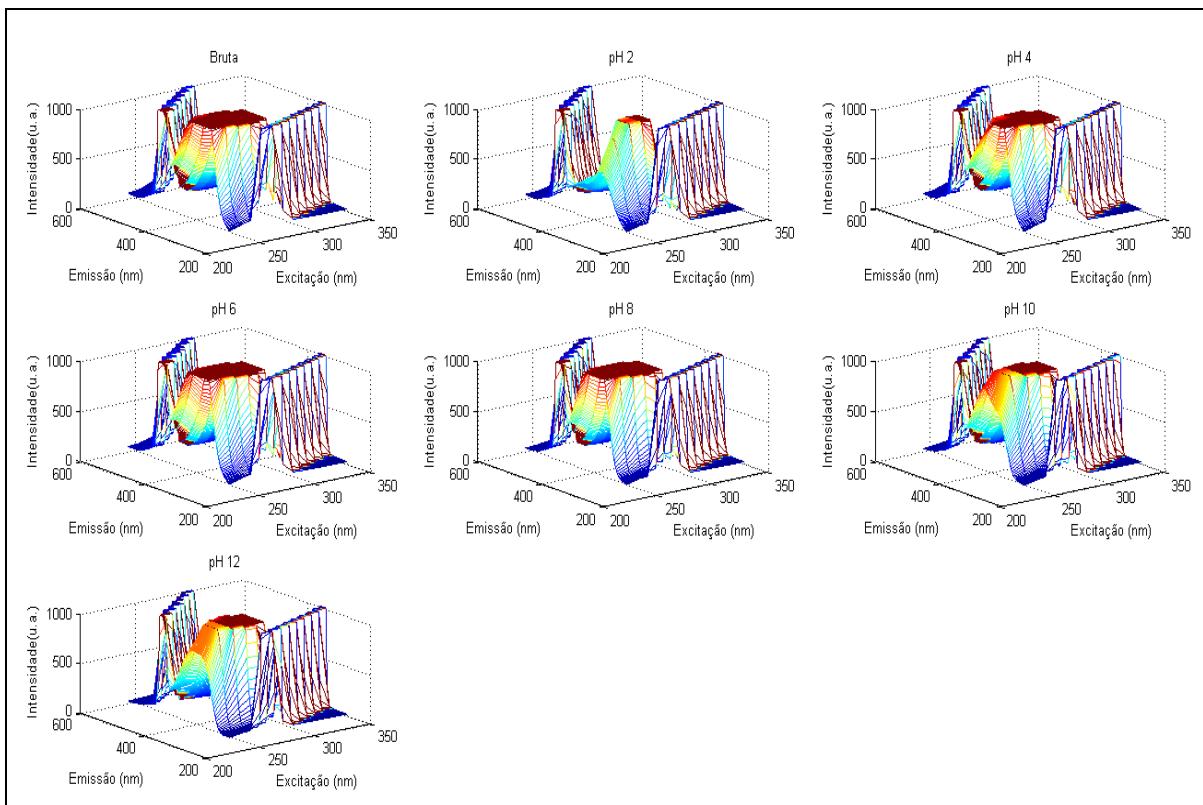
SU16 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Niágara pelo método de produção convencional.



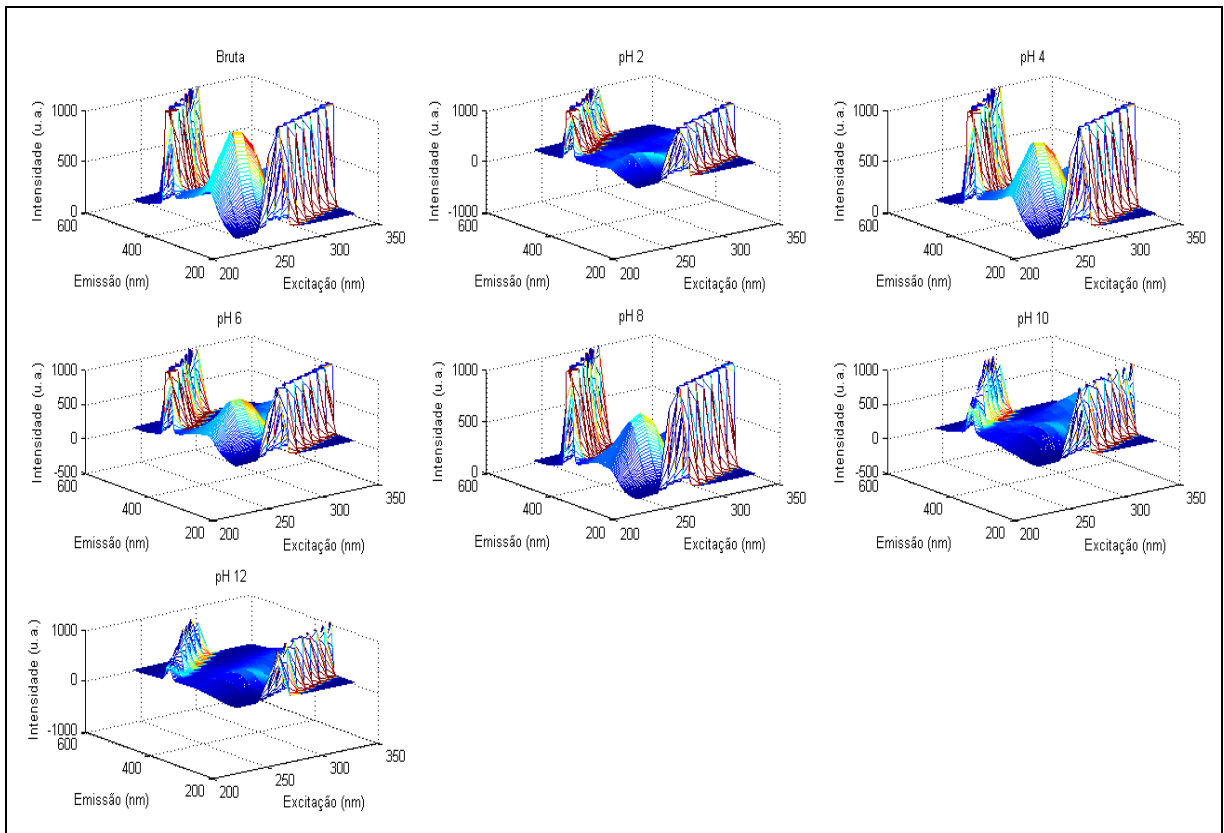
SU17 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Niágara pelo método de produção convencional.



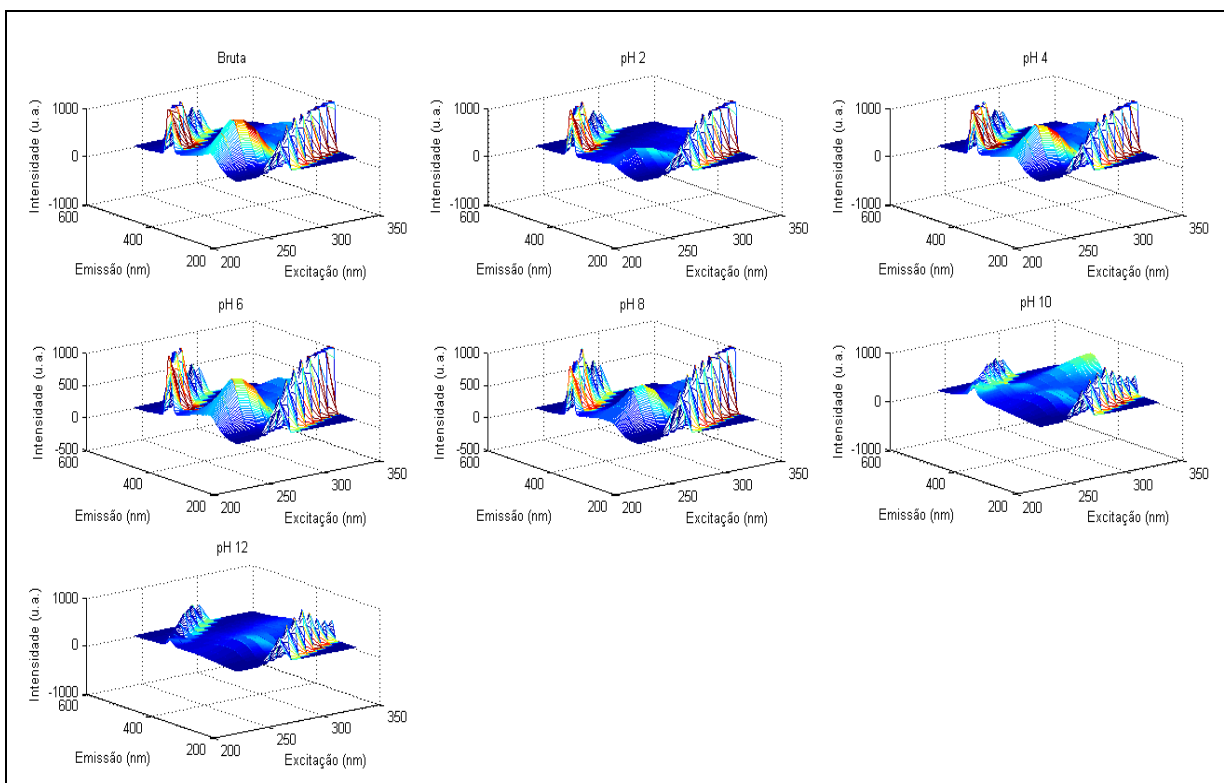
SU18 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Niágara pelo método de produção convencional.



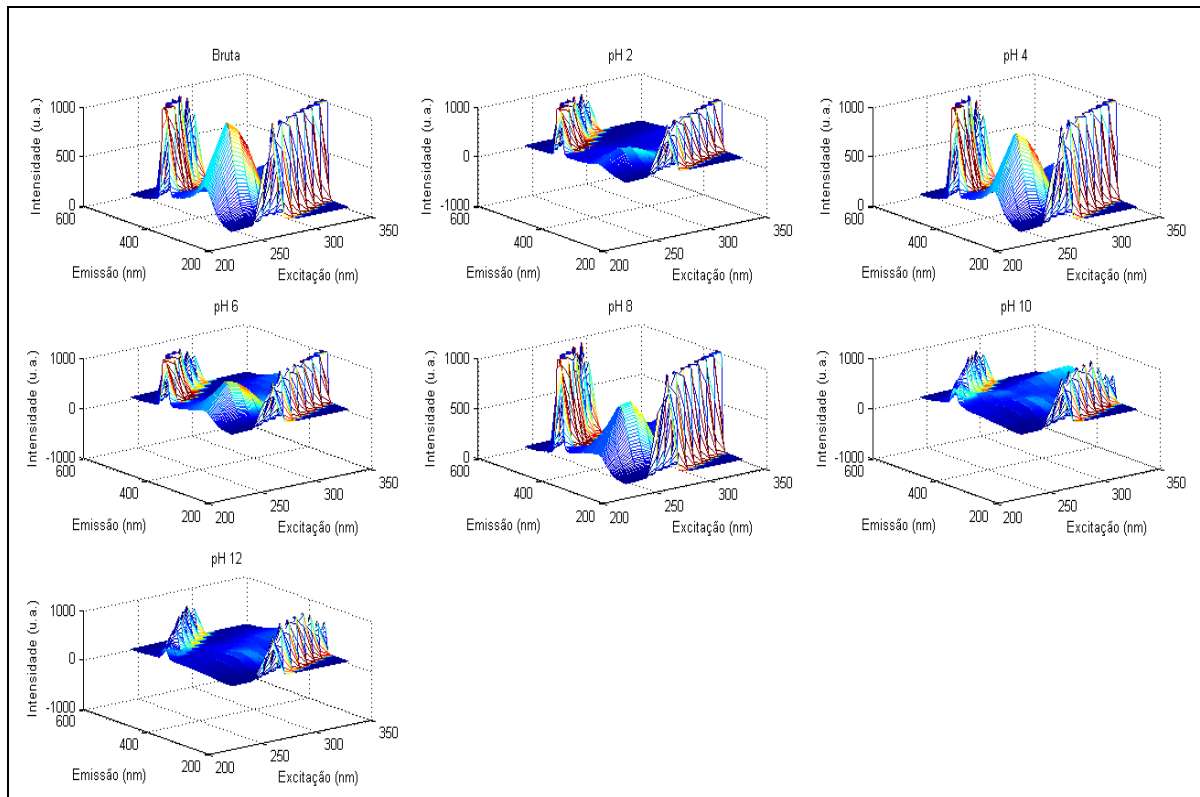
SU19 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Bordô pelo método de produção orgânico.



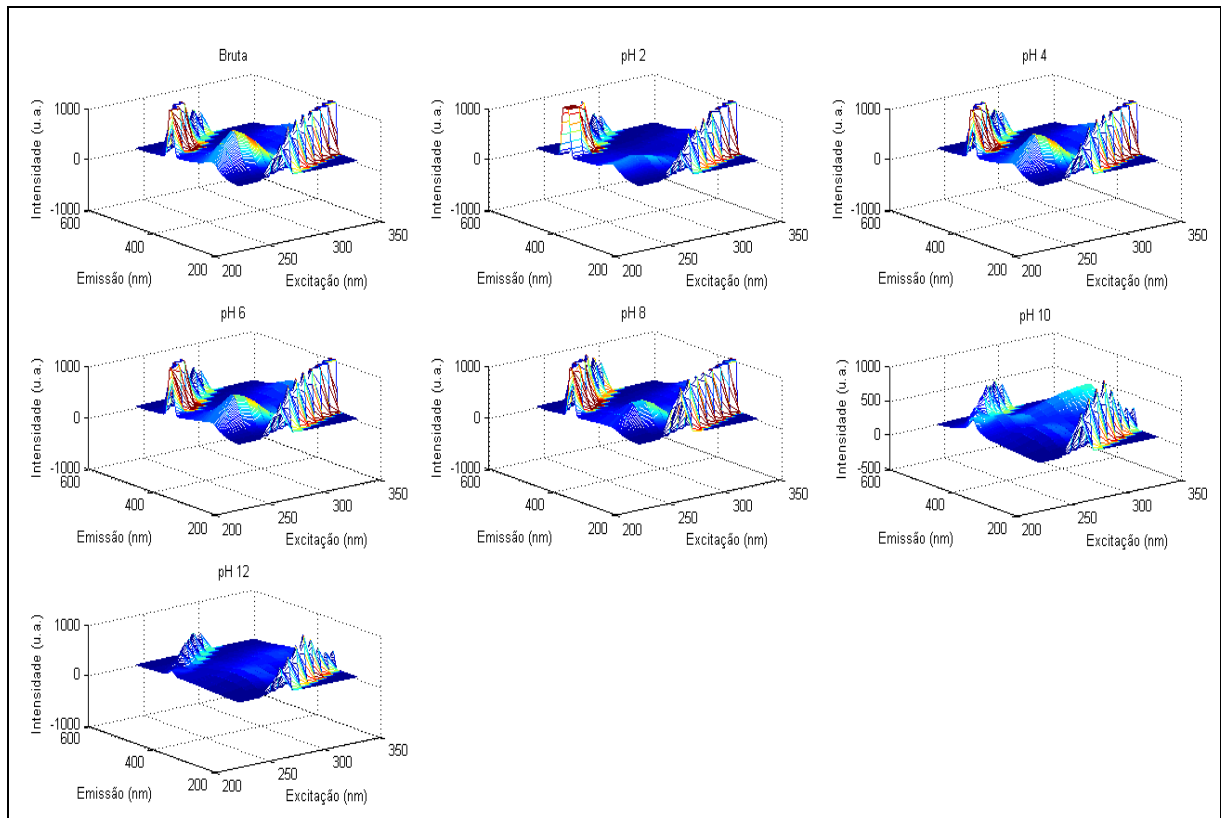
SU20 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Bordô pelo método de produção orgânico.



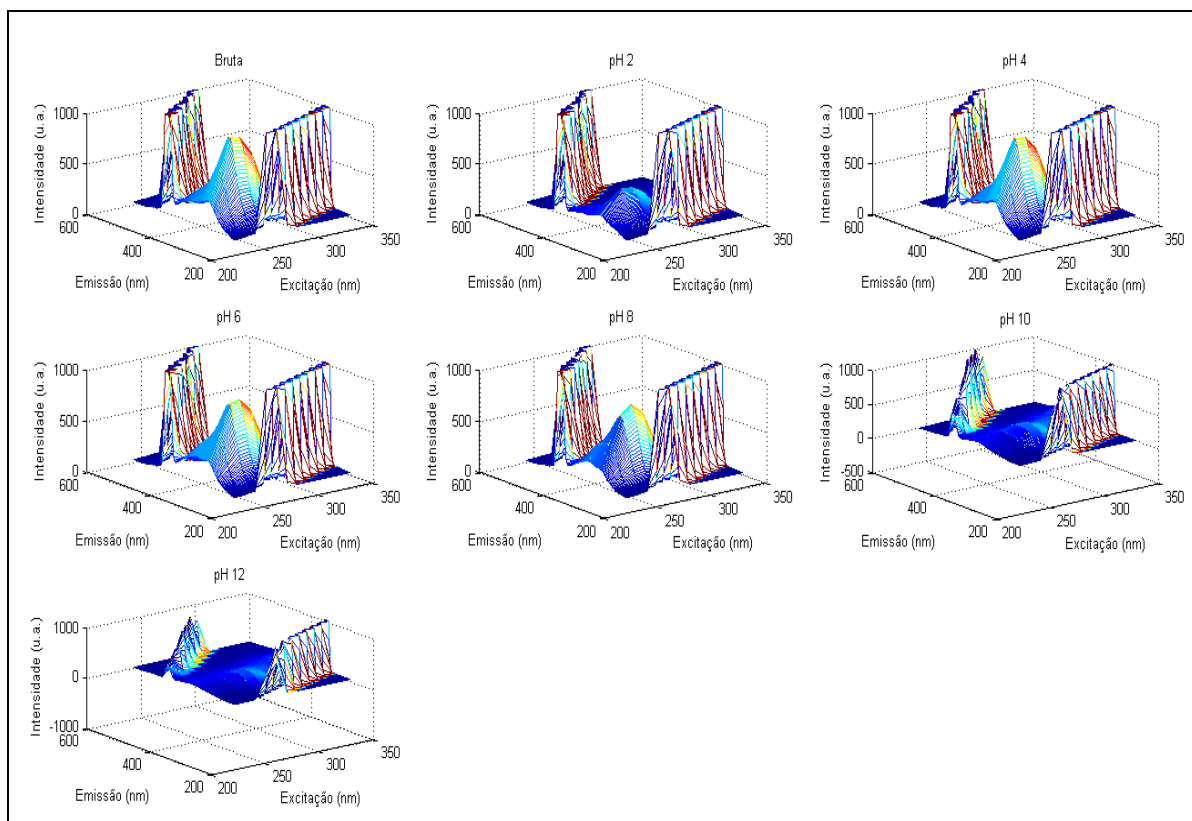
SU21 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Bordô pelo método de produção orgânico.



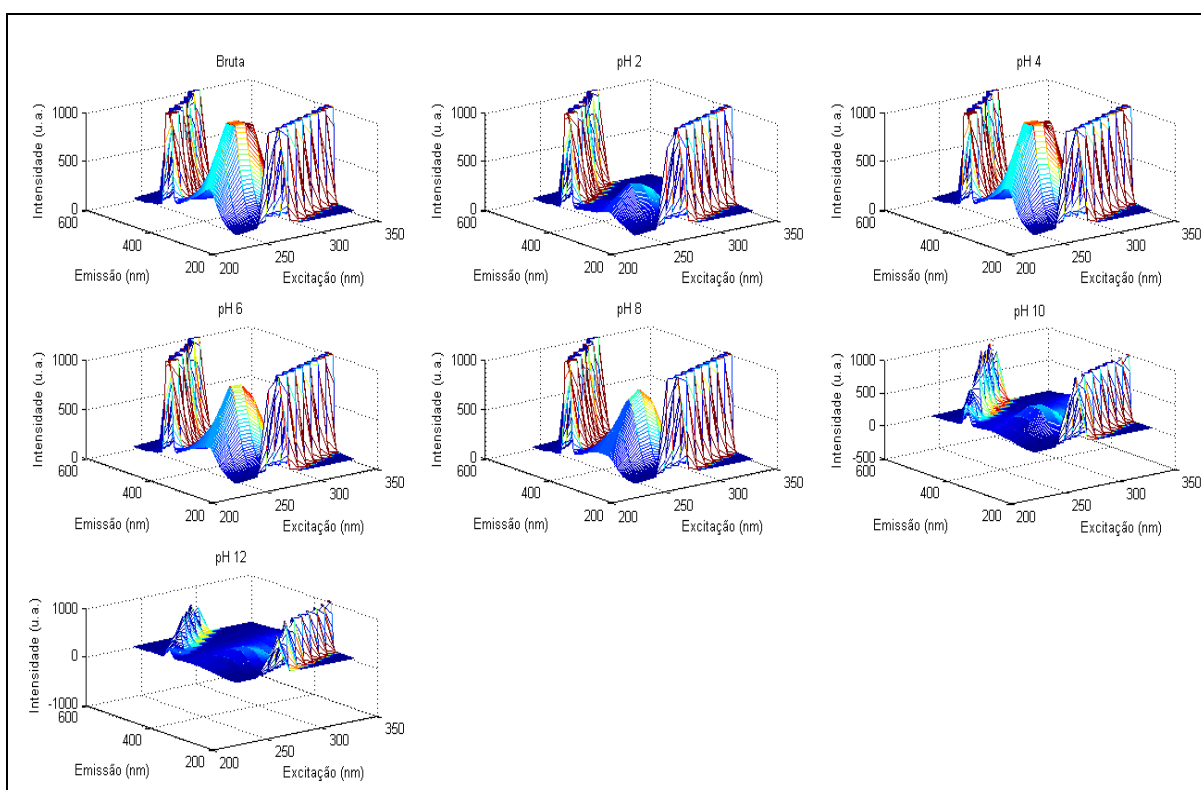
SU22 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Bordô pelo método de produção orgânico.



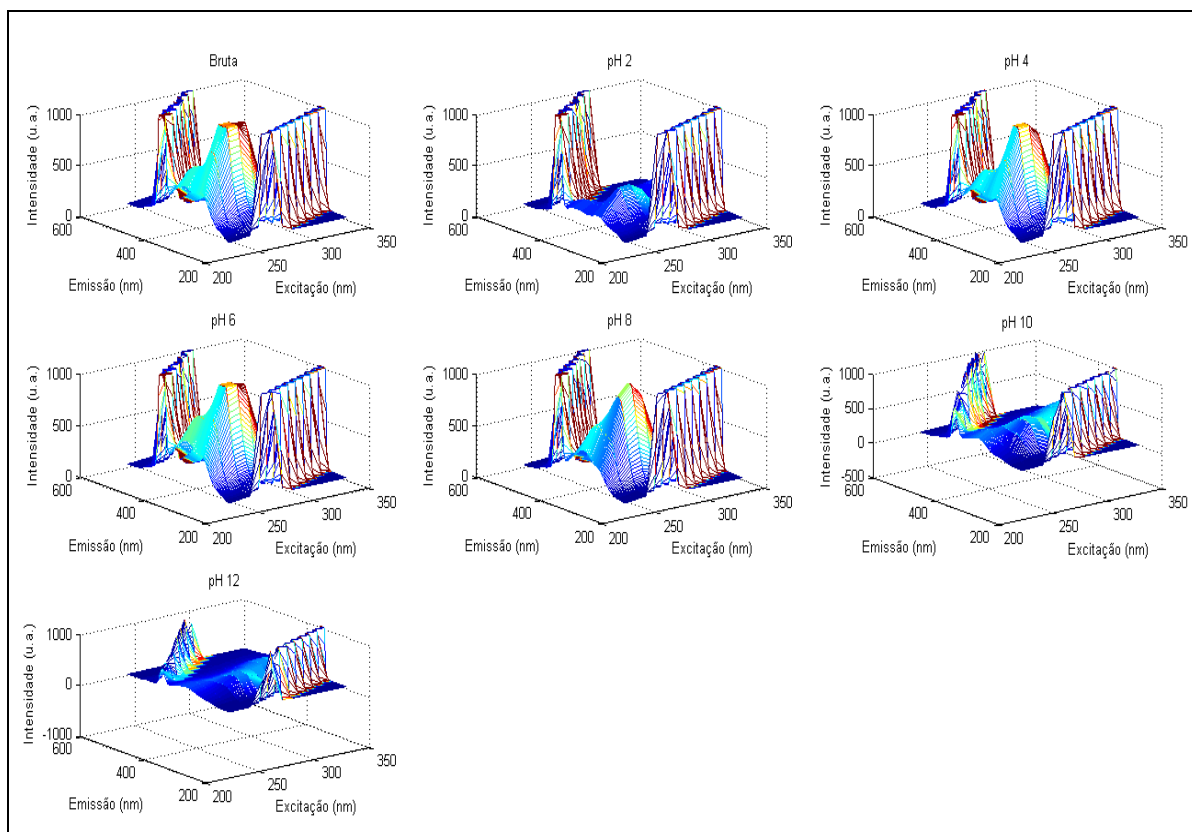
SU23 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Concord pelo método de produção orgânico.



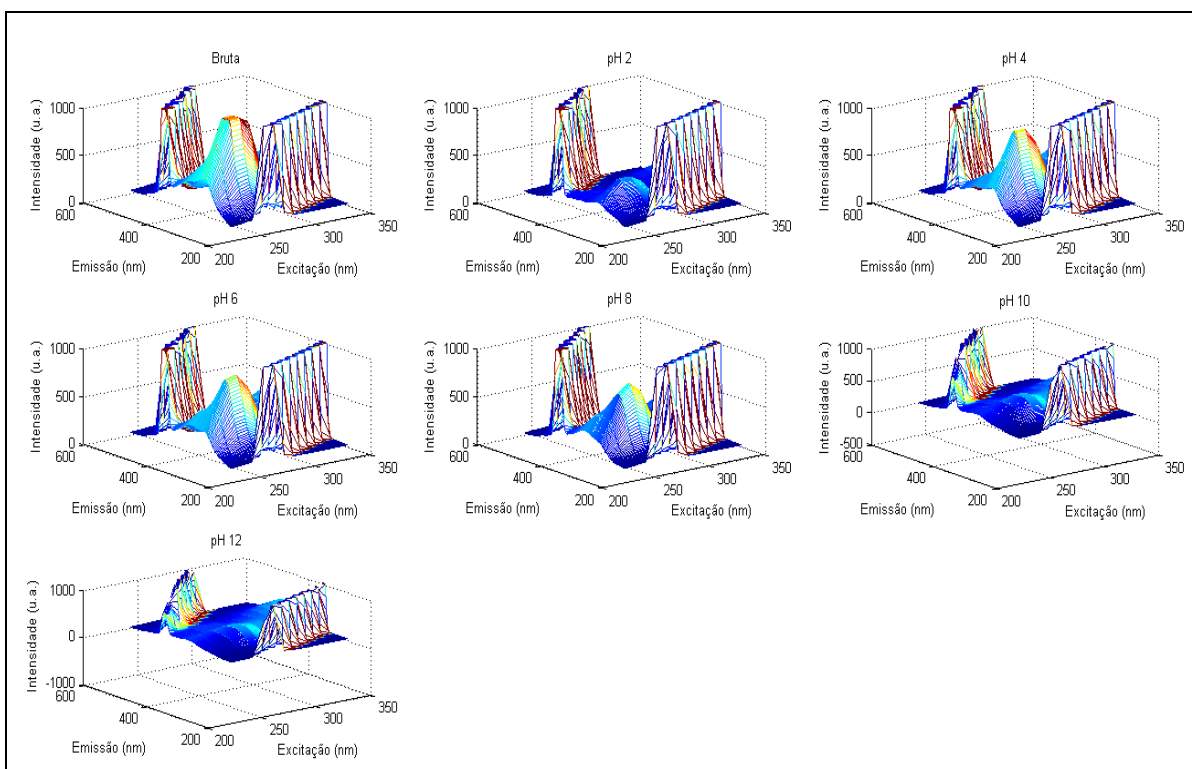
SU24 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Concord pelo método de produção orgânico.



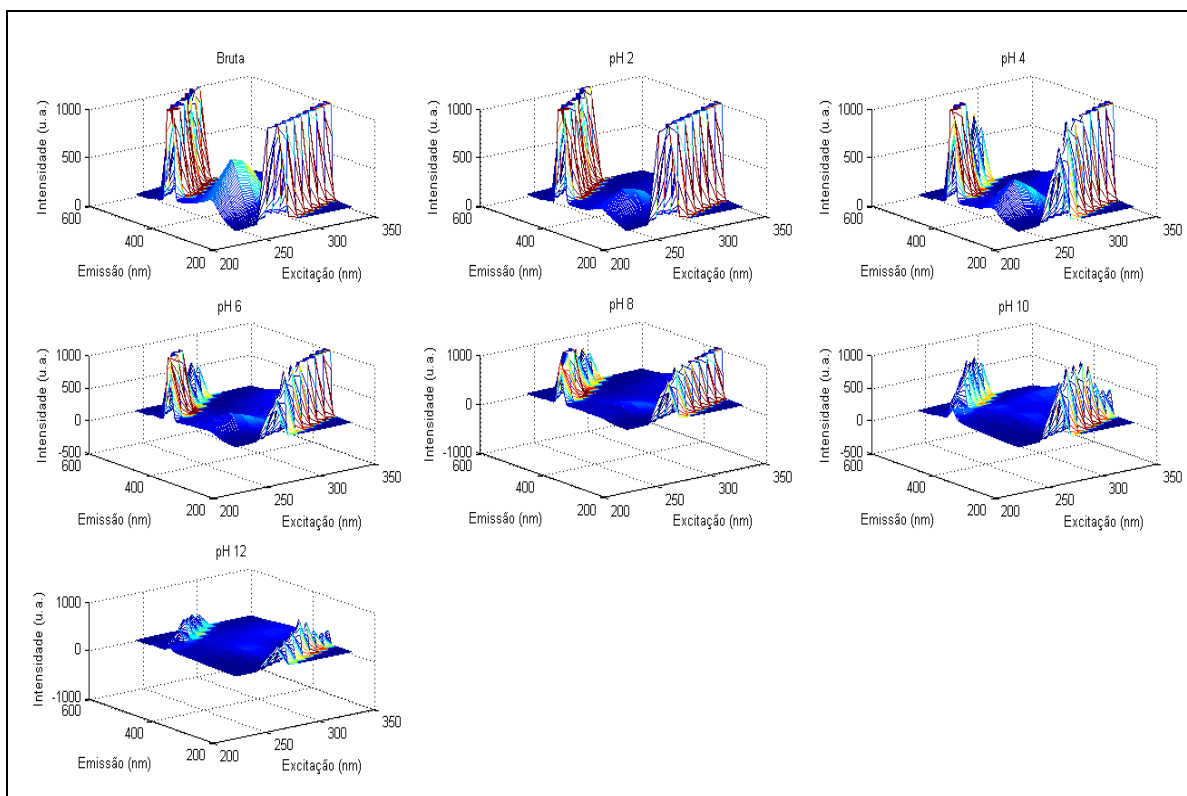
SU25 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Concord pelo método de produção orgânico.



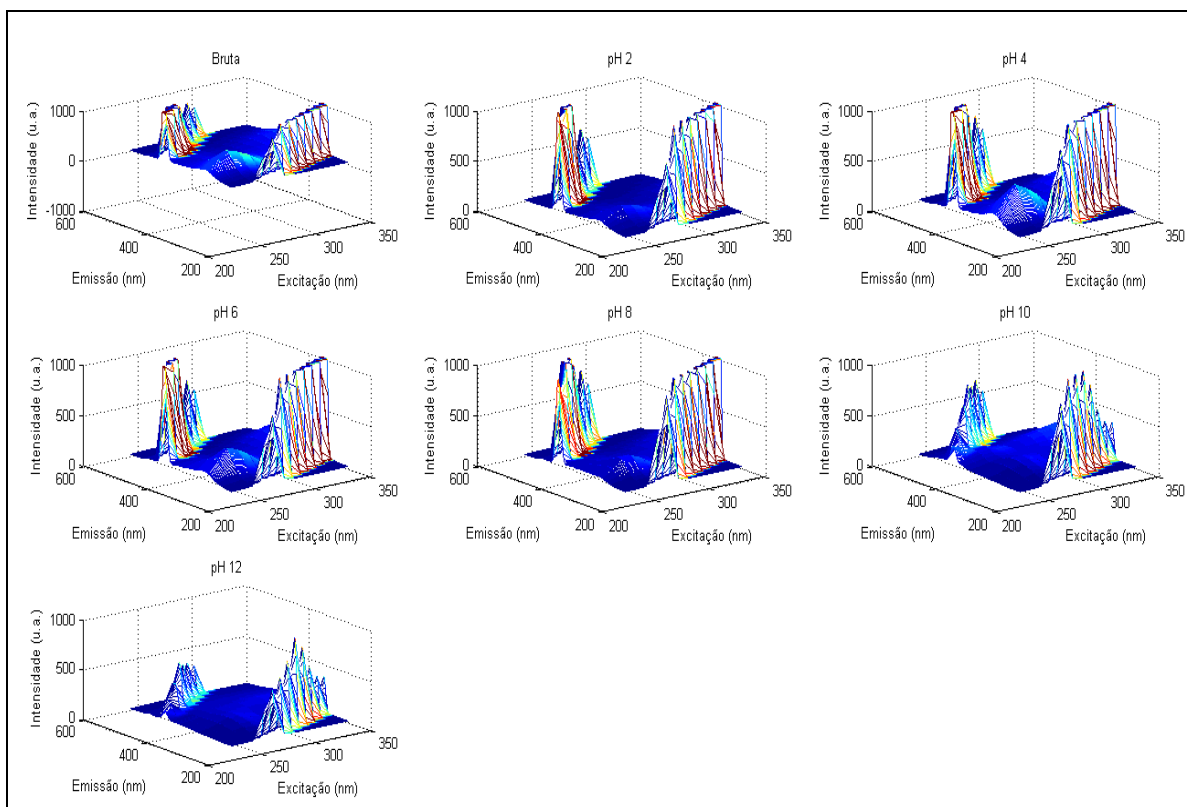
SU26 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Concord pelo método de produção orgânico.



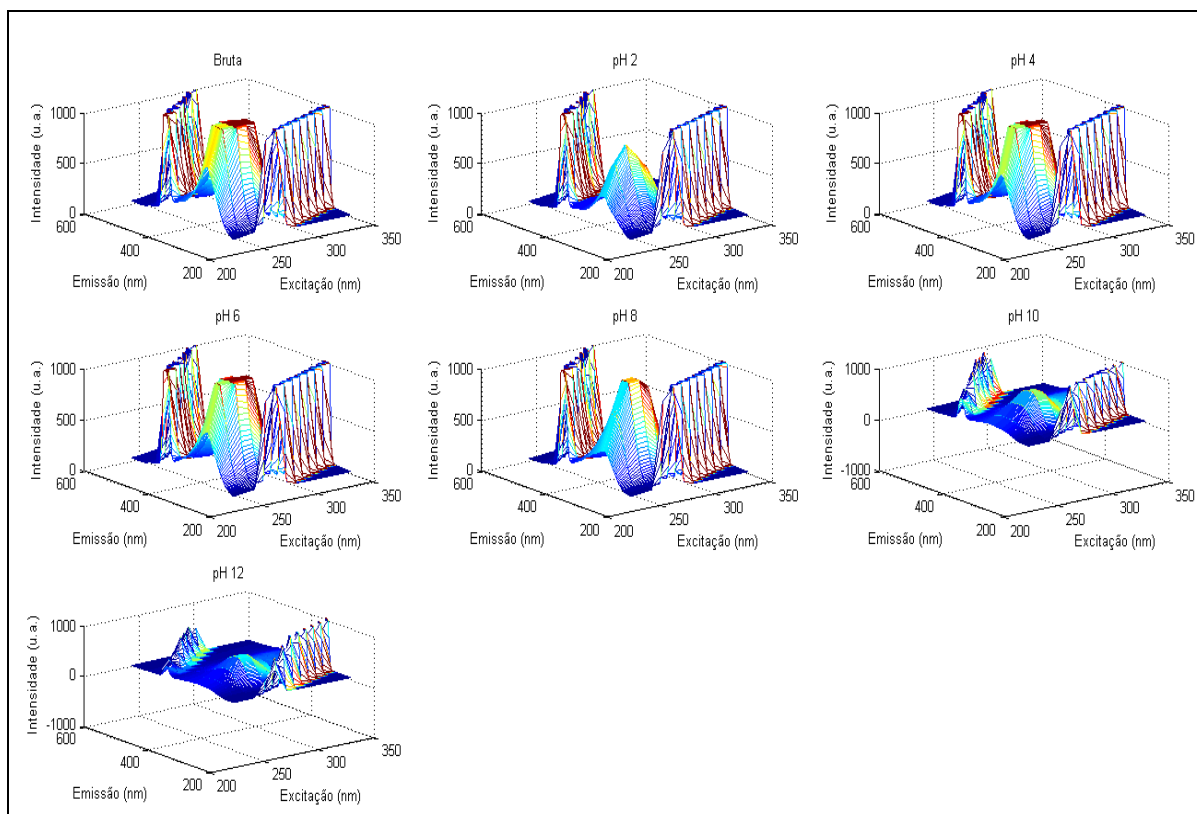
SU27 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Magna pelo método de produção orgânico.



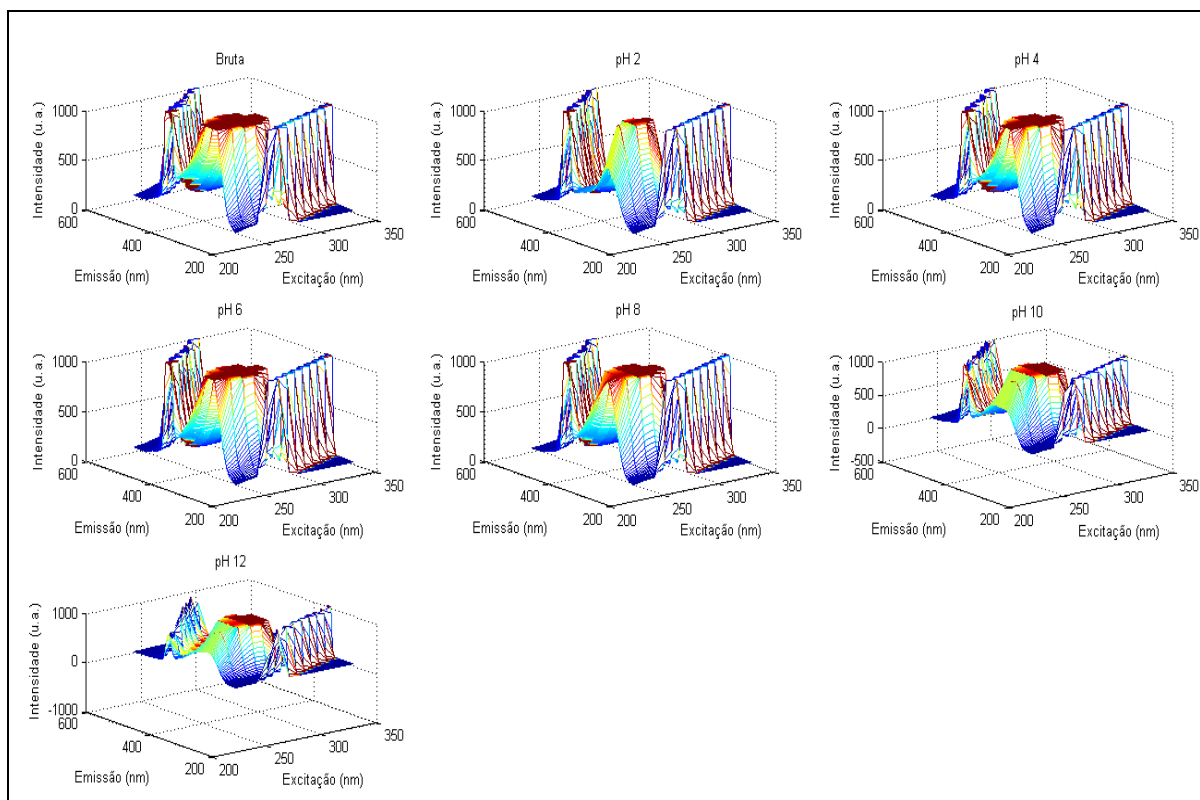
SU28 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Magna pelo método de produção orgânico.



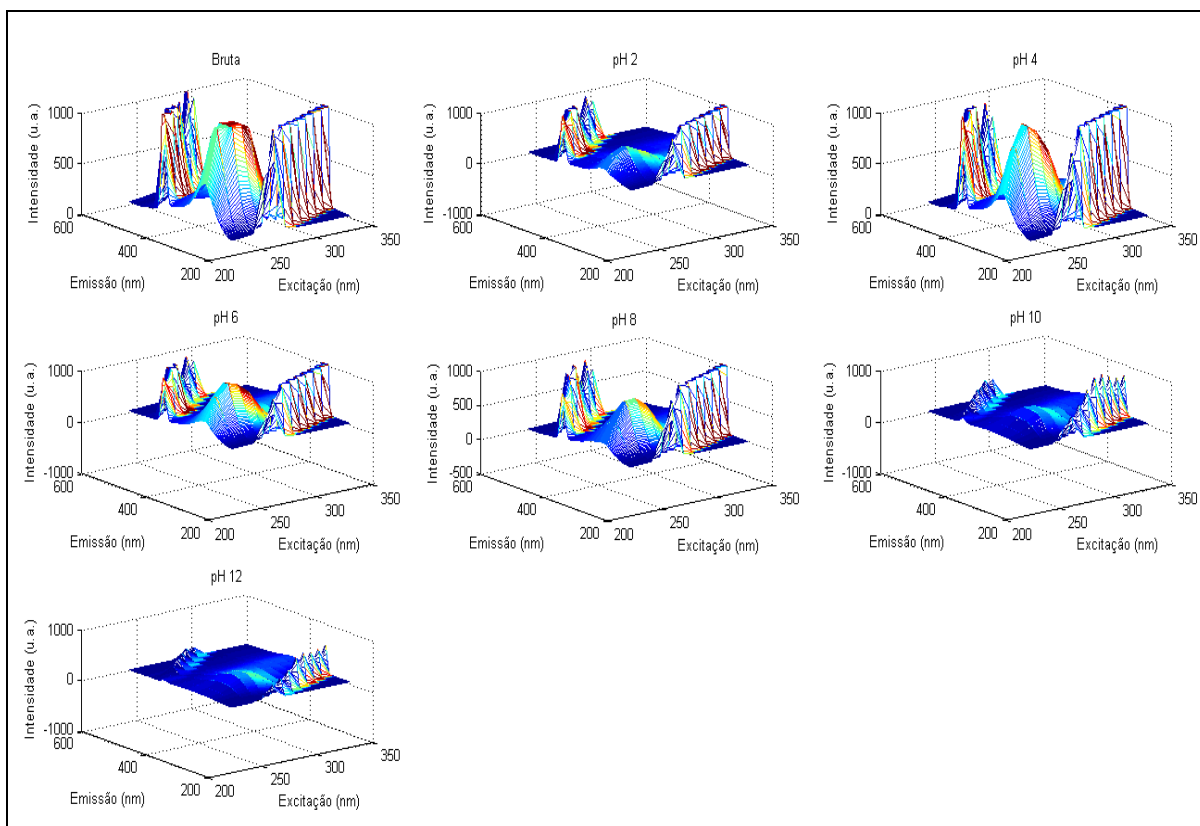
SU29 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Isabel pelo método de produção orgânico.



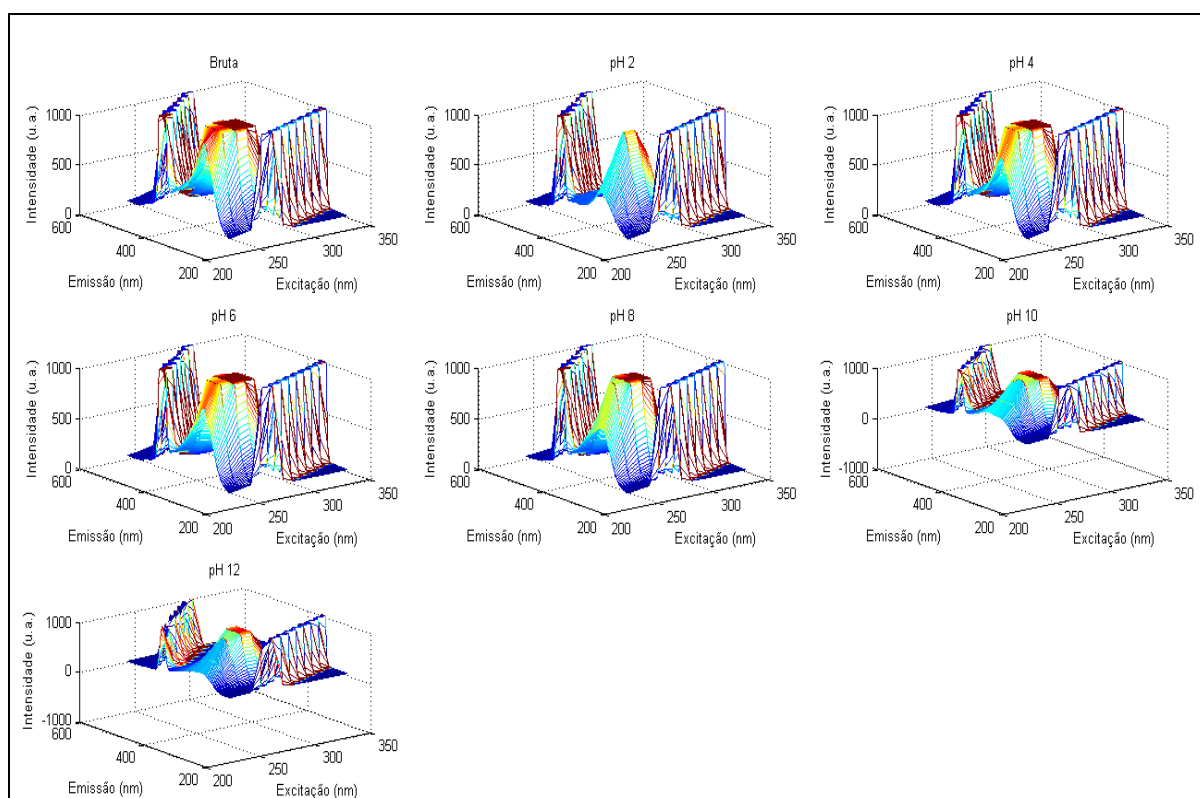
SU30 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Isabel Precoce pelo método de produção orgânico.



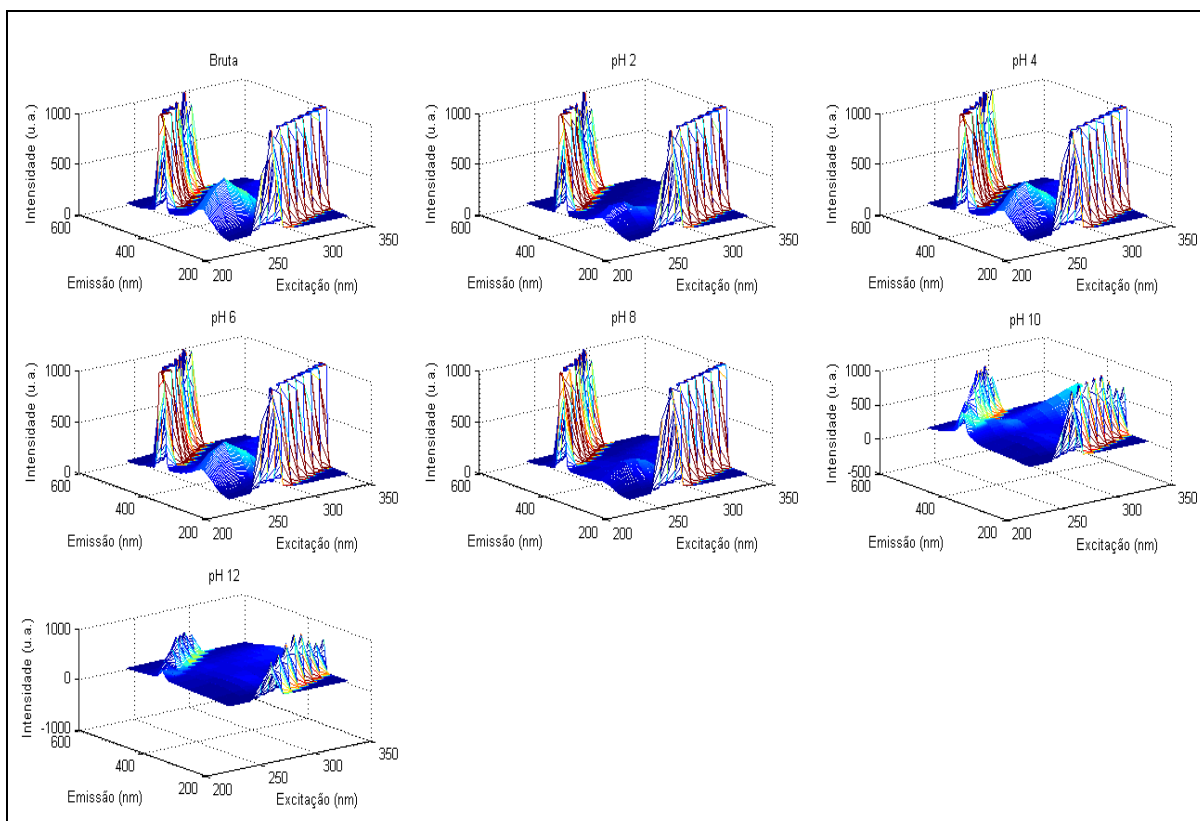
SU31 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Isabel Precoce pelo método de produção orgânico.



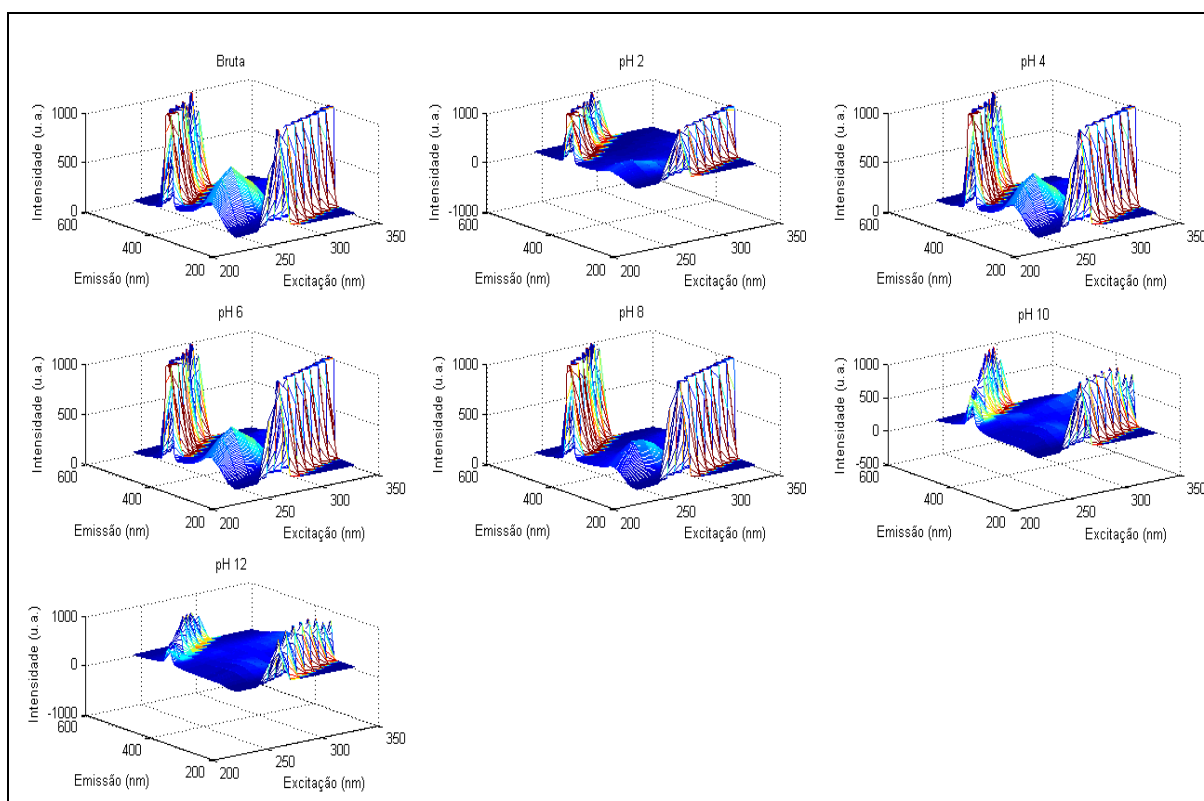
SU32 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Isabel Precoce pelo método de produção orgânico.



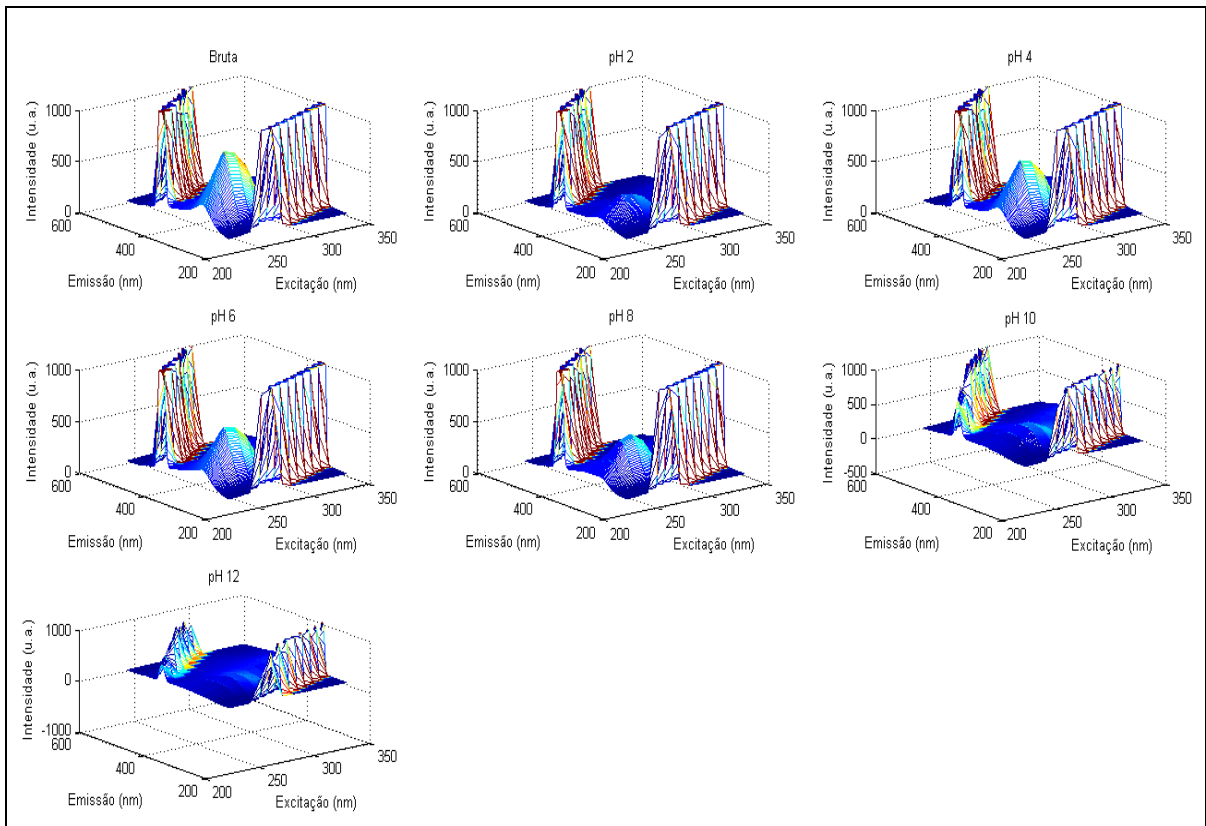
SU33 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Violeta pelo método de produção orgânico.



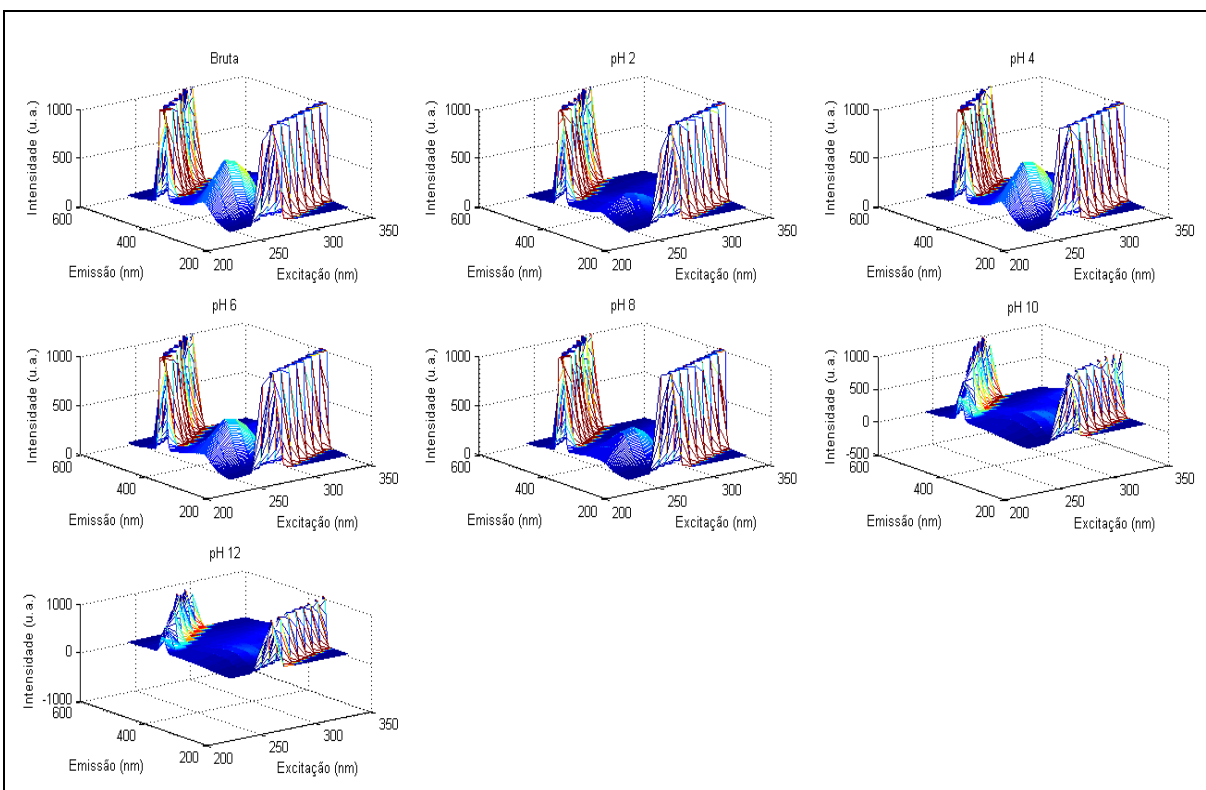
SU34 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Violeta pelo método de produção orgânico.



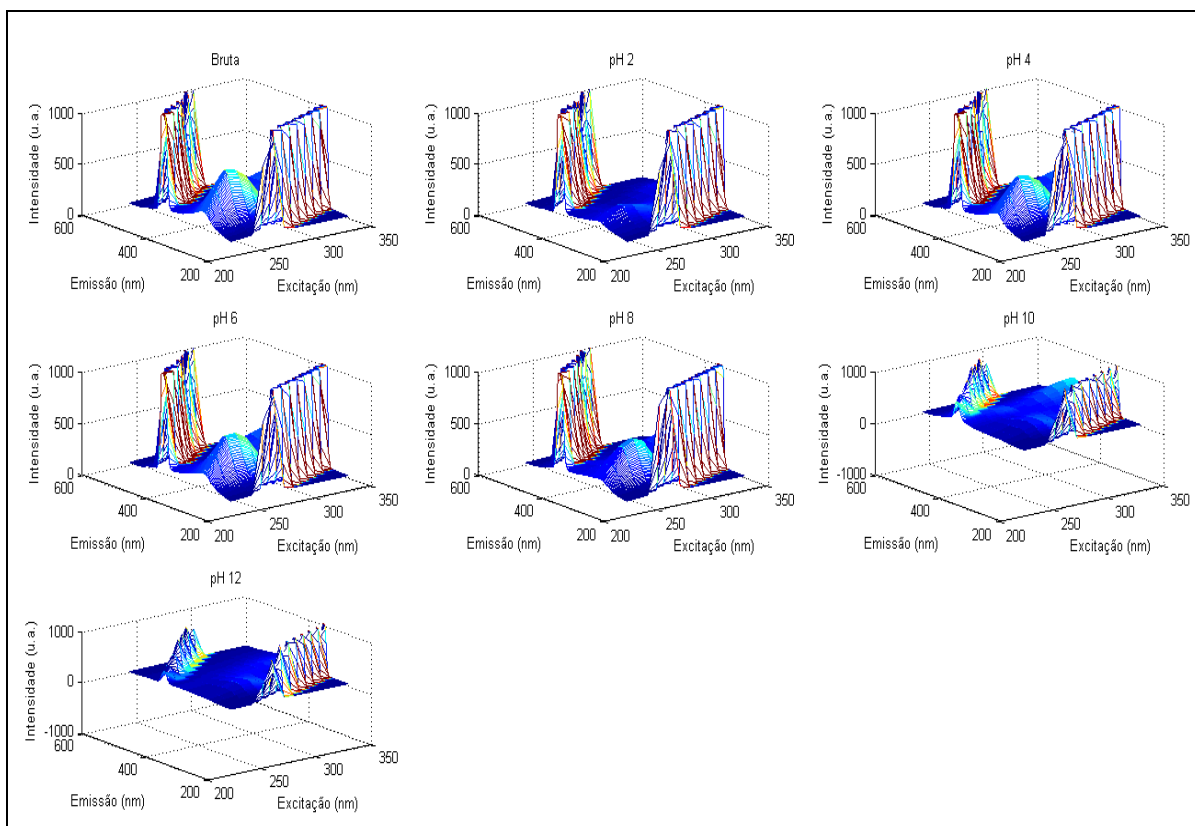
SU35 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade BRS Cora pelo método de produção orgânico.



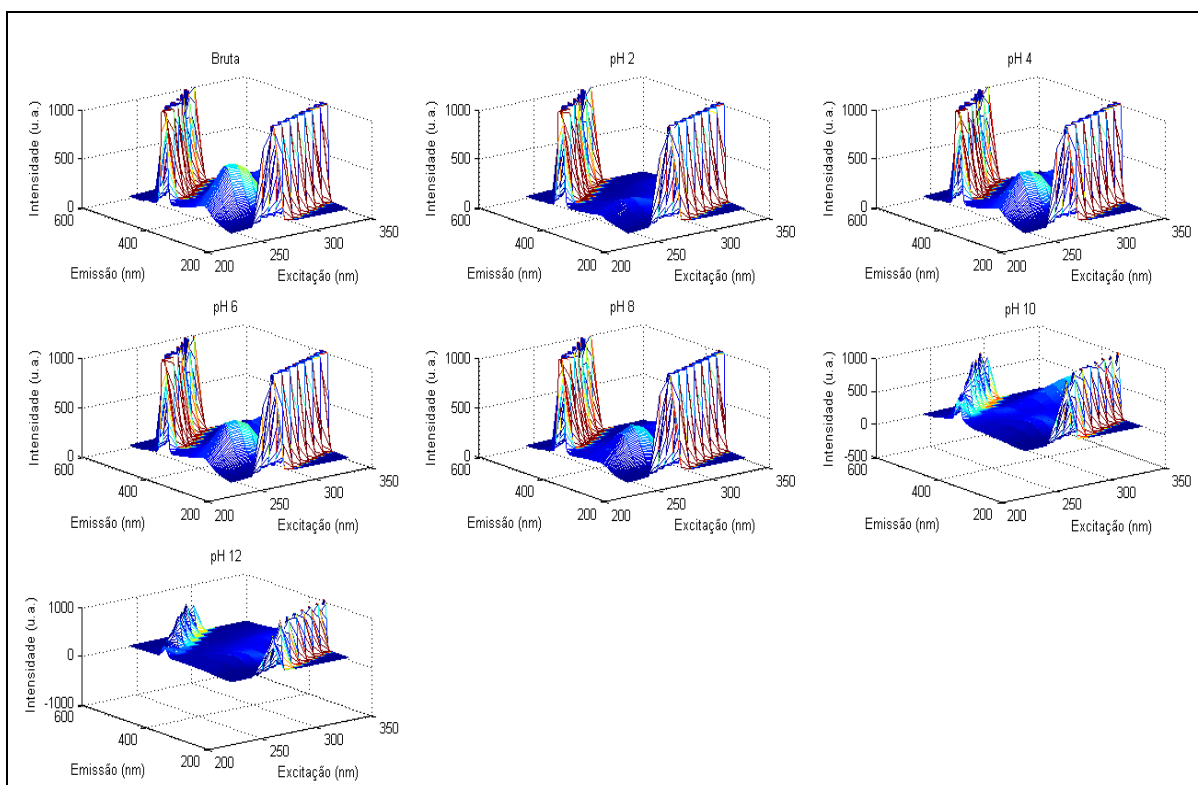
SU36 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade BRS Cora pelo método de produção orgânico.



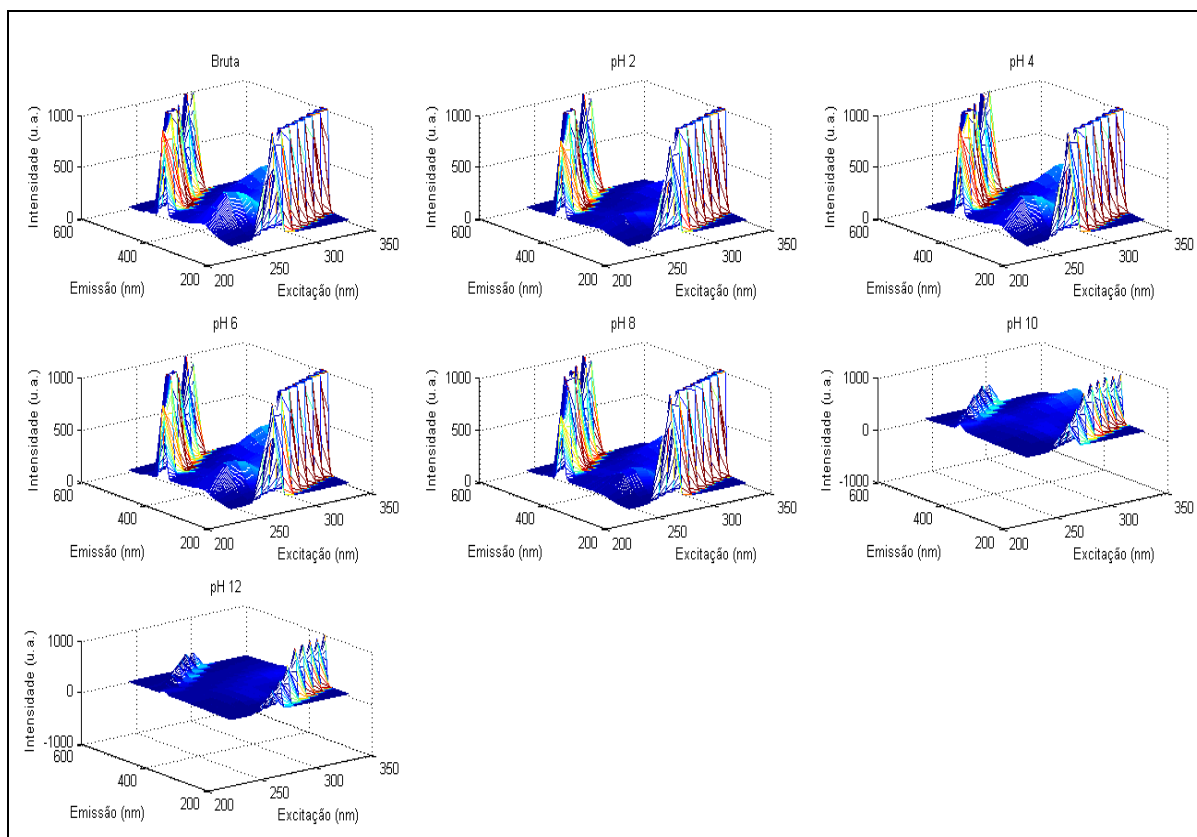
SU37 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Seleção pelo método de produção orgânico.



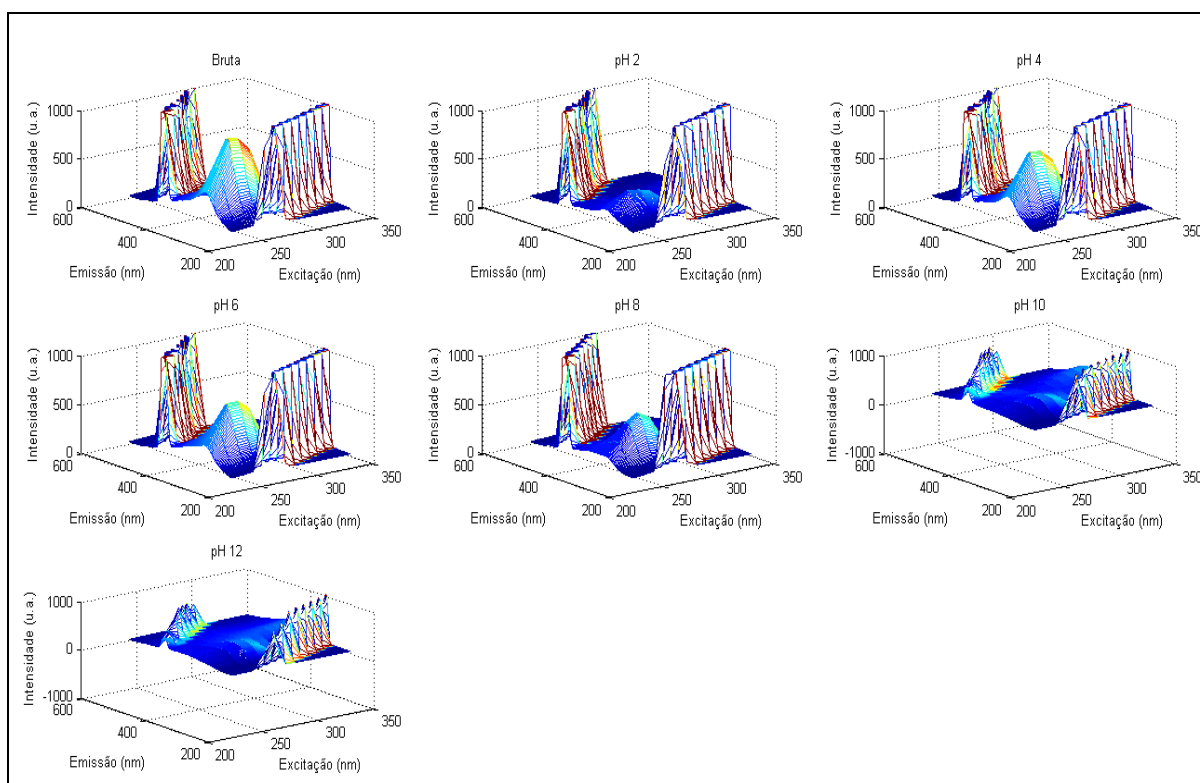
SU38 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Seleção pelo método de produção orgânico.



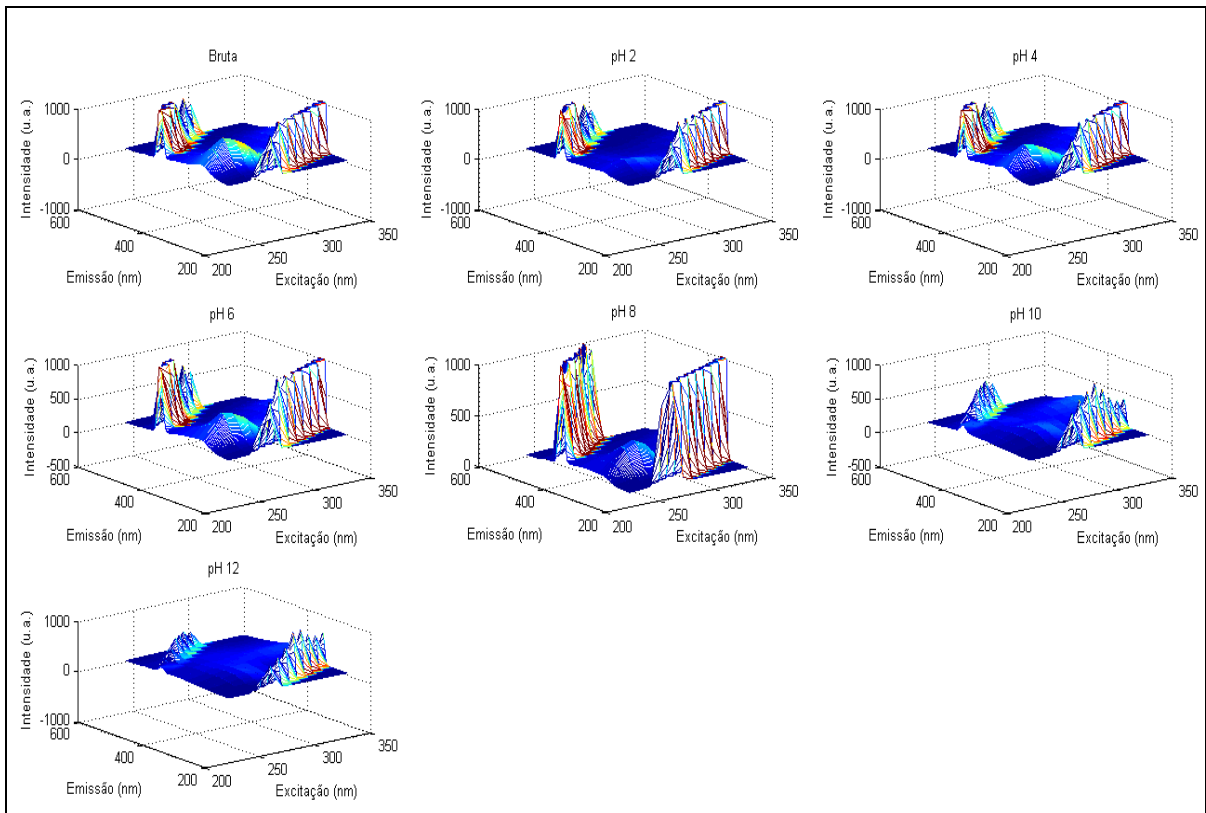
SU39 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Seleção pelo método de produção orgânico.



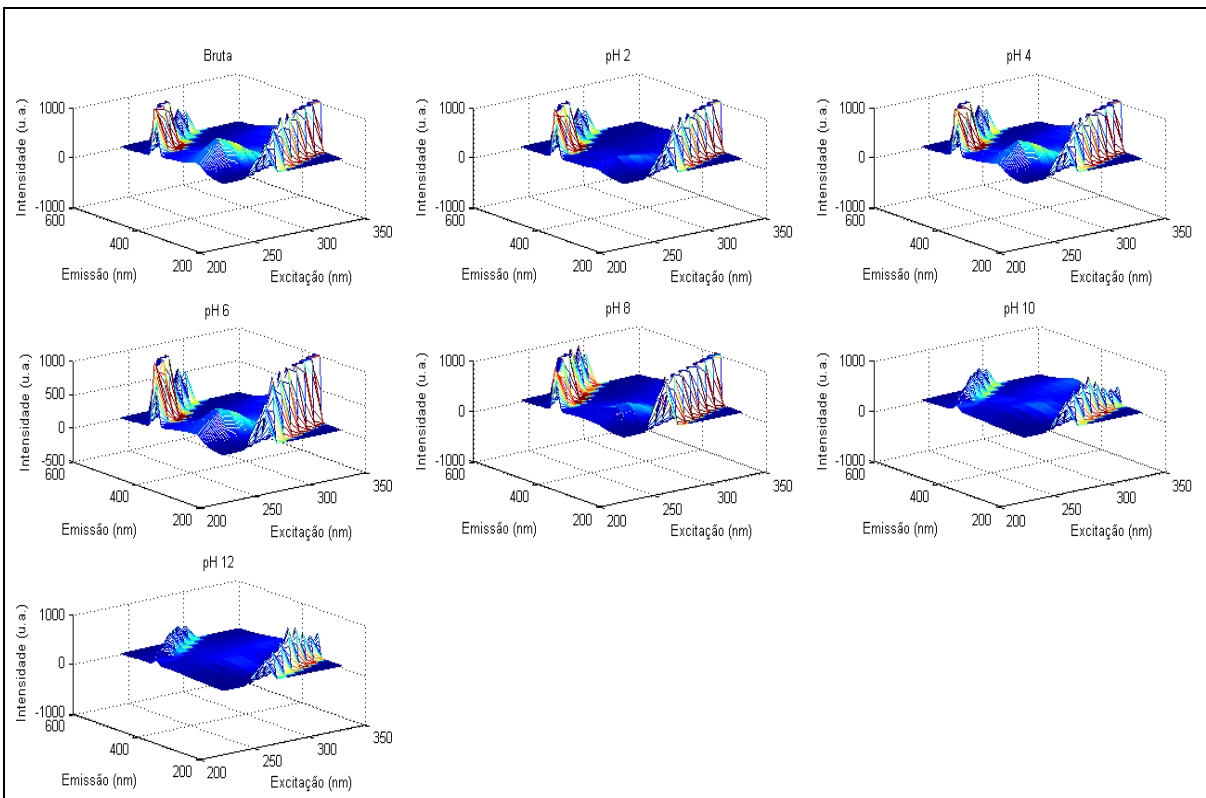
SU40 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Rúbea pelo método de produção orgânico.



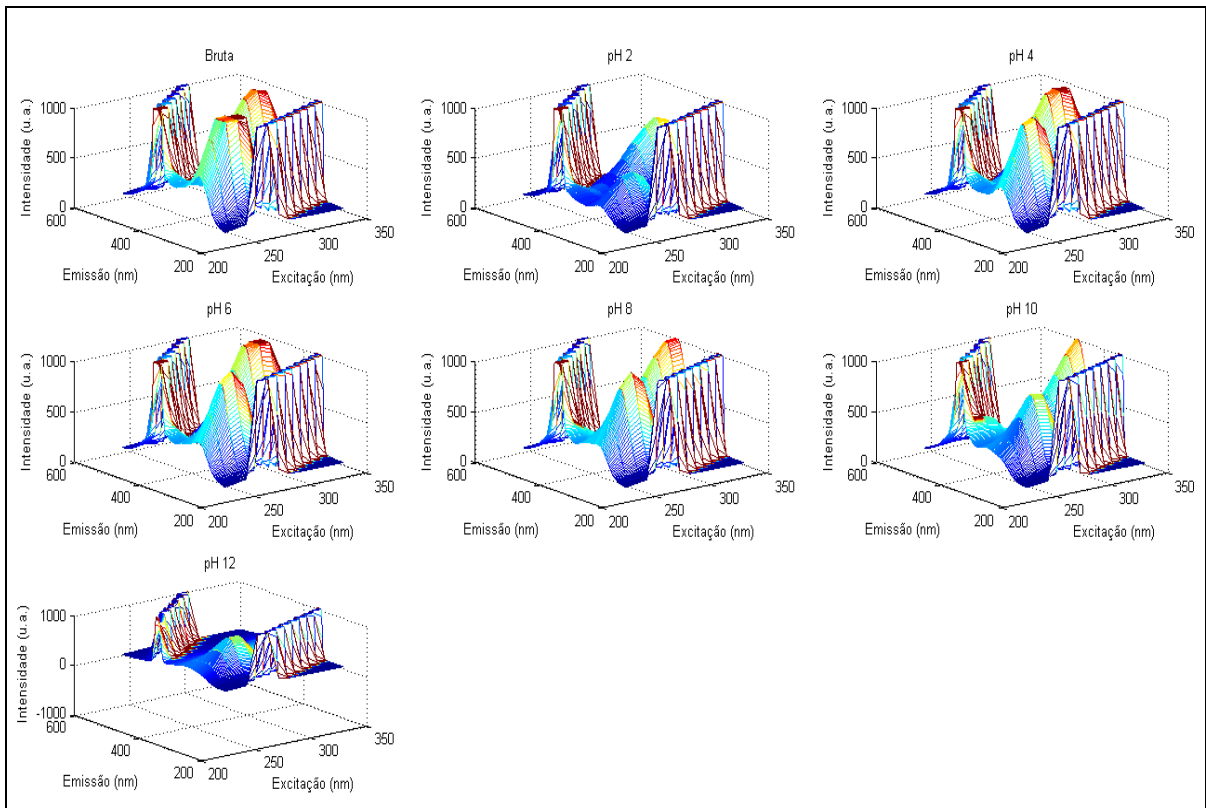
SU41 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Rúbea pelo método de produção orgânico.



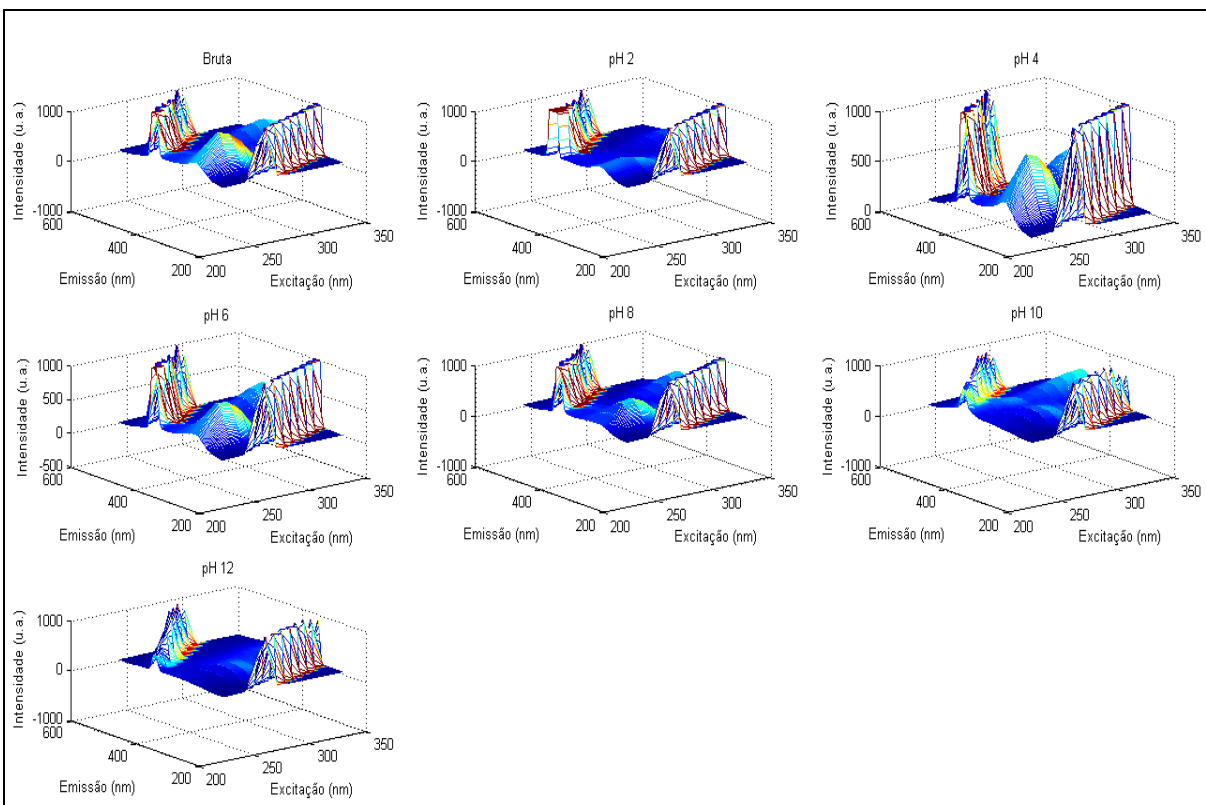
SU42 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Rúbea pelo método de produção orgânico.



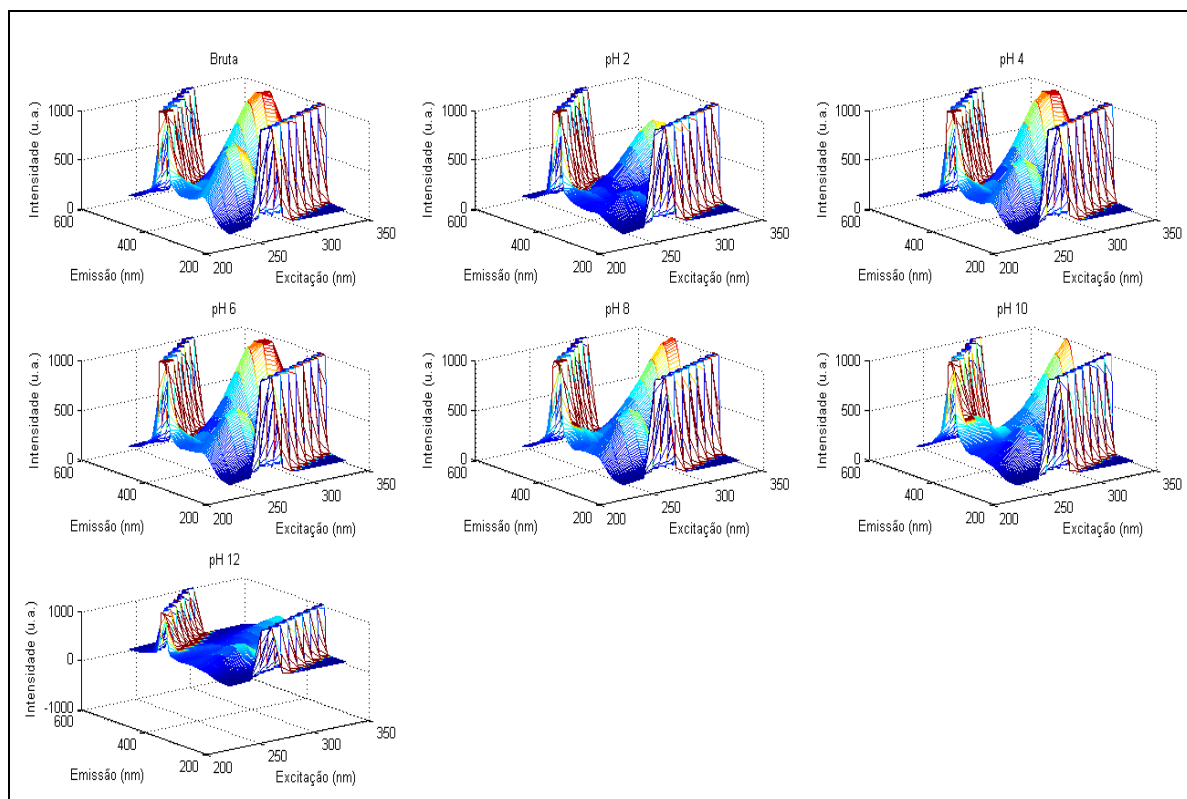
SU43 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Carmem pelo método de produção orgânico.



SU44 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Carmem pelo método de produção orgânico.



SU45 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Carmem pelo método de produção orgânico.



SU46 - Espectros de fluorescência de suco de uva da variedade Carmem pelo método de produção orgânico.

