



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL**

ADRIELE GOMES DA SILVA

**METODOLOGIA ALTERNATIVA PARA A DETERMINAÇÃO
DO TEOR ALCOÓLICO DO PRODUTO MISTO A BASE
DE CERVEJA UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA NIR E PLS**

**CAMPINA GRANDE - PB
2018**

ADRIELE GOMES DA SILVA

**METODOLOGIA ALTERNATIVA PARA A DETERMINAÇÃO
DO TEOR ALCOÓLICO DO PRODUTO MISTO A BASE
DE CERVEJA UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA NIR E PLS**

Trabalho de Conclusão de Curso em Química Industrial da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Simone da Silva Simões.

**CAMPINA GRANDE - PB
2018**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S586m Silva, Adriele Gomes da.

Metodologia alternativa para determinação do teor alcoólico do produto misto a base de cerveja utilizando espectroscopia NIR e PLS [manuscrito] / Adriele Gomes da Silva. - 2018.

61 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2018.

"Orientação : Profa. Dra. Simone da Silva Simões, Coordenação do Curso de Química Industrial - CCT."

1. Cerveja. 2. Controle de qualidade. 3. Quimiometria. 4. Incerteza de Martens. I. Título

21. ed. CDD 663.4

ADRIELE GOMES DA SILVA

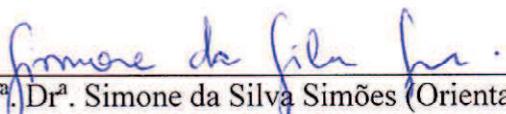
METODOLOGIA ALTERNATIVA PARA A DETERMINAÇÃO
DO TEOR ALCOÓLICO DO PRODUTO MISTO A BASE
DE CERVEJA UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA NIR E PLS

Trabalho de Conclusão de Curso em Química Industrial da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

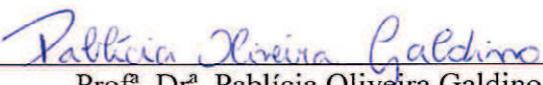
Área de concentração: Química Analítica.

Aprovada em: 03/12/2018.

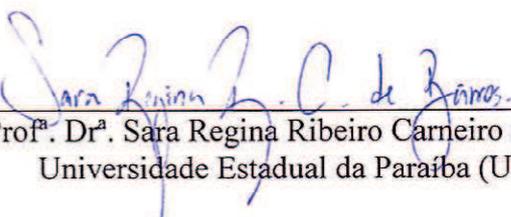
BANCA EXAMINADORA



Prof^ª. Dr^ª. Simone da Silva Simões (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof^ª. Dr^ª. Pablicia Oliveira Galdino
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof^ª. Dr^ª. Sara Regina Ribeiro Carneiro de Barros
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Aos meus pais, que sempre me apoiaram e nunca perderam a fé nos meus sonhos e aos meus avós Manoel e Neuza (in memoriam), que me ensinaram valores importantes pra toda a vida, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado sabedoria e discernimento para conseguir concluir mais uma etapa.

Aos meus pais, Adriana e Evaldo, por todo o esforço e empenho ao me proporcionar uma boa educação. Por todo incentivo e dedicação, ajudando-me a subir cada degrau para chegar até aqui. Essa conquista não é só minha, é de vocês também.

A minha Orientadora, Simone Simões, por ter me orientado nesse período acadêmico, compartilhando sua sabedoria, tempo e experiência. Manifesto aqui toda a minha gratidão por teres dado todo suporte e incentivo para realização desse trabalho.

Ao meu companheiro, Elielson Lira, que antes de tudo sempre foi meu amigo, segurando a barra quando preciso, aturando meus momentos de ausência, e sempre me dando força e apoio para superar as dificuldades da graduação.

Aos amigos que a graduação me deu, Erivan Júnior (minha melhor dupla), Gabriel França e Yann Kallel, por ter suportado a minha chatice e brutalidade todos esses anos, por estarem presentes seja em momentos de descontração, seja em momentos de estudos. Construímos uma grande amizade durante todo o curso que levarei pra vida toda. Saibam que tenho um carinho enorme por vocês.

A uma pessoa muito especial, um anjo que Deus colocou na minha vida, Jessica Gabriele, que além de ser melhor amiga, se tornou uma irmã de coração.

Ao meu avô Manoel (in Memoriam), que mesmo ausente fisicamente, sempre me ajudou a seguir em frente com seus ensinamentos. Sei que ele está muito feliz com essa conquista.

A toda minha família de modo geral, que sempre torceram pelo meu sucesso.

Ao laboratório de combustíveis da UFPE por disponibilizar o MicroNir portátil.

Aos funcionários da UEPB, em especial o técnico Ademir, pela presteza e atendimento quando nos foi necessário.

De uma forma geral, agradeço a todos que contribuíram de forma direta ou indiretamente para que esse sonho se tornasse realidade.

“É preciso força pra sonhar e perceber que a estrada vai além do que se vê.”

(Los Hermanos)

RESUMO

A cerveja é uma das principais bebidas alcóolicas do mundo, tendo uma ampla escala de produção e consumo. Seu teor alcóolico pode variar entre 3 e 67,5% ABV (do inglês, Alcohol by volume) de acordo com a legislação brasileira. Devido as mudanças nos hábitos de consumo da cerveja pelos consumidores, o mercado cervejeiro de uma forma geral tem procurado investir em novos tipos de cerveja, oferecendo ao consumidor acessibilidade e variabilidade de produtos de boa qualidade. Para atender as especificações relacionadas aos padrões de identidade e qualidade de uma bebida alcóolica, é necessário realizar análises físico-químicas que estão regulamentadas na legislação, como por exemplo, a medida do teor alcóolico das mesmas. O objetivo desse trabalho foi desenvolver uma metodologia alternativa aos métodos convencionais, utilizando a espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR) aliada a métodos quimiométricos, como a regressão em mínimos quadrados parciais (PLS), para a determinação de teor de álcool (%ABV) em bebidas alcóolicas mista a base de cerveja. Foram adquiridos 4 lotes distintos da bebida estudada em estabelecimentos comerciais locais. A fim de obter uma faixa de variação em relação à %ABV, foram preparadas amostras tanto diluídas como concentradas a partir do valor de % ABV rotulado na bebida utilizada como base. Essas amostras foram usadas para desenvolver os dois modelos de calibração. As diluições da bebida foram feitas por adição de água deionizada e fortificações da mesma com adição de álcool etílico, obtendo-se assim 25 amostras, com uma faixa de variação de 1,58 a 17,11 %ABV. O registro dos espectros referentes a essas amostras foram adquiridos a partir de um MicroNir portátil. Para construção dos modelos quimiométricos foram testados vários pré-processamentos e realizou-se um estudo da influência do ruído espectral e da seleção de variáveis na qualidade dos modelos. Neste sentido os modelos que apresentaram melhor desempenho na predição da %ABV foi aquele construído com os coeficientes de regressão dos espectros brutos selecionados pelo algoritmo Jack Knife e aquele construído a partir da 1ª derivada polinômio de 2ª ordem e janela de 5 pontos, selecionando também os coeficientes de regressão pelo algoritmo Jack Knife. Este ultimo modelo apresentou um erro de predição de 2%ABV. Um teste t a 95% de confiança mostrou que não há diferença significativa entre os valores rotulados e preditos pelo modelo, uma vez que o $t_{\text{calculado}}$ (0,0480) é menor que o t_{tabelado} (0,0654). Deste modo, a metodologia desenvolvida mostra-se viável para a determinação da %ABV, podendo ser aplicada em análises de rotina realizadas para a bebida alcóolica mista a base de cerveja estudada.

Palavras-Chave: Cerveja. Controle de qualidade. Quimiometria. Incerteza de Martens.

ABSTRACT

Beer is one of the main alcoholic beverages in the world and has a wide range of production and consumption. Its alcoholic content can vary between 3 and 67,5% ABV (Alcohol by Volume) in accordance with Brazilian law. Due to changes in beer consumers' consumption habits, the brewing market has generally sought to invest in new types of beer, offering the consumer accessibility and variability of good quality products. In order to meet the specifications related to the identity and quality standards of an alcoholic beverage, it is necessary to carry out physico-chemical analyzes that are regulated in the legislation, such as the measurement of its alcoholic content. The objective of this work was to develop an alternative methodology to the conventional methods, using the Near Infrared Spectroscopy (NIR) allied to chemometric methods, such as partial least squares regression (PLS), to determine alcohol content (% ABV) in Mixed alcoholic beverages based on beer. 4 separate lots of the studied drink were acquired in local businesses. In order to obtain a range of variation relative to % ABV, both diluted and concentrated samples were prepared from the label % ABV value in the base beverage. These samples were used to develop those of the calibration models. The dilutions of the beverage were made by addition of deionized water and fortifications of the same with addition of ethyl alcohol, obtaining 25 samples, with a variation range of 1.58 to 17.11% ABV. The recording of the spectra for these samples were acquired from a portable MicroNir. For the construction of the chemometric models, several pre-tests were tested and a study was carried out on the influence of spectral noise and variable selection on the quality of the models. In this sense, the models that presented the best performance in the % ABV prediction were those constructed with the regression coefficients of the raw spectra selected by the Jack Knife algorithm and the one constructed from the 1st derivative of the 2nd order polynomial and the 5 point window, regression coefficients by the Jack Knife algorithm. The latter model presented a prediction error of 2% ABV. A test at 95% confidence level showed no significant difference between the predicted values and labeled by the model, since the $t_{\text{Calculated}}$ (0,0480) is less than t_{tableado} (0,0654). Thus, the methodology developed is feasible for the determination of % ABV and can be applied in routine analyzes performed for mixed alcoholic beer based beverage studied.

Key words: Beer. Quality control. Chemometrics. Uncertainty of Martens.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mercado global de 2017 da produção de cerveja por região.....	16
Figura 2 – Posição das principais bandas de análise na região NIR.....	23
Figura 3 – Organização de dados na calibração multivariada.....	26
Figura 4 – MicroNir portátil.....	35
Figura 5 – Etapas empregadas na construção dos modelos multivariados.....	36
Figura 6 – Espectros das amostras: pura, diluída e fortificada.....	38
Figura 7a– Análise de componentes principais de toda a faixa espectral.....	39
Figura 7b– Análise de componentes principais excluindo a faixa de maior ruído espectral.....	39
Figura 8a– Espectros pré-processados com MSC.....	42
Figura 8b– Espectros pré-processados com SNV.....	43
Figura 8c– Espectros pré-processados com SJ9.....	43
Figura 9 – Espectros pré-processados com SP2J9.....	44
Figura 10– Coeficientes de regressão selecionados pelo algoritmo Jack-Knife.....	47

LISTA DE QUADROS

Quadro 1– Características da água de boa qualidade para fabricação de cerveja.....	18
Quadro 2– Composição do lúpulo usado nas cervejarias.....	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Soluções com diferentes teores de álcool.....	34
Tabela 2 – Pré-processamentos espectrais e figuras de mérito para %ABV.....	41
Tabela 3 – Comparação dos valores preditos pelo modelo com valores rotulados de %ABV.....	46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	OBJETIVO GERAL.....	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3	REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....	15
3.1	CERVEJA.....	15
3.1.1	Água.....	18
3.1.2	Malte.....	19
3.1.3	Lúpulo.....	19
3.1.4	Levedura.....	20
3.2	ETANOL.....	21
3.3	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR).....	22
3.4	QUIMIOMETRIA.....	24
3.4.1	Calibração Multivariada.....	24
3.4.1.1	<i>Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS)</i>	27
3.4.2	Pré-processamento dos dados.....	28
3.4.3	Algoritmos para Seleção de Variáveis e Amostras.....	30
3.4.3.1	<i>Algoritmo de Projeções Parciais (APS)</i>	30
3.4.3.2	<i>Teste de Incerteza de Martens (Jack – Knifing)</i>	31
3.4.3.3	<i>Kennard – Stone (KS)</i>	31
3.4.3.4	<i>Algoritmo SPXY</i>	32
4	METODOLOGIA.....	33
4.1	LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO.....	33
4.2	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	33
4.3	ANÁLISE DA ESPECTROSCOPIA NIR.....	34
4.4	CONSTRUÇÃO E VALIDAÇÃO DOS MODELOS.....	35
4.4.1	Etapas para a Construção dos Modelos.....	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	38
6	CONCLUSÃO.....	48
7	PESPECTIVAS.....	49
	REFERENCIAS.....	50
	ANEXOS.....	60

1 INTRODUÇÃO

Uma das atividades mais antigas da humanidade é a produção e o consumo de bebidas alcóolicas. A produção cervejeira iniciou-se na Mesopotâmia, onde a cerveja maltada já era consumida a 600 a.C. Embora fosse muito usada na dieta, a cerveja também exercia função medicinal e cosmética. A sua produção era de grande importância uma vez que gerava economia para diversos países (CARVALHO, 2006; DRAGONE, SILVA, 2010).

A cerveja é resultado da fermentação alcóolica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada, água potável, por ação de leveduras com adição de lúpulo, onde esses possuem características que podem proporcionar sabor e aroma, ou então interferir na formação desses parâmetros (KUCK, 2008) O processo de produção da cerveja se dá através do processo de fermentação, onde há a conversão do fermento (glicose), em etanol e gás carbônico, sob condições anaeróbias (MEGA et al., 2011). Hoje o Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo, ficando atrás apenas da China e dos Estados Unidos (SEBRAE, 2014). Por ser conhecida como uma bebida carbonada, a cerveja pode variar o seu teor alcoólico entre 3 e 67,5%. Cervejas com teor alcoólico acima de 14% ou são adquiridas por meio de importação ou ainda não estão disponíveis no Brasil (MAGRI, 2016). No Brasil e no restante do mundo a cerveja mais consumida é a estilo pilsen. No entanto, devido às mudanças relacionadas ao hábito do consumo de cerveja, o mercado cervejeiro mundial tem investido na produção de novos estilos de cerveja, dessa forma, impulsionando a economia do local e oferecendo ao consumidor acessibilidade de variedade de produtos de melhor qualidade (WILER, 2013).

Dessa forma, pensando em abranger o público alvo, surgem novos produtos com variações de composição e adição de algum ingrediente específico para aprimorar e evidenciar o sabor. Um dos frutos dessas adições são os produtos mistos a base de cerveja, que de acordo com o decreto de nº 6.871, de 4 de junho de 2009, pode ser definida como aquela bebida alcóolica obtida a partir da mistura do destilado alcóolico simples de origem agrícola, álcool etílico potável de origem agrícola e bebida alcóolica, separadas ou em conjunto, com outra bebida não-alcóolica, ingrediente não-alcóolico ou sua mistura. (BRASIL, 2009).

Para a obtenção de bebidas alcóolicas de qualidade, é necessário realizar análises dos parâmetros físico-químicos, que estão regulamentados na legislação nacional, que estabelece os padrões de identidade e qualidade da bebida (SERRÃO, 2014). As análises são realizadas periodicamente para determinar uma vasta variedade de substâncias (GOMES, 2008). Um dos métodos utilizados para se determinar o teor alcoólico em bebidas, é por meio da picnometria, cujo princípio se baseia na diferença de densidade entre as substâncias. Outro método é

densimetria, que também utiliza a densidade dos líquidos para diferenciar substâncias (ZENEBOON et al., 2008). Um outro processo que pode ser aplicado para quantificação de etanol é a refratometria, onde se determina o índice de refração dos materiais (RIBEIRO, 2007).

Sabendo das técnicas já existentes para quantificação de etanol em bebidas, a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), surge como uma alternativa, pois trata-se de um processo analítico rápido, reprodutível, não destrutivo e de baixo custo visto que pode-se eliminar ou reduzir a quantidade de solvente/reagente utilizado e reduzir o tempo de análise ((BLANCO, 2006).

Nesse contexto, esse trabalho buscou desenvolver uma metodologia baseada na espectroscopia NIR e nos métodos quimiométricos com o objetivo de quantificar etanol em bebida alcóolica mista, de forma rápida e precisa.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma metodologia alternativa para a determinação da %ABV em bebida alcóolica mista a base de cerveja baseada na espectroscopia NIR e PLS.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os modelos construídos utilizando diversos pré-processamentos espectrais;
- Verificar a influência do ruído espectral no desempenho dos modelos construídos;
- Avaliar a capacidade preditiva dos modelos construídos utilizando os coeficientes de regressão Jack Knife;
- Avaliar o desempenho da metodologia desenvolvida para a predição da %ABV em produtos comerciais;
- Verificar o desempenho de um espectrômetro NIR portátil para o desenvolvimento da metodologia para determinação %ABV em uma bebida mista a base de cerveja.

3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

3.1 CERVEJA

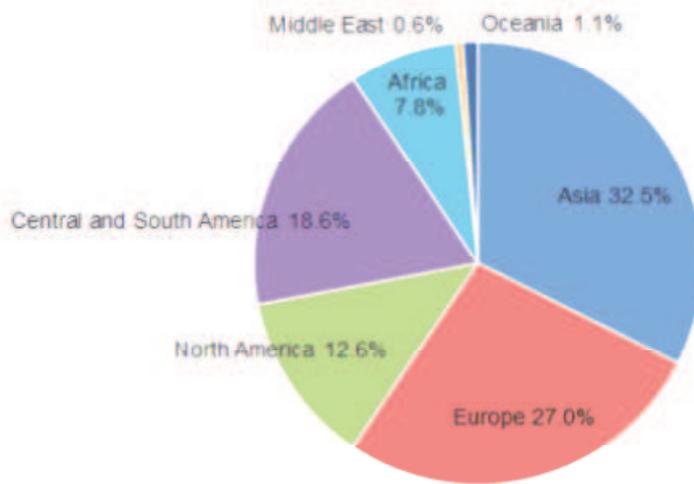
De acordo com estudos, estima-se que as bebidas fermentadas começaram a ser utilizadas pelo homem há mais de mil anos. A produção de cerveja se iniciou na Mesopotâmia a mais de 8.000 anos de forma acidental como resultado da fermentação ocasional de um cereal, estando ligada ao surgimento das atividades humanas mais antigas, como a agricultura e a fabricação de pão. Dessa forma, a cerveja foi desenvolvida simultaneamente aos processos de fermentação de cereais (MORADO, 2009; HORNSEY, 2003; LEÃO, 2003). Surgindo então a cerveja primitiva, considerada uma espécie de “pão líquido”. Seu processamento foi melhorado ao longo do tempo, até que os sumérios chegaram a um gênero de cerveja conhecida como “bebida divina”, que era oferecida aos deuses (LEITE, 2014).

Existem algumas evidências arqueológicas indicadoras da Mesopotâmia como berço de origem da cerveja. Entre elas pode-se citar as inscrições em pedras, relacionadas a um cereal que se utilizava para produção de cerveja; o Hino de Ninkasi, a deusa da cerveja dos sumérios e uma placa de barro, datada de 4.000 a.c., onde estão representadas duas pessoas que provavelmente estão bebendo cerveja de um pote (MOREIRAS, 2014). No período de 500 a.c. e nos anos subsequentes, a cerveja passou a ser consumida principalmente pelas classes menos favorecidas, uma vez que os gregos e os romanos deram preferência ao consumo de vinho, por ser uma bebida divina entregue aos homens por Baco. Os povos bárbaros que se destacaram na arte de fabricar cerveja foram os germanos e gauleses (COELHO-COSTA, 2015).

Com a revolução Industrial, a produção de cerveja sofreu diversas mudanças, fazendo com que se estabelecessem fábricas cada vez maiores na Alemanha, Inglaterra e no Império Austro-Húngaro. As inovações tecnológicas como a refrigeração artificial desenvolvida por Carl Linde, a criação da máquina a vapor idealizada por James Watt e os estudos sobre fermentação de microrganismos desenvolvidos por Louis Pasteur, possibilitaram o desenvolvimento de técnicas de preservação dos alimentos devido o método de pasteurização, possibilitando assim um grande avanço na história da cerveja (MORADO, 2009).

Segundo Kirin Beer University (2017), em uma classificação por região, a Ásia é a maior produtora de cerveja do mundo, com uma participação de 32,5 % do mercado mundial. Enquanto que em uma classificação por país, a China continua sendo o maior produtor de cerveja pelo 16º ano consecutivo, seguido dos Estados Unidos e do Brasil. A Figura 1 mostra a partição do mercado global de 2017 da produção de cerveja por região.

Figura 1. Mercado global de 2017 da produção de cerveja por região.



Fonte: Adaptado de Kirin Beer University (2017)

A cerveja chegou ao Brasil durante a época da colonização holandesa durante a Companhia das Índias Ocidentais, no século XVII. Algum tempo depois os holandeses foram expulsos do país, e por esse motivo a produção de cerveja foi cessada por mais de um século e meio. Durante o período de colonização, os portos brasileiros eram fechados para navios estrangeiros, isso justificaria a falta da cerveja no país. No entanto, havia uma produção ilegal de cerveja, que era contrabandeada de Recife para outros estados como Rio de Janeiro e Salvador (COUTINHO, 2016).

Com a vinda da família real portuguesa ao Brasil, os portos foram abertos, permitindo assim a entrada de ingleses no país. Nesse período, Dom João VI consolidou a presença de ingleses no país, fazendo com que a cerveja consumida nesse período fosse exclusivamente inglesa (COUTINHO, 2014).

A cerveja brasileira propriamente dita começou a ser produzida em pequena escala por imigrantes apenas para o seu consumo. Na década de 1870 e 1880, surgem as primeiras cervejarias industrializadas brasileiras, onde a Freiderich Christoffel em Porto Alegre foi a pioneira (SANTOS, 2004).

No Brasil são produzidos mais de 14 bilhões de litros por ano, e esse valor tende a crescer cada vez mais. Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), houve um crescimento de 37,7 % no número de cervejarias registradas no Brasil em 2017, o que equivale a 679, enquanto que em 2016 a quantidade de cervejarias era de 493 (LOPES, 2018).

Segundo o Decreto de nº 6.871, de 4 de junho de 2009, cerveja é uma bebida obtida por fermentação alcoólica do mosto cervejeiro, oriundo do malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo. O malte de cevada e o lúpulo usado na elaboração da cerveja poderão ser substituídos por seus respectivos extratos. Parte do malte de cevada poderá ser substituído por adjuntos cervejeiros tais como: a cevada cervejeira e os demais cereais aptos para o consumo humano, malteados ou não-malteados, bem como os amidos e açúcares de origem vegetal. Além da cerveja tradicional, surgem novos produtos que podem ser originados a partir da mudança a composição original da mesma ou adicionar ingredientes específicos para aprimorar o sabor da bebida. Essas são denominadas segundo a legislação como bebidas alcóolicas por mistura, definidas como aquela bebida alcoólica obtida a partir da mistura do destilado alcoólico simples de origem agrícola, álcool etílico potável de origem agrícola e bebida alcoólica, separadas ou em conjunto, com outra bebida não-alcoólica, ingrediente não-alcoólico ou sua mistura (BRASIL, 2009).

A cerveja pode ser considerada uma das bebidas mais delicadas e labéis, podendo sofrer mudanças gradualmente de acordo com a aceitação e qualidade da bebida. Essa bebida é bastante consumida por pessoas com diversos paladares ao redor do mundo, mas no Brasil o líquido é consumido de forma considerável. (CARVALHO, 2006).

Por ser conhecida como uma bebida carbonada, a cerveja pode variar o seu teor alcoólico entre 3 e 67,5%. Cervejas com teor alcoólico acima de 14% são adquiridas por meio de importação ou ainda não estão disponíveis no Brasil. Unidade de medida para o teor alcoólico que se encontra nas cervejas é em % ABV, que significa álcool por volume (MAGRI, 2016).

A fermentação do mosto é realizada pela ação de leveduras do gênero *Saccharomyces*. Os álcoois aromáticos e os ésteres derivados dessa fermentação, são os elementos responsáveis pelas características sensoriais das cervejas. Assim a levedura que se vai utilizar no processo é de fundamental importância para conferir as características do produto final (ARRUDA et al., 2013).

Com base na Lei de Pureza, a cerveja deve ser constituída de quatro matérias primas básicas: água potável, o malte de cevada, o lúpulo e o fermento (levedura) (MORADO, 2009).

3.1.1 Água potável

Uma cervejaria consome em média de 370 à 1090 litros de água para cada 100 litros de cerveja produzido, com consumo ótimo de 600 litros de água por 100 litros de cerveja, sem levar em consideração a etapa da malteação e cultivo da cevada (KUNZE, 2001).

Cerca de 95% da composição da cerveja é água, dessa forma, a qualidade desse insumo esta diretamente relacionada com a qualidade do produto final (BOTELHO, 2009). Essa água deve seguir alguns requisitos como estar dentro dos padrões de potabilidade, possuir uma concentração de cálcio de aproximadamente 50 mg/L e apresentar uma alcalinidade inferior a 25 mg/L (DRAGONE; SILVA, 2010).

No tratamento e preparo da água cervejeira analisa-se uma série de parâmetros, dentre esses pode-se citar: turbidez, dureza, pH, concentração de matéria orgânica, ferro, nitrato, nitrito, sílica e zinco (JORGE, 2004; GOMES, 2010).

De uma forma geral, a água utilizada para produção de cerveja deve conter as características descritas no Quadro 1.

Quadro 1. Características da água de boa qualidade para fabricação de cerveja.

Parâmetro	Unidade	Especificação
Sabor	-	Insípida
Odor	-	Inodora
pH	pH	6,5-8,0
Turbidez	NTU	< 0,4
Matéria Orgânica	mg O ₂ /L	0 – 0,8
Dureza Total	mg CaCO ₃ /L	18 – 79
Cloretos	mg Cl/L	1 – 20
Sólidos Totais Dissolvidos	mg/L	50 – 150
Sulfatos	mg SO ₄ /L	1 – 30
Nitratos	mg NO ₃ /L	Ausente
Magnésio	mg Mg ⁺² /L	1 – 6
Cálcio	mg Ca ⁺² /L	5 – 22
CO ₂ Livre	mg CO ₂ /L	0,5 – 5

Fonte: Adaptado de LAZZARI, 2009.

3.1.2 Malte

A palavra malte refere-se a cereais (cevada, trigo, milho, aveia, entre outros) que sofreram um processo malteação, a fim de produzir enzimas no interior do grão de cevada que irão reduzir o amido presente em açúcares fermentáveis (KUNZE, 1999; PASSARELLI, 2008; SILVA, 2008).

Dentre uma variedade de cereais que pode ser malteado, a cevada é o mais utilizado na fabricação de cerveja por ser rica em amido que se convertem em açúcares, tais como glicose e maltose, e por possuir um elevado nível de proteínas que fornecem os aminoácidos necessários para o crescimento da levedura (PASSARELLI, 2008; OLIVEIRA, 2011). O processo de malteação pode ser resumido nas etapas de maceração, germinação e secagem.

A maceração consiste na molha da cevada, com o intuito de reter a umidade até que os grãos do cereal alcancem um teor de umidade entre 35 e 45%, além de percolar e limpar substâncias indesejáveis (TSCHOPE, 2001). Nessa etapa, o amido do cereal é convertido em fermentescíveis, aminoácidos e proteínas que serão indispensáveis para o processo fermentativo realizado pela levedura posteriormente (EVANGELISTA, 2012).

Na germinação, a semente de cevada se transforma em uma nova planta. O cereal é espalhado sobre uma superfície que pode ser de cimento, piso ou asfalto, elevando o percentual de umidade, além de fornecer oxigênio e calor suficiente (TSCHOPE, 2001). Nessa etapa são produzidas as enzimas utilizadas na produção de cerveja (KUNZE, 1999). O processo de germinação é interrompido para que sejam retirados os brotos que não germinaram. Em seguida os grãos são encaminhados para um forno, onde será feita a secagem (EVANGELISTA, 2012).

3.1.3 Lúpulo

O lúpulo é uma erva aromática pertencente à família canabináceas, assim como a maconha, porém não apresenta substâncias alucinógenas (CÂMARA, 2013). Sendo da espécie *Humulus lupulus*, é uma planta trepadeira de difícil cultivo, típico das regiões frias e dioicas, que possui florações masculinas e femininas. A substância de grande importância para fabricação da cerveja é a lupulina, que se encontra na parte feminina da flor, onde se encontra ricas glândulas amarelas que apresentam concentrações altas de resinas amargas e aromas que identificam e caracterizam a bebida. Além disso, facilitam a estabilidade da espuma e evitam o desenvolvimento de alguns microrganismos por meio de suas propriedades anticépticas,

umentando a estabilidade biológica da cerveja (KUCK, 2008). Essa lupulina pode ser comercializada normalmente *in natura*, pellets ou extratos (SILVA 2008; OLIVEIRA, 2011).

São especificados dois tipos de lúpulos importantes: o aromático e o amargo. Os lúpulos aromáticos são adicionados ao mosto nos últimos minutos de fervura, para conferir aroma a cerveja (OLIVEIRA, 2011). A Quadro 2 mostra a composição do lúpulo que se utiliza na indústria cervejeira.

Quadro 2. Composição do lúpulo usado nas cervejarias.

Composição química	Concentração (%)
Água	10,0
Resinas totais	15,0
Óleos essenciais	0,5
Taninos	4,0
Monossacarídeos	2,0
Pectina	2,0
Aminoácidos	0,1
Proteína bruta	15,0
Lípideo e ceras	3,0
Cinzas	8,0
Celulose, lignina, etc	40,4
Total	100,0

Fonte: Adaptado de EVANGELISTA, 2012.

3.1.4 Levedura

As leveduras são organismos unicelulares, pertencentes ao reino Fungi, que não realizam fotossíntese e se reproduzem de modo assexuado. Normalmente a reprodução é por gemulação ou brotamento e de forma rápida, são seres eucariontes e possuem uma parede celular rígida e suas dimensões são maiores do que as bactérias (OLIVEIRA, 2011).

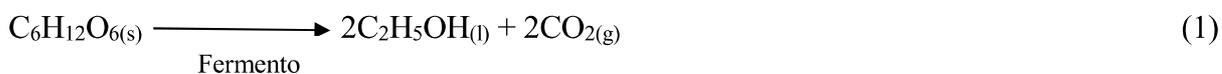
A faixa ótima de temperatura para o desenvolvimento das leveduras, variam de 26 a 35°C. O intervalo de pH ótimo varia de 4,5 a 5,5 (SANTOS, 2008). As leveduras são capazes de metabolizar com eficiência os constituintes presentes no mosto, que são ricos em açúcares

fermentáveis. A cepa mais utilizada para fabricação de cerveja é a *Saccharomyces cerevisiae*, levedura ascomicética gemulante típica, com células elípticas, que medem de 6-8 µm de comprimento por 15 µm de largura (CARVALHO, 2006). Esses microrganismos são os encarregados de transformar os açúcares fermentáveis que existem no mosto, em álcool, dióxido de carbono, ésteres, dentre outras substâncias responsáveis pelas características da cerveja (BOTTO, 2009).

3.2 ETANOL

O etanol também conhecido como álcool etílico de fórmula $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, é um líquido incolor, de odor aromático e característico, inflamável, de sabor ardente, miscível em água e compostos orgânicos (ZARPELON, 2013; MATOSO, 2013). Com relação a suas propriedades físicas, apresenta um ponto de ebulição de 78,3 °C (1 atm), um ponto de fusão de -117 °C (1 atm) e uma densidade de 0,789 g.mL⁻¹. É o álcool mais utilizado na fabricação de todas as bebidas alcoólicas (JUNIOR, 2012).

Na preparação das bebidas alcoólicas se faz necessário a presença de açúcares que podem ser obtidos de fontes diversas, dentre elas a mais utilizadas são os grãos. A síntese do etanol pode se dar a partir de três processos: por via sintética, destilatória ou fermentativa, que é a mais utilizada (MATOSO, 2013). No processo fermentativo, o fermento é o ingrediente que contém as enzimas que são capazes de desencadear uma série de reações, onde o açúcar é convertido em etanol e dióxido de carbono, como expressado na equação 1 (JUNIOR, 2012; MATOSO, 2013):

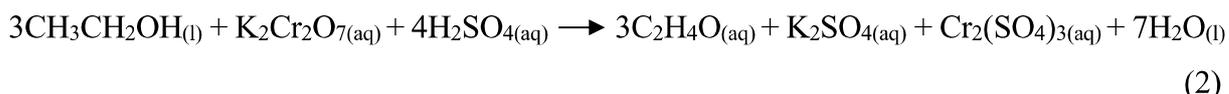


Com o processo de fermentação, só há produção de bebidas teor de etanol entre 12-15%, pois em concentrações elevadas as enzimas do fermento são inativadas. Dessa forma, para produzir bebidas com um teor alcoólico maior, a solução deve passar por um processo de destilação (JUNIOR, 2012).

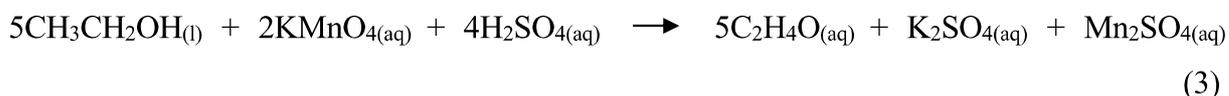
O etanol é aplicado como solvente de tintas, vernizes, perfumes, aromatizantes, material para linha de sínteses, recristalizações e solvente de reações químicas. É um líquido tóxico, no entanto, é menos tóxico que o metanol. Poder ser hipnótico, induzir ao sono, o etanol diminui a atividade na parte superior do cérebro, ainda que dê impressão de ser estimulante (REIS, 1993; SOLOMONS, 2001; JUNIOR, 2012).

Os álcoois de uma forma geral podem ser oxidados por agentes oxidantes, onde os que se destacam são o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) e o permanganato de potássio ($KMnO_4$), em presença de ácido sulfúrico. Independente de qual desses dois agentes oxidantes for empregado, em ambas as reações haverá a formação do aldeído acético, como expressado nas equações 2 e 3 (JUNIOR, 2012):

Reação de etanol e dicromato de potássio



Reação de etanol e permanganato de potássio



O desenvolvimento das reações pode ser observado pelo odor característico do aldeído formado e pela mudança de coloração. O dicromato de potássio, em meio ácido, é reduzido ao sal de cromo (III) em temperatura ambiente de coloração verde (CARDOSO, 2006; JUNIOR, 2012).

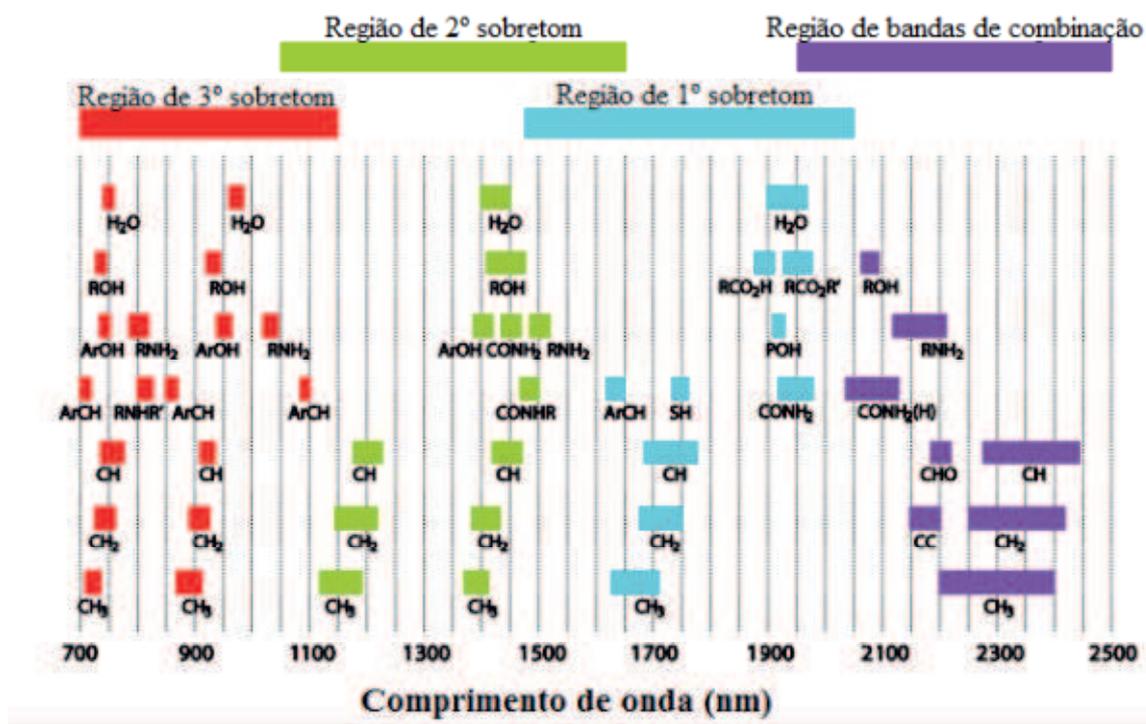
3.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR)

A espectroscopia NIR é definida como um tipo de espectroscopia vibracional que emprega energia em fótons ($h\nu$) na faixa de $2,65 \times 10^{-19}$ a $7,96 \times 10^{-20}$ Jaules (J) (PASQUINI, 2003). A região do infravermelho alonga-se desde o fim da região espectral do visível (700 nm), até o início da região espectral do infravermelho fundamental (2500 nm) (METROHM, 2013). A faixa espectral do infravermelho pode ser subdividida em três faixas distintas, denominadas de acordo com a sua distância em relação ao visível (PEREIRA, 2011; OLIVEIRA, 2018):

- Infravermelho longo (FIR, do inglês *Near Infrared*): $4 \times 10^4 - 10^6$ nm;
- Infravermelho médio (MIR, do inglês *Middle Infrared*): $2500 - 4 \times 10^4$ nm;
- Infravermelho próximo (NIR, do inglês *Far Infrared*): $780 - 2500$ nm.

A radiação que é emitida pelo NIR excita as moléculas da matriz em estudo, levando-as a manifestar movimentos harmônicos e combinações de vibrações moleculares de níveis energéticos mais elevados, admitindo uma menor absorbância de radiação incidente, o infravermelho próximo, adentrando em amostras opacas, provocando vibrações moleculares em elétrons externos, sem necessidade de preparação prévia, modificação de matriz ou diluição do material (CIENFUEGOS & VAITSMAN, 2000). Os espectros na região do NIR são resultantes das combinações e sobreposições dos grupos funcionais -CH, -OH, -NH, e -SH, fornecendo uma variedade de informações a respeito das interações inter e intramoleculares de grupos funcionais orgânicos (PASQUINI, 2003). Na Figura 2 têm-se as posições relativas das bandas para as absorções mais proeminentes na região do NIR.

Figura 2. Posições das principais bandas de análise na região do NIR.



Fonte: METROHM, 2013

As bandas de absorção do NIR são sobrepostas e amplas e diferente do que ocorre no infravermelho médio, o infravermelho próximo fornece bandas de fraca intensidade, diminuindo de 10 a 100 vezes. Além de fornecer informações sobre a composição química da amostra, os espectros do NIR também relacionam informações físicas da mesma (SIMÕES, 2008)..

Mesmo apresentando uma baixa absorvidade, consegue-se uma alta profundidade de penetração. Dessa forma, viabiliza análises diretas de fortes absorventes e permite o nivelamento de amostras com espalhamento, como sólidos ou líquidos turvos, nos modos de refletância ou transmitância sem a necessidade pré-tratamento. Em síntese, a maior dificuldade para o uso da espectroscopia NIR é que seus espectros se apresentam de forma complexa, sendo assim difícil de interpretar e relacionar adequadamente o número de sinais obtidos no equipamento com as características da amostra devido a sua natureza (sobreposição e bandas de combinação de níveis vibracionais de energia) (BESSANT, 2002; CHAU, 2004; SIMÕES, 2008).

Nesse contexto, a fim de conseguir solucionar essa problemática, surge uma nova área da química, a Quimiometria, que é capaz de converter o sinal analítico obtido por técnicas instrumentais modernas, em informações úteis de métodos apropriados (FERREIRA, 2015).

3.4 QUIMIOMETRIA

A Quimiometria é uma das áreas da química analítica, que utiliza de ferramentas estatísticas e matemáticas para tratar dados químicos de forma a extrair maior quantidade de informações e melhores resultados analíticos (JÚNIOR, 2011).

A técnica foi desenvolvida por volta dos anos 60, e até os dias atuais já foram desenvolvidos muitos métodos que tornaram possível a interpretação e o processamento de dados que antes seriam impossíveis analisados (SIMÕES, 2008; JÚNIOR, 2011). Um exemplo disso é a utilização da quimiometria aplicada a dados de espectroscopia NIR, os quais não poderiam ser facilmente utilizados como informação analítica por possuírem bandas largas, sobrepostas e pouco intensas.

A quimiometria se subdivide em três áreas principais: planejamento e otimização de experimentos, calibração multivariada e reconhecimento de padrões (GELADI, 2003).

3.4.1 Calibração multivariada

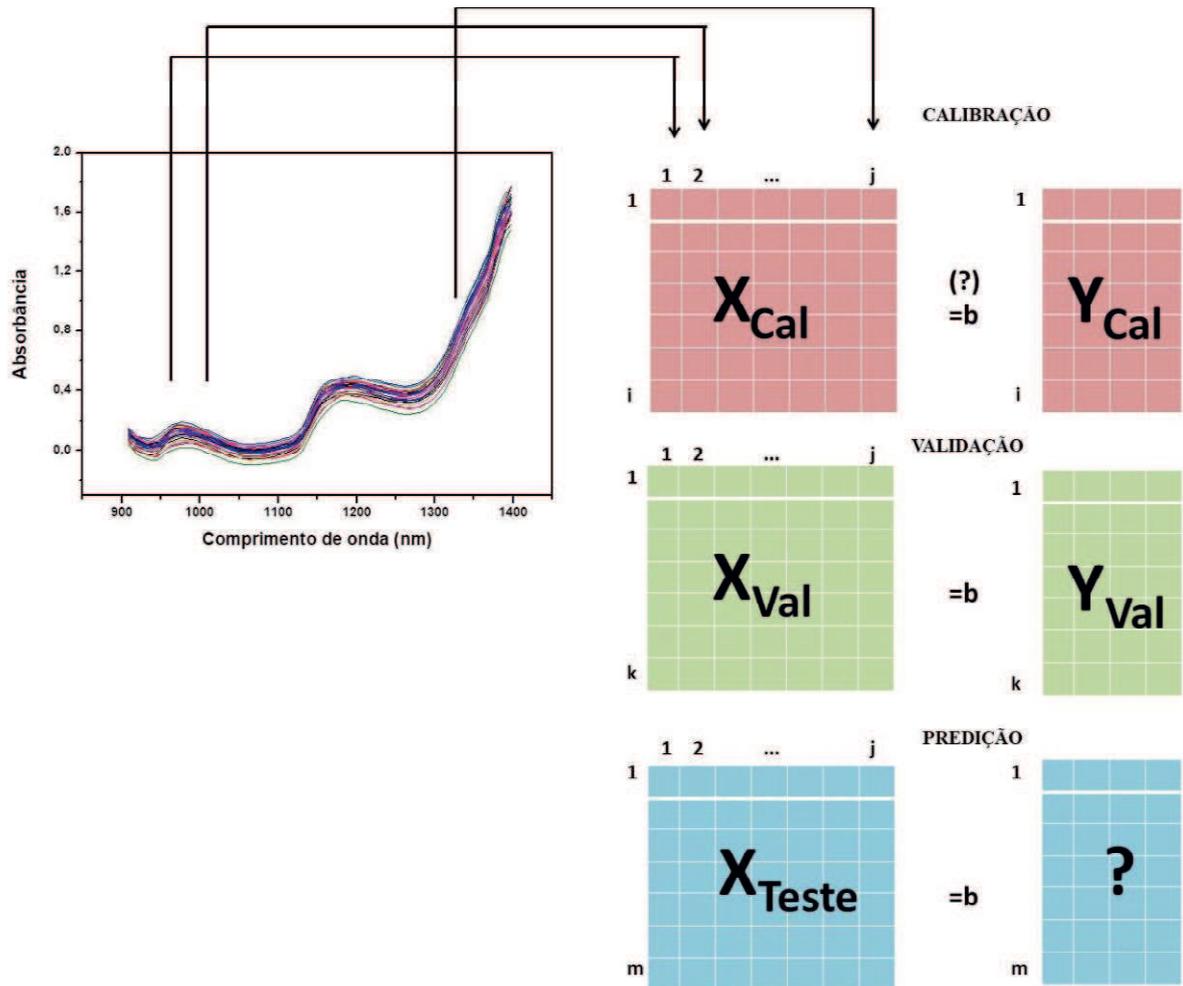
A calibração multivariada pode ser descrita como um conjunto de técnicas que consiste na construção de modelos matemáticos empíricos para relacionar dados da saída de um instrumento (variável independente) às concentrações dos analitos ou a outras propriedades das amostras (variável dependente) (BEEB, 1998; OLIVEIRA, 2018).

Diferentemente da calibração univariada, onde se relaciona o sinal analítico em apenas um comprimento de onda com a propriedade de interesse, na análise multivariada os modelos são construídos utilizando uma faixa de comprimentos de onda trazendo mais informação e consequentemente mais robustez aos modelos (PEREIRA, 2011).

O processo de calibração multivariada consiste em 3 etapas: a calibração, a validação e a predição. Na etapa de calibração, um conjunto de amostras é utilizado para determinar a relação entre as respostas instrumentais (matriz X) e a propriedade de interesse determinada pelo método de referência (vetor Y) (GUIMARÃES, 2017; OLIVEIRA, 2018). O modelo de calibração consiste em uma função matemática (f) que relaciona dois agrupamentos de variáveis, onde um grupo é denominado dependente representada pelo vetor y , e outro é denominado independente, representado pela matriz X (SIMÕES, 2008; JÚNIOR, 2011). Para a elaboração de um modelo de calibração, o conjunto de dados utilizados para essa finalidade é chamado de conjunto de calibração. Os parâmetros do modelo são designados coeficientes de regressão (b) determinados matematicamente a partir de dados experimentais. Após a construção do modelo o mesmo deve ser testado em relação a capacidade preditiva, o que pode ser realizado pela validação interna ou externa, a partir do conjunto de amostras de validação. Nesse conjunto, se utiliza amostras onde suas variáveis dependentes são conhecidas para que seja possível realizar uma comparação dos valores preditos pelo modelo e os valores conhecidos previamente através de uma metodologia padrão, o que permitirá a avaliação sobre o desenvolvimento do modelo de calibração proposto. Atestada a sua capacidade preditiva, a partir do conjunto de validação, o modelo pode ser utilizado para prever a propriedade de amostras, nomeado conjunto de predição (FONSECA, 2011).

Na calibração multivariada os dados são organizados conforme a Figura 3, ilustrada a partir da análise de dados espectroquímicos. Os valores de absorvância e comprimento de onda correspondem a matriz X (variáveis independentes), e as concentrações das amostras, determinadas pelo método de referência, correspondem ao vetor Y (variáveis dependentes) (JÚNIOR, 2011).

Figura 3. Organização de dados na calibração multivariada.



Fonte: Adaptado de SIMÕES, 2008

Espectros de “ i ” amostras do conjunto de calibração e de “ k ” amostras de validação são obtidos em “ j ” valores de comprimento de onda diferentes, formando uma matriz $[X_{cal} (i \times j)]$ para a fase de calibração e outra matriz $[X_{val} (k \times j)]$ para a fase de validação. Duas matrizes, $Y_{cal} (i \times q)$ e $Y_{val} (k \times q)$ também são formadas com “ q ” colunas, relacionadas aos diferentes componentes presentes nas amostras e cujos valores de concentração são conhecidos geralmente por métodos de análise de referência. (SIMÕES, 2008; GUIMARÃES 2017).

Para a construção do modelo de calibração multivariada pode-se utilizar vários métodos de regressão, dentre esses os mais utilizados são: a regressão por componentes principais (do inglês, *Principal Component Regression – PCR*), a regressão linear múltipla (do inglês, *Multiple Linear Regression – MLR*), a regressão por mínimos quadrados clássicos (do inglês, *Classical Least Squares - CLS*) e a regressão por mínimos quadrados parciais (do inglês, *Partial*

Least Squares – PLS) a qual é objeto deste trabalho (SIMÕES,2008; FONSECA, 2011; GUIMARÃES, 2017).

3.4.1.1 Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS)

A regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR) ou PLS foi desenvolvido por Herman Wold por volta de 1964, sendo considerado o método de regressão mais aplicado para a construção de modelos de calibração multivariada a partir de dados de primeira ordem (FONSECA, 2011; GIMALHÃES, 2017). Para se construir o modelo, o método utiliza tanto as informações da matriz de dados espectroscópicos (matriz X), como as informações da matriz de concentrações (matriz Y) (SIMÕES, 2008).

O PLS expande o conceito do modelo inverso (propriedade com função da resposta instrumental) trocando as variáveis originais por um sub-conjunto truncado de variáveis, chamado de variáveis latentes (VL) (BEEB, 1998; OLIVEIRA, 2006). Considerando um caso geral para a determinação de mais de uma espécie de interesse, as matrizes X_{cal} e Y_{cal} (Figura X) são decompostas em suas matrizes de pesos e escores (SIMÕES 2008; GUIMARÃES 2017) respectivamente, como mostrado nas Equações 4 e 5.

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^T + \mathbf{E} \quad (4)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{UQ}^T + \mathbf{F} \quad (5)$$

Onde \mathbf{T} e \mathbf{U} são as matrizes dos escores; \mathbf{P} e \mathbf{Q} são as matrizes dos pesos das matrizes \mathbf{X} e \mathbf{Y} , respectivamente. O \mathbf{E} representa a matriz de resíduos espectrais, enquanto que, \mathbf{F} representa a matriz dos resíduos de concentração (SIMÕES, 2008).

Na decomposição em escores e pesos pode ser empregados diferentes tipos de algoritmos, mas no final eles produzem resultados similares. Como uma representação desses algoritmos tem-se o NIPALS (do inglês, *Non-linear Iterative Partial Least Squares*) (GELADI, 1986; SIMÕES, 2008).

O modelo PLS final consiste em relacionar linearmente os *scores* da matriz X com os *scores* da matriz Y , de acordo com as Equações 6 e 7, respectivamente.

$$\mathbf{U} = \mathbf{BT} + \mathbf{G} \quad (6)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{B}\mathbf{T}\mathbf{Q}^T + \mathbf{H} \quad (7)$$

Em que \mathbf{B} é a matriz dos coeficientes de regressão; \mathbf{G} é a matriz de resíduos dos escores e \mathbf{H} a matriz de resíduos de concentração.

3.4.2 Pré-processamentos dos dados

Independentemente de como os espectros são adquiridos, o pré-processamento dos mesmos é normalmente realizado a fim de remover da informação espectral tendências que não estão relacionadas a composição química da amostra e preparar os dados para os processamentos seguintes (GOWEN et al., 2007; IQBAL et al., 2013). Os pré-processamentos espectrais consiste de varias técnicas, dentre elas a correlação polinomial de linha de base, derivadas de Savitzky-Golay, centralização da média e normalização da variância (AMIGO et al., 2013).

As técnicas de pré-processamentos são muito utilizadas para solucionar problemas típicos referentes às variações comumente observadas nos conjuntos de espectros, e dessa forma, aumentar a qualidade do resultado final da análise (SILVA, 2013).

As flutuações sistemáticas que são geradas por conta da dispersão da luz, principalmente em amostras sólidas, são a fonte mais comum relacionadas às variações presentes nos dados NIR. Para corrigir esse problema, utilizam-se técnicas clássicas tais como (RINNAN et al., 2009):

- Variação Normal Padrão (SNV, do inglês *Standard Normal Variate*);
- Correlação Multiplicativa de Espalhamento (MSC, do inglês *Multiplicative Scattering Correction*).

O MSC é o método que foi proposto pela primeira vez por Martens, H.; Jensen, S. A.; Geladi (1983) e depois adaptado por Geladi; Macdougall; Martens (1985). Esse método consiste em corrigir o nível de dispersão de todos os espectros em um conjunto de dados para efeito multiplicativo (inclinação) e aditivo (offset). Essa correção de dispersão é feita em duas etapas: 1) os coeficientes de correção são estimados; e 2) o espectro original é corrigido (RINNAN et al., 2009). Os passos 1 e 2 executados respectivamente são mostrados nas Equações 8 e 9.

$$\mathbf{x}_{org} = \mathbf{b}_0 + \mathbf{b}_{ref,1} * \mathbf{x}_{ref} + \mathbf{e} \quad (8)$$

$$\mathbf{x}_{corr} = \frac{\mathbf{x}_{org} - \mathbf{b}_0}{\mathbf{b}_{ref,1}} = \mathbf{x}_{ref} + \frac{\mathbf{e}}{\mathbf{b}_{ref,1}} \quad (9)$$

onde \mathbf{x}_{org} se refere a matriz dos espectros medidos, e \mathbf{x}_{ref} é o espectro de referência usado para processar todo o conjunto de dados, \mathbf{e} é a matriz residual, \mathbf{x}_{corr} é a matriz com os espectros corrigidos, \mathbf{b}_0 e $\mathbf{b}_{ref,1}$ são parâmetros escalares que variam de acordo com a amostra (RINNAN et al., 2009).

Já no SNV, cada espectro individual, ou seja, de cada amostra, é concentrado e dividido pelo seu desvio padrão, estabelecendo uma escala comum para todos os espectros, com resultados equivalentes a MSC. A diferença mais relevante é que o SNV padroniza cada espectro usando apenas os dados desse espectro em particular (Equação 10), enquanto que o MSC usa o espectro médio calculado do conjunto de dados:

$$\mathbf{x}_{corr} = \frac{\mathbf{x}_{org} - \mathbf{a}_0}{\mathbf{a}_1} \quad (10)$$

onde \mathbf{a}_0 é o valor médio do espectro a ser corrigido e \mathbf{a}_1 é o desvio padrão do espectro de cada amostra (BALANGE, 2017).

As derivadas de Savitzky Golay (SG), proposta em 1964, são ferramentas matemáticas muito utilizadas para correção de efeitos aditivos e multiplicativos de dados espectrais, ou seja, além de resolver os problemas de linha de base, também suaviza os espectros, podendo assim evidenciar sinais que não são muito perceptíveis (SILVA, 2013).

A primeira derivada (1D) tem como função remover apenas os efeitos de linha de base, chamado de efeito aditivo, e assim a inclinação torna-se um termo constante; já a segunda derivada (2D) remove tanto o espalhamento aditivo quanto o multiplicativo, simultaneamente, o que ajuda na separação dos picos sobrepostos e destaca características especiais (BARBIN et al., 2012b).

3.4.3 Algoritmos para seleção de variáveis e amostras

Uma das maiores dificuldades que envolve a calibração multivariada é a complexidade de dados matriciais obtidos que refletem a natureza das amostras reais. Dessa forma, a seleção de amostras e de variáveis que representem a variabilidade do conjunto de dados é importante para o desenvolvimento de modelos multivariados precisos e robustos (ARAUJO, 2001; ANDERSEN, 2010; GUIMALHÃES, 2017)

A análise multivariada tem como objetivos a redução de dados ou simplificação estrutural, classificação e agrupamento de objetos similares, investigação das dependências entre variáveis, predição, e formulação e teste de hipóteses (JOHNSON, 2014; ALVES, 2017).

Dessa forma, a divisão do conjunto original de amostras em subconjuntos de calibração e validação tem sido uma etapa crucial para a construção de modelos de calibração multivariada (MARTENS, 2000). Nesse contexto, vários algoritmos para seleção de variáveis foram desenvolvidos. Como exemplo de algoritmo tem-se o “branch and bound”, muito utilizado para otimização combinatória, o método dos mínimos quadrados parciais por intervalo (iPLS), transformada wavelet e o algoritmo genético (*Genetic Algorithm - GA*) (ARAUJO, 2001).

O GA, tem sido uma alternativa bastante viável e flexível quando se refere a estratégias de seleção de variáveis, mas, devido à sua natureza estocástica, os resultados gerados pelo o mesmo pode não ser reproduzíveis. Como uma alternativa para contornar esse problema, surge o algoritmo das projeções sucessivas (ASP), que possui natureza determinística, ou seja, os resultados da seleção de variáveis feita por esta técnica são sempre reproduzíveis (SIMÕES, 2008).

3.4.3.1 Algoritmo de projeções sucessivas (APS)

Desenvolvido por Araújo et al. (ARAUJO, 2001), o algoritmo APS é considerado um método de seleção direta, ou seja, começa com um comprimento de onda e vai incorporando novos comprimentos de onda a cada iteração, até que um número especificado N de comprimentos de onda tenha sido atingido. Esse algoritmo tem como objetivo selecionar comprimentos de onda cujo conteúdo de informações seja minimamente redundante, para resolver problemas de multicolinearidade (GIMALHÃES, 2017).

3.4.3.2 Teste de incerteza de Martens (*Jack – Knife*)

O teste de incerteza de martens é um método de teste de significância implementado no software The Unscrambler®. O conceito desse teste é baseado na validação cruzada, princípio Jack-Knifing e gráficos de estabilidade, tendo como objetivo avaliar a estabilidade dos resultados de PCA ou Regressão (MARTENS, 2000).

Esse teste é realizado durante a etapa de validação cruzada do modelo, podendo ser aplicado a modelos PLS, PCR ou PCA com validação cruzada completa ou segmentada. Esta ferramenta permite a estimativa da estabilidade do modelo, a identificação de amostras ou variáveis perturbadoras e a seleção das variáveis espectrais (X) significativas. No teste de incerteza de Martens se analisa a incerteza dos parâmetros do modelo individual, em cada segmento de validação cruzada é obtido um conjunto de estimativas de parâmetros do modelo (GUIMALHÃES, 2017).

3.4.3.3 Kennard-Stone (*KS*)

Para se construir modelos de calibração multivariada é necessário que se tenha um subconjunto representativo a partir de um conjunto grande de amostras. Dessa forma, uma alternativa simples e frequentemente empregada para esse fim, é o método de seleção aleatória (SR) que emprega a distribuição estatística do conjunto inteiro na extração do grupo de dados do conjunto maior. No entanto, este método não garante a representatividade do conjunto de dados, nem previne contra possíveis problemas de extrapolação. Uma alternativa atrativa para contornar os problemas apresentados pelo RS é o algoritmo Kennard-Stone (KS) que faz a seleção das amostras com base em suas distâncias (SIMÕES, 2008; SOUZA, 2011).

O objetivo do KS é selecionar um subconjunto representativo de um conjunto de N amostras. Com o intuito garantir uma distribuição uniforme de tal subconjunto ao longo do espaço de dados **X** (resposta instrumental), o KS segue um procedimento por etapas no qual novas seleções são tomadas em regiões do espaço longe das amostras já selecionadas. Para isto, o algoritmo emprega as distâncias Euclidianas $d_{\mathbf{x}}(\mathbf{p},\mathbf{q})$ entre os **x**-vetores de cada par (p,q) de amostras calculadas como mostra a equação 5 (GALVÃO, 2005):

$$d_{\mathbf{y}}(\mathbf{p},\mathbf{q}) = \sqrt{(y_{\mathbf{p}} - y_{\mathbf{q}})^2} = |y_{\mathbf{p}} - y_{\mathbf{q}}|; \mathbf{p} \text{ e } \mathbf{q} \in [1, N] \quad (5)$$

3.4.2.4 Algoritmo SPXY

Proposto por Galvão et al., 2005, o algoritmo SPXY (do inglês: *Sample set Partitioning based on joint \mathbf{X} - \mathbf{y} distances*), é um método alternativo para a seleção dos conjuntos de calibração e predição. Sendo uma extensão do KS, o algoritmo SPXY leva em consideração tanto as diferenças tanto da matriz \mathbf{X} quanto a do vetor \mathbf{y} no cálculo das distâncias e obter uma representatividade adequada nos subconjuntos dos dados.

4 METODOLIGIA

4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisa em Ciências Ambientais (LAPECA) do localizado no Centro de Ciência e Tecnologia (CCT) do campus I da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Neste trabalho foram analisadas as bebidas alcoólicas mistas a base de cerveja com sabor cítrico e teor alcóolico rotulado de 7,9% ABV. Os produtos comerciais de 4 lotes distintos da mesma bebida, foram adquiridas em estabelecimentos comerciais na cidade de Campina Grande, PB. Um dos lotes comerciais da bebida foi utilizado como base para produzir amostras com teor de álcool (%ABV) inferior e superior ao rotulado nas amostras comerciais, pois para se construir um bom modelo de calibração é necessário que se possua amostras que apresentem variabilidade na faixa do parâmetro estudado, neste caso a % ABV da bebida alcoólica mista. A faixa de trabalho variou de 1,58 – 17,11 %ABV como mostra a Tabela 1.

Para obter amostras com concentração inferior ao valor rotulado, ou seja 7,9%ABV, preparou-se diluições da cerveja base, adicionando-se quantidades adequadas de água deionizada utilizando-se uma micropipeta, de acordo com os valores descritos no anexo 1.

Já para ampliar os valores de %ABV foi preparada uma solução estoque composta por cerveja e etanol PA 99,8% (8mL: 2mL). Aliquotas desta solução estoque foram tomadas com o auxílio de uma micropipeta e um volume adequado de água foi adicionado para se obter as concentrações desejadas, a %ABV para as amostras obtidas estão descritas no anexo 2.

Um total de 25 amostras, sendo 14 diluições e 11 fortificações (tabela 1) foi obtido. Todos os 4 lotes comerciais foram utilizados para a etapa de predição. Deste modo, o conjunto de calibração/validação interna foi composto por 25 amostras e o conjunto de predição por 4 amostras.

Tabela 1. Soluções de diluições e adições de álcool P.A. a bebida alcóolica mista a base de cerveja.

AMOSTRAS	% ABV	AMOSTRAS	% ABV
D ₁	1,58	A ₁	8,0
D ₂	1,75	A ₂	10,0
D ₃	1,97	A ₃	12,0
D ₄	2,25	A ₄	13,0
D ₅	2,63	A ₅	15,75
D ₆	3,16	A ₆	16,0
D ₇	3,95	A ₇	16,19
D ₈	4,5	A ₈	16,65
D ₉	5,0	A ₉	16,72
D ₁₀	5,5	A ₁₀	17,05
D ₁₁	6,0	A ₁₁	17,11
D ₁₂	6,5		
D ₁₃	7,0		
D ₁₄	7,5		

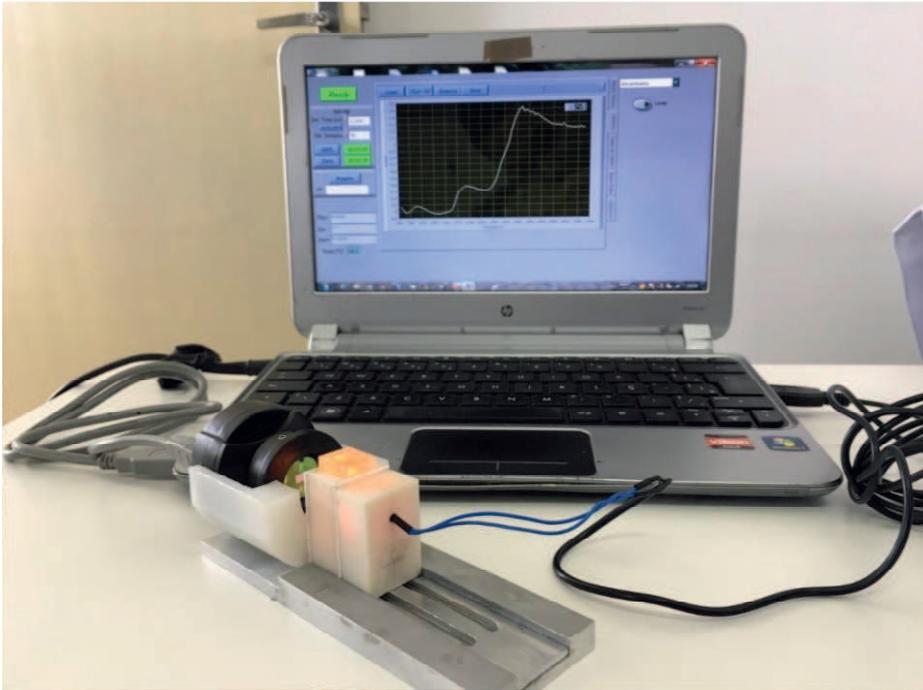
A: Adição de álcool; **D:** Diluição em água deionizada

Fonte: Dados da pesquisa, 2018

4.3 ANÁLISE DA ESPECTROSCOPIA NIR

Os espectros de absorvância para as diferentes soluções foram obtidos com o auxílio do espectrômetro portátil MicroNirTM 1700 Spectrometer fabricado pela JDSU (Estados Unidos) na faixa espectral de 900 nm a 1650 nm, com resolução de 12,5 nm. Foi utilizada uma cubeta de quartzo de 1,003 cm e um acessório para líquidos (Figura 4).

Figura 4. MicroNir portátil utilizado para registrar os espectros.

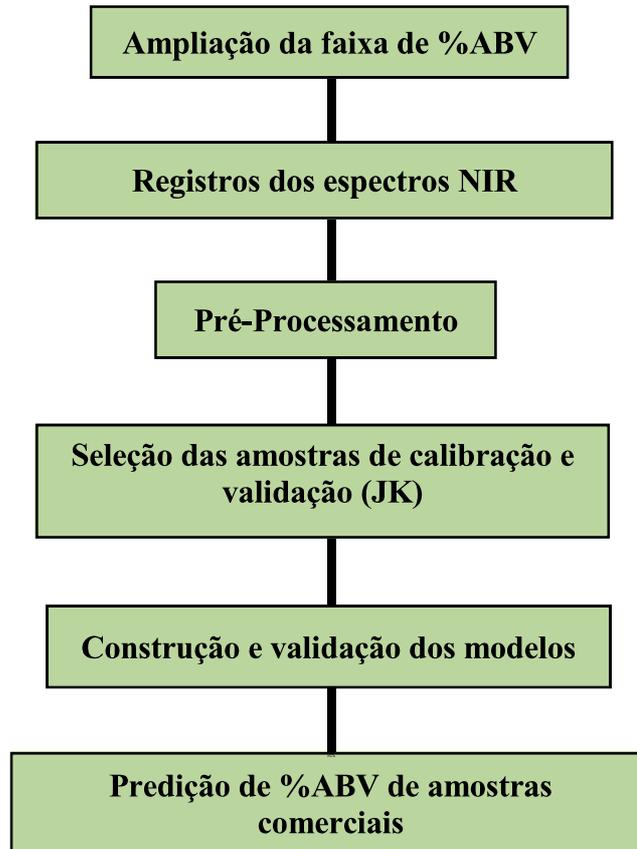


Fonte: Dados da pesquisa, 2018

4.4 CONSTRUÇÃO E VALIDAÇÃO DOS MODELOS

Para a validação e construção dos modelos quimiométricos, utilizou-se o software The Unscrambler® v9.1 da CAMO Process AS, que também foi utilizado para a realização dos pré-tratamentos dos espectros e seleção dos coeficientes Jack Knife. As etapas empregadas na construção dos modelos multivariados estão descritas no fluxograma apresentado na Figura 5.

Figura 5. Fluxograma das etapas para a construção dos modelos de calibração multivariada.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

4.4.1 Etapas para a construção dos modelos

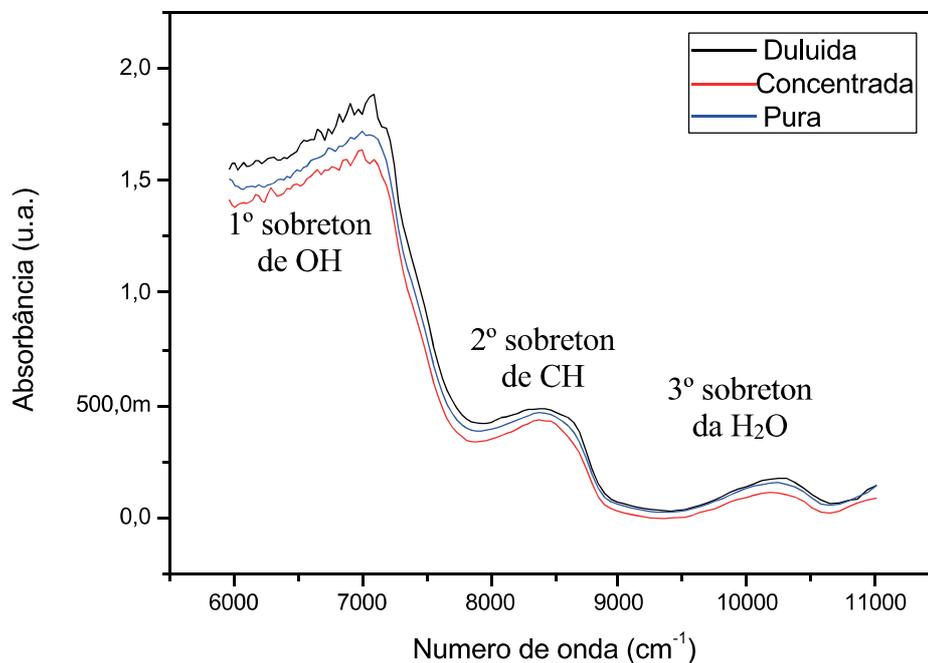
Depois da obtenção dos registros dos espectros no NIR, selecionou-se a faixa de trabalho eliminando regiões ruidosas ou com valores de absorção maiores de 1,5 u.a. Isto pode ser realizado a partir da observação dos espectros brutos ou pré-processados. Neste trabalho, optou-se por a cada pré-processamento espectral, aplicado ao espectro completo, selecionar a faixa de trabalho, com base na observação dos espectros. Diversas técnicas de pré-processamento foram testadas, tais como suavização (com diversas janelas), MSC, SNV, primeira derivada (com diversas janelas) e a combinação destes. Os modelos de calibração foram construídos utilizando os espectros das amostras produzidas através da diluição da bebida base e de adições de álcool a mesma como matriz X os valores de %ABV (vetor y) foram calculados de acordo com as diluições e adições com álcool etílico. A etapa de validação interna foi feita por validação cruzada completa (*full cross validation*) e a etapa de predição foi realizada com as amostras comerciais. Apenas os melhores modelos de calibração foram

aplicados às amostras comerciais. A avaliação da capacidade preditiva dos modelos construídos foi realizada a partir da análise do número de variáveis latentes (VL) utilizados na construção dos modelos, valores da raiz quadrada do erro quadrático de calibração (RMSEC), validação cruzada (RMSECV) e predição (RMSEP), além da correlação (r) e coeficiente de determinação (R^2). Um teste t de Student foi utilizado para verificar a significância estatística dos resultados obtidos na etapa de predição.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura 6 expõe o perfil os espectros completos da bebida mista (azul), de uma determinada diluição da cerveja base (preto) e uma determinada diluição da solução estoque (vermelho) que deram origem as amostras do conjunto de calibração. Os espectros de todas as amostras sejam as diluições, fortificações ou amostras puras, são semelhantes. A região de 7220.22 a 6079.03 cm^{-1} se apresenta como uma região ruidosa com absorções superiores a 1,5 u.a, podendo levar a modelos com baixa capacidade preditiva. Esta região é relativa a absorção do primeiro sobreton do grupo hidroxila da água, a qual é abundante no tipo de amostra estudada. A capacidade preditiva de modelos construído incluindo e excluindo esta região espectral foi testada. A região em torno de 10000.00 cm^{-1} é relacionada ao terceiro sobreton da água e a região em torno de 8500.00 cm^{-1} relaciona-se ao segundo sobreton de CH que pode estar relacionado à sacarose do mosto.

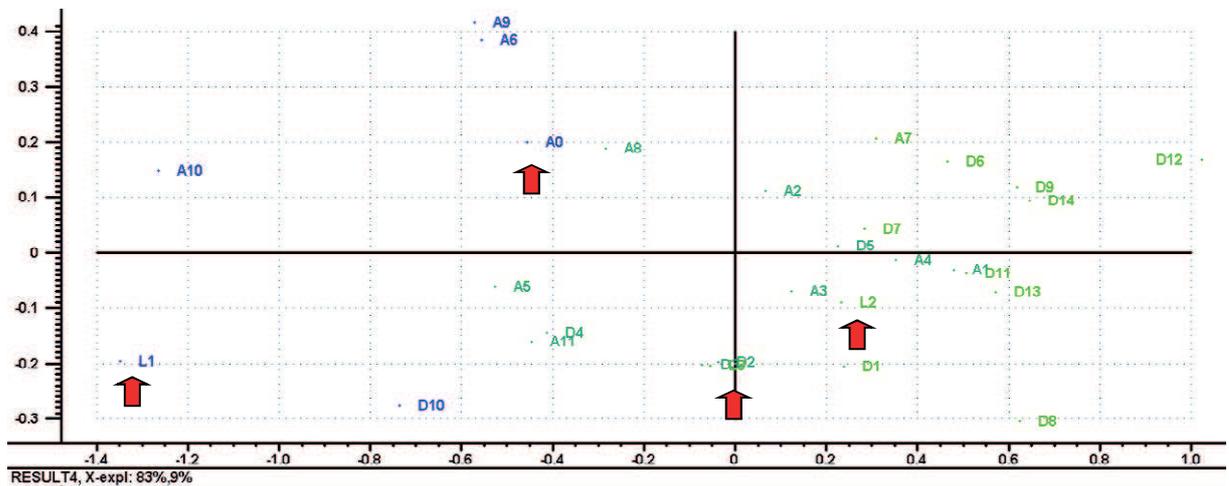
Figura 6. Espectros das amostras: pura, diluída e concentrada.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

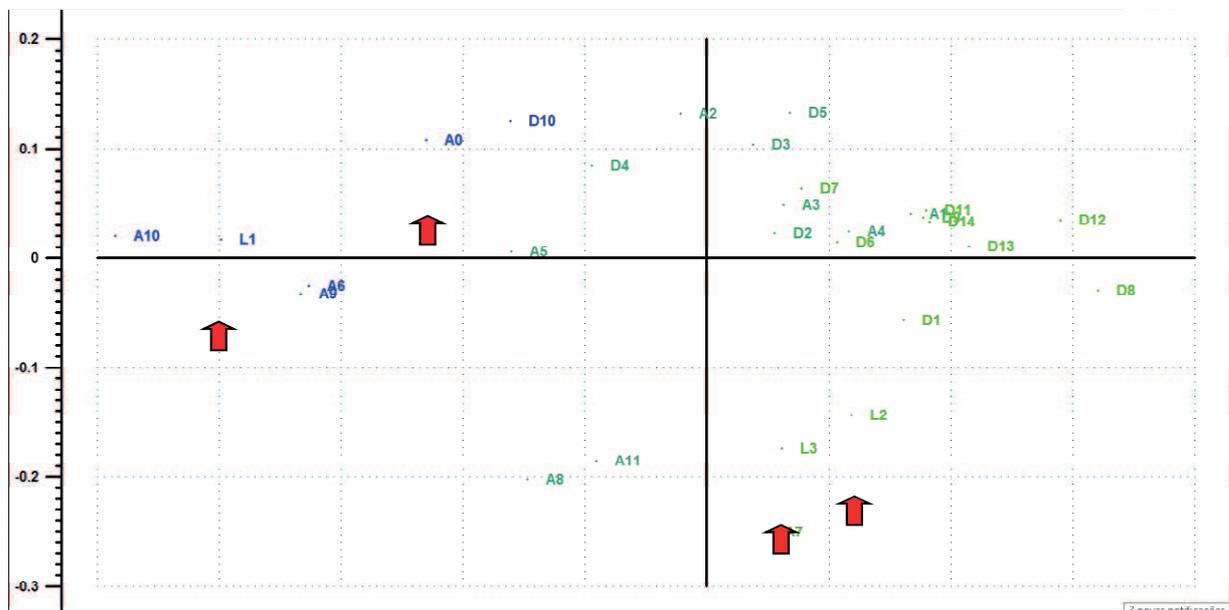
As Figuras 7a e 7b demonstram as análises de componentes principais de todas as amostras. As amostras comerciais puras (A0, L1, L2 e L3) estão indicadas nas figuras 6a. (toda a faixa espectral) e 6b. (excluindo a faixa de maior ruído espectral) com uma seta vermelha.

Figura 7a. Análise de componentes principais de toda a faixa espectral



Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Figura 7b. Análise de componentes principais excluindo a faixa de maior ruído espectral



PC: Componente principal

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

A partir dos gráficos de escores de PC1 vs PC2 não é possível observar o agrupamento das amostras comerciais, bem como das diluições ou concentrações, o que indica que não há

diferenças em relação as amostras reais e as diluições e concentrações. Isto é, a adição de água deionizada ou álcool etílico não mudou o perfil espectral das amostras.

A etapa de pré-processamento dos espectros tem como intuito remover qualquer informação que não esteja relacionada com o problema em estudo, como por exemplo o ruído espectral, que podem ser originados por vários fatores como: instabilidade da corrente elétrica, problema de espalhamento da radiação devido a diferenças de granulometria ou ainda pela variabilidade das propriedades físicas da amostra. Com o objetivo de eliminar ou minimizar informações não relacionadas ao parâmetro estudado, diversos pré-processamentos foram testados e seus resultados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Pré-processamentos espectrais e figuras de mérito para %ABV.

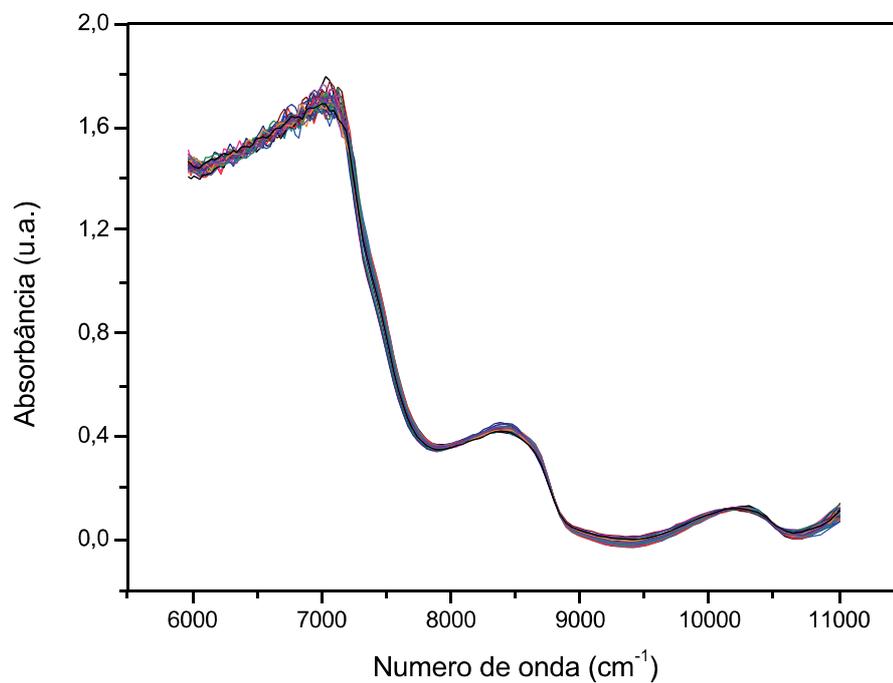
Pré-processamento	VL	Etapa	RMSE (%ABV)	Correlação(r)	R ²
B	5	Cal	1,29	0,9734	0,947
		Val	3,00	0,8510	0,7379
BF	4	Cal	1,41	0,9679	0,9368
		Val	2,22	0,9187	0,8558
BFJK*	4	Cal	1,56	0,9610	0,9237
		Val	1,98	0,9363	0,8855
SJ9P2	5	Cal	2,24	0,9173	0,8414
		Val	3,21	0,8294	0,6970
SJ9P2F	6	Cal	1,58	0,9599	0,9216
		Val	2,53	0,8973	0,8134
SJ9P2/MSC	3	Cal	2,29	0,9135	0,8344
		Val	3,05	0,8441	0,7291
SJ9P2F/MSC	3	Cal	2,25	0,9159	0,8388
		Val	2,87	0,8627	0,7607
MSC	3	Cal	1,60	0,9589	0,9194
		Val	3,02	0,8465	0,7339
MSCF	2	Cal	2,42	0,9027	0,8149
		Val	2,82	0,8664	0,7680
SNV	3	Cal	1,60	0,9589	0,9195
		Val	3,02	0,8465	0,7339
SNVF	3	Cal	2,02	0,9335	0,8714
		Val	2,82	0,8676	0,7694
SNVFJK	2	Cal	2,41	0,9039	0,8171
		Val	2,76	0,8727	0,7786
D1P2J5	2	Cal	2,34	0,9094	0,8271
		Val	3,58	0,7721	0,6258
D1P2J5F	5	Cal	1,46	0,9655	0,9322
		Val	2,86	0,8663	0,7625
D1P2J5FJK*	2	Cal	2,09	0,9288	0,8626
		Val	2,42	0,9017	0,8291
D1P2J9	4	Cal	1,59	0,9594	0,9204
		Val	3,08	0,8404	0,7240
D1P2J9F	3	Cal	2,07	0,9299	0,8647
		Val	2,65	0,8839	0,7960

VL: Variáveis latentes; **RMSE:** Raiz quadrada do erro quadrático médio; **r:** Coeficiente de correlação; **R²:** Coeficiente de determinação; **%ABV:** Determinação de volume de álcool; **B:** Brutos; **F:** Remoção da faixa ruidosa; **S:** Suavização; **J5:** Janela de 5 pontos; **J9:** Janela de 9 pontos; **P2:** Polinômio Savitzky Golay de 2º ordem; **JK:** Jack-Knife; **D1:** Primeira derivada; *****: Melhores modelos.

Os pré-processamentos como MSC (do inglês: *Multiplicative Scatter Correction*) e SNV (do inglês: *Standard Normal Deviation*) eliminam os deslocamentos de linha de base e a suavização minimiza o ruído espectral, no entanto preservam o perfil do espectro original (Figura 8a, 8b e 8c). Já a derivação com suavização, elimina os efeitos do espalhamento e reduz

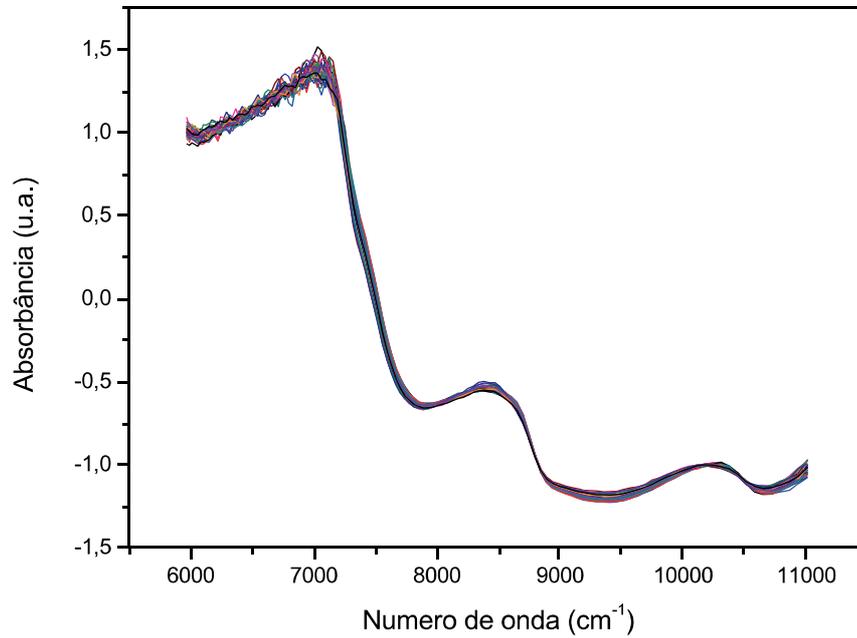
o ruído espectral, no entanto modifica o perfil espectral (Figura 9). Nas figuras 7a-c e 8 os pré-processamentos foram aplicados a toda faixa espectral. Deste modo, é possível observar que apenas a suavização foi capaz de melhorar os dados visualmente a faixa espectral onde o ruído é mais proeminente e o sinal de absorção é superior a 1,5u.a. No entanto os modelos gerados com os espectros suavizados não apresentaram bons modelos, como é possível constatar avaliando as figuras de mérito da Tabela 2.

Figura 8a. Espectros pré-processados com MSC.



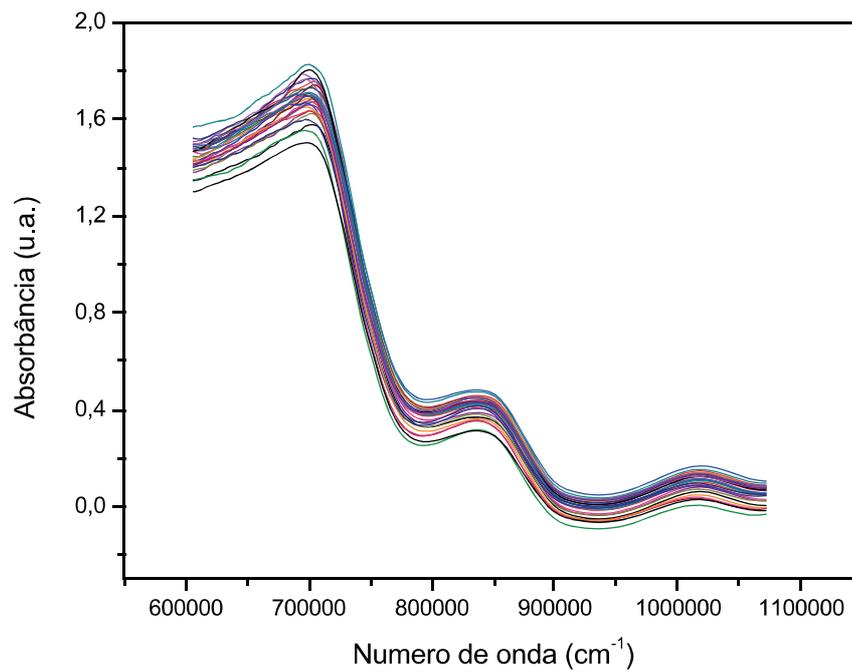
Fonte: Dados da pesquisa, 2018

Figura 8b. Espectros pré-processados com SNV.



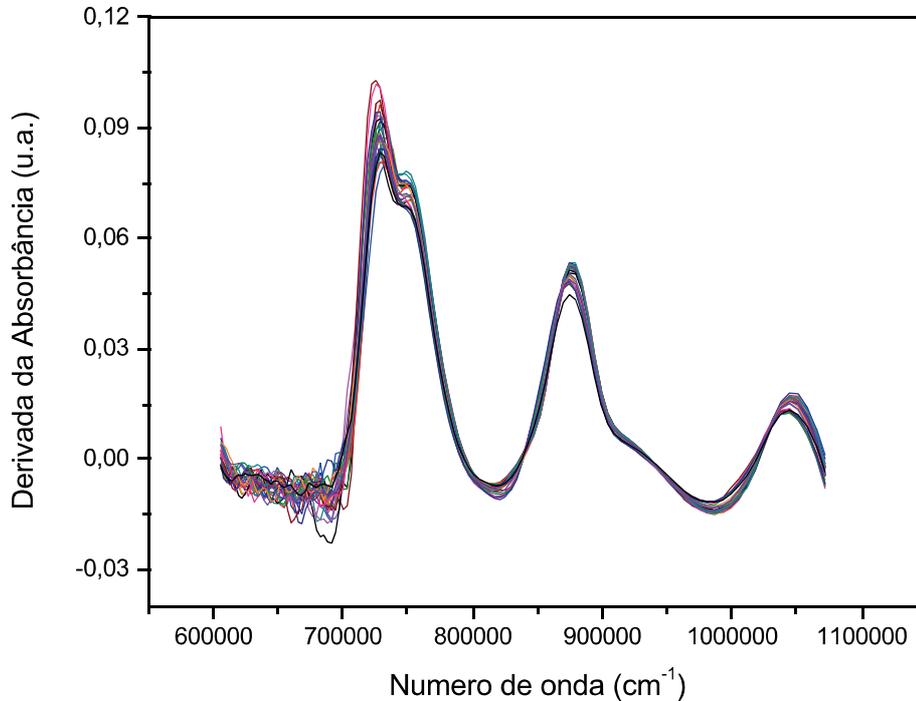
Fonte: Dados da pesquisa, 2018

Figura 8c. Espectros pré-processados com suavização com polinômio Savitzky Golay com janela de 9 pontos.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018

Figura 9. Espectros pré-processados com 1ª derivada com polinômio Savitzky Golay de 2ª ordem e janela de 9 pontos.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018

Para os modelos construídos (com dados os brutos, tratados com suavização, MSC, SNV e derivada) foi testada a construção do modelo com toda faixa espectral, excluindo a região mais ruidosa e utilizando os coeficientes Jack-Knife. A capacidade preditiva de todos os modelos foi avaliada em termos figuras de mérito como o número de variáveis latentes, a correlação, coeficiente de determinação e erros obtidos nas etapas de calibração e validação cruzada (VL, r , R^2 , RMSEC e RMSECV).

De acordo com as figuras de mérito listadas na Tabela 2, o modelo construído com toda a faixa espectral sem pré-processamento (Brutos) utilizou 5 variáveis latentes (VL) para a construção do modelo e apresenta uma discrepância entre os erros de calibração (RMSEC) e o de validação cruzada (RMSECV) (1,29 e 3, respectivamente), apesar de apresentar valores adequados de r e R^2 . A medida que a região ruidosa foi excluída, o modelo originário (Brutos FT) diminui 1 VL da sua construção e mostrou uma maior concordância entre os valores de RMSEC e RMSECV em relação ao anterior, além de uma maior proximidade de r e R^2 com o valor unitário ideal. A concordância entre os valores de RMSEC e RMSECV (1,56 e 1,98, respectivamente) aumentaram ainda mais quando se construiu o modelo com os coeficientes de

regressão dos dados brutos selecionados pelo algoritmo Jack-Knife (JK). O número de VL utilizadas pelo modelo exprime a simplicidade e parcimônia do modelo, e a sua diminuição está relacionada com a exclusão da faixa ruidosa do espectro que representa resíduo para o modelo. A proximidade entre os valores de RMSEC e RMSECV representam a habilidade do modelo de calibração predizer com precisão os valores de %ABV nas etapas de validação interna e predição, mostrando que o modelo não está sobreajustado.

O uso do espectro completo suavizados com polinômio Savitzky-Golay de 2ª ordem e utilizando janela de 9 pontos para a construção dos modelos apresentou figuras de mérito semelhante aos construídos com toda faixa dos dados brutos, diferença de aproximadamente 1% entre os valores de RMSEC e RMSECV. No entanto, nem a exclusão da faixa ruidosa e nem o uso dos coeficientes JK ocasionaram melhora nas figuras de mérito dos modelos construídos. A aplicação do MSC após suavização promoveu uma pequena melhora nos valores de RMSEC e RMSECV, diminuindo a discrepância entre estes valores para 0,76%ABV e a diminuição de 2 VL para a construção do modelo. Uma melhora ainda maior nos parâmetros de desempenho do modelo foi obtida ao se excluir a faixa ruidosa. No entanto os modelos construídos com toda faixa espectral pré-processados apenas com MSC ou SNV não mostraram bom desempenho. A exclusão da faixa ruidosa promoveu melhora nos parâmetros de desempenho dos modelos.

A construção dos modelos com a faixa espectral completa pré-processada com 1ª derivada polinômio de 2ª ordem e janela de 5 pontos, bem como aqueles construídos com a exclusão da faixa ruidosa não apresentaram bom desempenho. Neste caso, o desempenho dos modelos foi melhorado utilizando os coeficientes JK para sua construção, obtendo-se uma diferença entre RMSEC e RMSECV de 0,33%ABV, diminuição no número de VL empregadas para a construção do modelo e valores de r e R^2 próximo a unidade.

De acordo com a avaliação das figuras de mérito os modelos construídos com os coeficientes de regressão dos espectros brutos (BFJK) e os tratados com 1ª derivada polinômio de 2ª ordem e janela de 5 pontos (1DP2J5JK) foram considerados como os melhores modelos e utilizados na etapa de predição.

Para avaliar o seu desempenho na predição da %ABV em amostras reais, os modelos escolhidos foram aplicados a 4 amostras reais e os valores preditos pelo modelo foram comparados com os rotulados, de acordo com os dados da Tabela 3.

Tabela 3. Comparação dos valores preditos pelo modelo com os valores rotulados de %ABV.

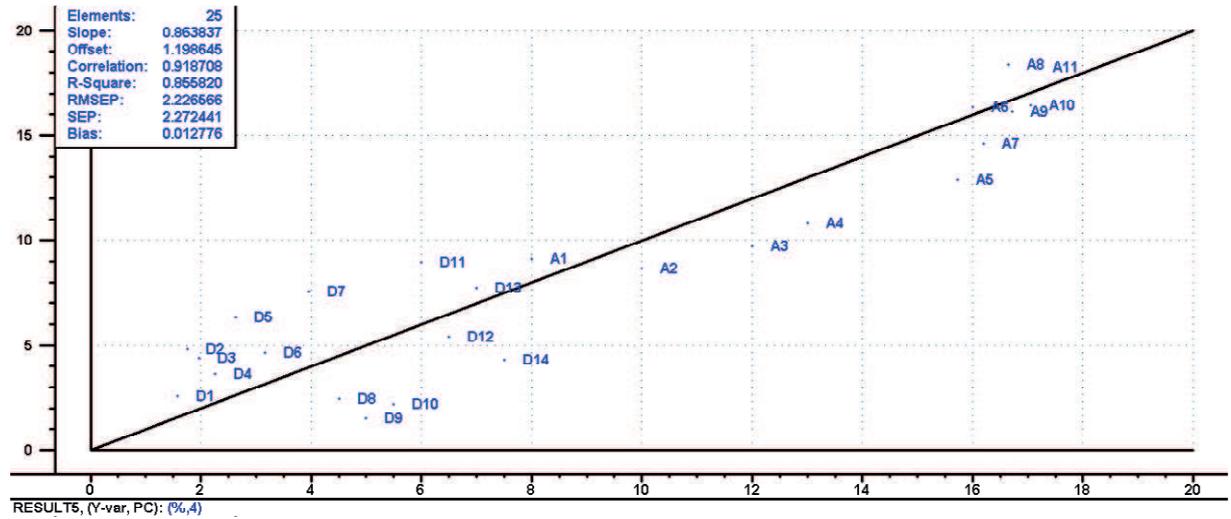
Modelo	Valores rotulados (%ABV)	Valores previstos (%ABV)
BFJK	7,90	9,27
	7,90	5,83
	7,90	9,36
	7,90	10,65
	Média	7,90
	RMSEP	2,00
	t(calculado)	0,0480
1DP2J5JK	7,90	9,04
	7,90	11,47
	7,90	11,38
	7,90	14,67
	Média	7,90
	RMSEP	4,24
	t(calculado)	0,4575

Fonte: Dados da pesquisa, 2018

Um teste t a um nível de 95% de confiança foi utilizado para avaliar se havia diferença significativa entre a %ABV rotulada e a prevista pelos modelos. O t_{tabelado} para 6 amostras ($n-2$) a um nível de confiança de 95% é 0,0654. Desta forma, existe diferença significativa entre os valores tabelados e os valores previstos pelo modelo 1DP2J5JK, já que $t_{\text{calculado}}$ (0,4575) é maior que o t_{tabelado} (0,0654). Já para o modelo BFJK o $t_{\text{calculado}}$ (0,0480) é menor que o t_{tabelado} (0,0654) indicando que não há diferença significativa entre os valores preditos pelo modelos e os rotulados.

Deste modo, o modelo que obteve melhor desempenho nas etapas de calibração, validação interna e predição das amostras comerciais foi aquele construído com os coeficientes de regressão dos espectros brutos (BFJK). Isso pode ser atribuído aos pré-processamentos utilizados terem eliminado fontes de informações importantes para a robustez dos modelos na etapa de predição (GRASSI et al., 2014). A Figura 10 representa o gráfico dos valores preditos versus medidos para a etapa de validação cruzada, mostrando o ajuste do modelo e o comportamento aleatório das amostras.

Figura 10. Representação do gráfico de valores preditos vs medidos.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018

6 CONCLUSÃO

A metodologia desenvolvida para a determinação da %ABV em bebidas mistas a base de cerveja utilizando os espectros NIR e a regressão em mínimos quadrados parciais (PLS) mostrou-se uma alternativa viável. A partir dos resultados obtidos pode-se perceber que a presença de ruídos espectrais influencia negativamente a capacidade preditiva dos modelos, aumentando o número de VL utilizadas para a construção dos mesmos e fornecendo maiores erros nas etapas de calibração e validação interna. Deste modo ficou clara a necessidade de um estudo apurado para escolha do melhor pré-processamento a ser aplicado ao conjunto de dados, a fim de se obter modelos parcimoniosos, precisos e robustos. Também foi verificado que os modelos construídos utilizando os coeficientes de regressão Jack-Knife (e pré-processados) são os que apresentam melhor capacidade preditiva, isto se dar pelos modelos utilizados apenas para as variáveis mais relacionadas ao problema estudado, eliminando fontes de incerteza (ruído ou variáveis que não estejam relacionadas ao problema estudado). Os resultados apresentados pelo modelo bruto ou pré-processado com 1ª derivada polinômio de 2ª ordem e janela de 5 pontos utilizando os coeficientes Jack-Knife mostraram bom desempenho nas etapas de calibração e validação interna. No entanto, apenas o modelo construído com os coeficientes de regressão JK mostrou boa capacidade preditiva quando aplicado as 4 amostras comerciais na etapa de predição, onde os valores preditos pelo modelo não mostraram diferença significativa em relação aos valores rotulados de acordo com um teste t a nível de confiança de 95%. Diante do exposto, a metodologia desenvolvida poderia ser facilmente implementada num laboratório de análises de rotina para a quantificação de %ABV da bebida mista a base de cerveja estudada, tendo em vista que o equipamento utilizado é portátil, de baixo custo e apresentou um desempenho adequado para determinação do parâmetro estudado.

7 PESPECTIVAS

- Aplicar a metodologia desenvolvida a um maior número de amostras comerciais da mesma marca
- Aplicar a metodologia desenvolvida a cervejas de diversas marcas
- Utilizar um espectrômetro de bancada para a obtenção de espectros NIR.

REFERÊNCIAS

ALVES, A. L. **Particionamento de conjunto de dados e seleção de Variáveis em problemas de calibração multivariada**, p51, 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção e Sistemas), Pontifícia Universidade Católica de Góias. 2017.

AMIGO, Jose Manuel; MARTÍ, Idoia; GOWEN, Aoife. Hyperspectral imaging and chemometrics: a perfect combination for the analysis of food structure, composition and quality. In: **Data handling in science and technology**. Elsevier, 2013. p. 343-370.

ANDERSEN CM, BRO R. Variable selection in regression — a tutorial. 2010; (August): 728–37.

ARAUJO MCU, SALDANHA TCB, GALVAO RKH, YONEYAMA T, CHAME HC, VISANI V. The successive projections algorithm for variable selection in spectroscopic multicomponent analysis. *Chemom Intell Lab Syst*. 2001; 57(2):65–73.

ARRUDA, Iza Natália Queiroz de; PEREIRA JUNIOR, Valdir Aniceto; GOULART, Gilberto Alessandre Soares. Produção de cerveja com adição de polpa de murici (*Byrsonimassp.*) interdisciplinar: **Revista Eletrônica da Univar**, Vale do Araguaia, v. 2, n. 10, p. 129-136, Ago 2013.

BALAGE, Juliana Monteiro. **Avaliação da qualidade da carne bovina utilizando imagem hiperespectral no infravermelho próximo**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2017.

BARBIN, Douglas F. et al. Predicting quality and sensory attributes of pork using near-infrared hyperspectral imaging. **Analytica Chimica Acta**, v. 719, p. 30-42, 2012.

BEEB, K. R.; RANDY, J. P.; SEASHOLTZ MB. *Chemometrics: A Practical Guide*. Vol. 41, Technometrics. 1998. 375 p.

BESSANT. G.; RICHARD. E.; SAINI. S. Multivariate Data Analysis in Electroanalytical Chemistry. *Electroanalysis*, Weinheim, v. 14, n. 22, p. 1533 – 1542, mai. 2002.

BLANCO, M. *et al.*, Application of multivariate curve resolution to chemical process control of an esterification reaction monitored by near-infrared spectroscopy. **Applied Spectroscopy**, v.60, 641-647, 2006

BOTELHO, B. G. Perfil e teores de amins bioativas, e características físico-químicas em cervejas. Minas Gerais, Dissertação de mestrado, UFMG, 2009, 74 p.

BOTTO, L. Matéria prima: levedura. 2009. **Revista Beerlife**. n. 5, jun., 2009. p. 10 – 11.

BRAGA, Eliane C. **Apostila de Aulas Práticas**. Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão preto. Departamento de Física e Química. Ribeirão preto- São Paulo, 2009. Disponível em: <www.fcfrp.usp.br/dfq/FQ/Apostila%20praticas%202007.doc> Acesso em: 20/10/2018

BRASIL. Decreto nº 6871, de 04 de junho de 2009.

BRASIL. Farmacopéia Brasileira, volume 2 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2010. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/Volume%201.pdf>. Acesso em: 29 de agosto de 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 6.871, de 4 de julho de 2009**: regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de junho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, 1997. p. 19.556. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/decreto-no-6-871-de-4-de-junho-de-2009.doc/view>> Acesso em: 29/09/18.

CÂMARA, C. **Lúpulo**. 2013. Disponível em: <<http://www.tuasaude.com/lupulo/>>. Acesso em: 18/11/2018.

CARDOSO, M. G. **Química orgânica**: curso de pós-graduação lato sensu (Especialização) a Distância. Lavras: Faepe, 2006. 282 p.

CARVALHO, G.B. M.; BENTO, C. V.; SILVA, J.B. **Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1ª. Parte-As leveduras.** Revista Analytica, v.25, 2006.

CHAU. F. T.; LIANG. Y. Z.; GAO. J.; SHAO. X. G. Chemometrics – from basics to wavelet transform. Hoboken: Wiley, p. 1-3, 2004.

CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **Análise Instrumental.** São Paulo: Interciência, 2000, 606 p.

COELHO-COSTA, Ewerton Reubens. A bebida de Ninkasi em terras tupiniquins: O mercado da cerveja e o Turismo Cervejeiro no Brasil. **RITUR-Revista Iberoamericana de Turismo**, v. 5, n. 1, p. 22-41, 2015.

COUTINHO, Carlos Alberto Tavares; QUINTELLA, CAS; PANZANI, M. M. A história da cerveja no Brasil. 2016.

COUTINHO, C.A.T. **A história do Brasil.** Disponível em: <<https://www.cervesia.com.br/artigos-tecnicos/cerveja/historia-da-cerveja/2-a-historia-da-cerveja-no-brasil.html>>. Acesso em: 02/10/2018.

DRAGONE, G.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Cerveja in: VENTIRINI FILHO, W. G. (Coord.). **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia.** São Paulo: Ed. Blücher, 2010, v. 1, cap 2, p. 15 – 50.

EVANGELISTA, R. R. **Análise de processo da fabricação industrial de cerveja.** São Paulo, Título de graduação, Fatec Araçatuba, 2012, 50 p.

FERREIRA. M. M. C. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações.** 1 ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2015, p.496.

FONSECA F. S. —**Espectrometria no Infravermelho Médio e Calibração Multivariada por PLS para quantificação de biodiesel metílico e etílico de soja, milho e girassol em misturas com diesel.** 2011.

FRANCELINO, W. **MGA CQ 005 - DETERMINAÇÃO DO TEOR ALCOÓLICO.**

Disponível em: < <http://assistenciawf.blogspot.com/2013/05/mga-cq-005-determinacao-do-teor.html>> Acesso em : 15/10/2018.

GALVÃO RKH, ARAUJO MCU, JOSÉ GE, PONTES MJC, SILVA EC, SALDANHA TCB.

A method for calibration and validation subset partitioning. *Talanta*. 2005;67(4):736–40.

GRASSI, Silvia et al. Beer fermentation: monitoring of process parameters by FT-NIR and multivariate data analysis. **Food chemistry**, v. 155, p. 279-286, 2014.

GELADI, P. Chemometrics in spectroscopy. Part 1. Classical chemometrics. *Spectrochimica Acta Part B*, n. 54, p. 767 – 782, 2003.

GELADI, P., KOWALSKI, B.R., Partial least square regression: a tutorial, *Analytica Chimica Acta*, **185:1, 1986**.

GOMES, M. S.; TREVISAN, L. C.; NÓBREGA, J. A.; KAMOGAWA, M. Y. "Uso de Scanner em Espectrofotometria de Absorção Molecular: aplicação em experimento didático enfocando a determinação de ácido ascórbico". *Química Nova*. 31(6): 1577, 2008.

GOMES, T. **Manual básico cervejeiro.** 2010. Disponível em: <http://www.acervacarioca.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=13:manual-basico-cervejeiro&catid=1:processo&Itemid=2>. Acesso em: 14/11/2018.

GOWEN, A. A. et al. Hyperspectral imaging—an emerging process analytical tool for food quality and safety control. **Trends in food science & technology**, v. 18, n. 12, p. 590-598, 2007.

GUIMARÃES, P. Q. **Metodologia baseada em NIRS e Quimiometria para a determinação de parâmetros de qualidade da quitosana para fins biomédicos**, p 72, Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Estadual da Paraíba, 2017.

HORNSEY, I.S. **A history of beer.** Cambridge. The Royal Society of Chemistry, 2003. 742p.

IQBAL, Abdullah; SUN, Da-Wen; ALLEN, Paul. Prediction of moisture, color and pH in cooked, pre-sliced turkey hams by NIR hyperspectral imaging system. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 1, p. 42-51, 2013.

JOHNSON, R.; WICHERN, D. **Applied Multivariate Statistical Analysis**, 6th ed. Pearson New International Edition, 2014.

JORGE, E. P. M. Processamento de cerveja sem álcool. Goiás, UCG, 2004, 72 p.

JÚNIOR SG. Aplicação de Métodos Quimiométricos em Análises de Formas Farmacêuticas Sólidas Baseados na Espectrometria de absorção na região do Ultravioleta e Infravermelho Aplicação de Métodos Quimiométricos em Análises de Formas Farmacêuticas Sólidas Baseados na Es. 2011.

JUNIOR, F. G. S. **DESENVOLVIMENTO DE UMA NOVA VERÇÃO DO INJETOR COMUTADOR AUTOMÁTICO: DETERMINAÇÃO FOTOMÉTRICA DE ETANOL EM BEBIDAS DESTILADAS**. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. Instituto de Química de São Carlos. 2012. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75135/tde-26102012-084400/publico/FelisbertoGoncalvesSantosJuniorR.pdf>> Acesso em: 15/10/2018.

KIRIN HOLDINGS. Global Beer Consumption by Country in 2017. Disponível em: <https://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2018/0809_01.html>. Acesso em: 01/10/2018.

KUCK, L. S. Cerveja: sabor e Aroma. Rio Grande do Sul, UFPel, 2008, 46 p.

KUNZE, W. Technology brewing and malting. 2nd ed. Berlin: VLB, 1999. 726 p.

LAZARRI, L. M. et. Al. Produção de cerveja. Santa Catarina, UFSC, 2009. 18 p.

LEÃO, R.M. **Fermentação alcoólica: ciência e tecnologia**. Piracicaba. Fermentec, 2003. 448 p.

LEITE, L. Cerveja o pão líquido. 2014 Disponível em: < <http://www.novamesa.com.br/TNX/conteudo.php?sid=113&cid=1656> >. Acesso em: 22/10/2018.

LOPES, S. **Mercado cervejeiro artesanal no Brasil é o terceiro maior do mundo.** Disponível em: < <https://www.correio24horas.com.br/noticia/nid/mercado-de-cerveja-artesanal-no-brasil-e-o-terceiro-maior-do-mundo/> >. Acesso em: 02/10/2018.

LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 4. ed. 1ª Edição Digital. São Paulo: IMESP, 2008. p. 21.

MAGALHÃES, D. F. 2014. Aplicações da espectroscopia do infravermelho próximo na monitorização de processos farmacêuticos. Dissertação de Mestrado em Química Tecnológica. Universidade de Lisboa.

MAGRI, D. **As 10 mais do mundo: cervejas com alto teor alcóolico.** Disponível em: < <http://chefcomcerveja.com.br/cervejas-com-o-maior-teor-alcoolico/> > Acesso em: 15/10/2018.

MARTENS H, Martens M. Modified Jack-knife estimation of parameter uncertainty in bilinear modelling by partial least squares regression (PLSR). Food Qual Prefer [Internet]. 2000; 11(1–2):5–16. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0950329399000397>>. Acesso em: 12/11/2018.

MATOSO, L. C. **MÉTODO CRIOSCÓPICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE ETANOL EM BEBIDAS.** Trabalho de conclusão de curso. Universidade Tecnológica de Federal do Paraná. Disponível em: < <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/1594> > Acesso em: 15/10/2018.

MEGA, J. F.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. A produção de cerveja no Brasil. Revista CITINO, v.1, n.1,pag 21-29, 2011. Disponível em: <<https://www.hestia.org.br/wpcontent/uploads/2012/07/CITINOAno1V01N1Port04.pdf>>. Acesso em: 15/11/2018.

METROHM. NIR Spectroscopy. METROHM. *A guide to near-infrared spectroscopic analysis of industrial manufacturing processes*. Suíça: Metrohm, 2013.

MORADO, R. **Larousse de cerveja**. São Paulo: Larousse do Brasil, 2009. 357 p.

MOREIRA, B. G.; OLIVEIRA, B. S.; GOUVÊA, P. M. P.; BORGES, H. A.; AIBE, V.; VALENTE, L. C. G. **DIFERENCIAÇÃO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS E NÃO-ALCOÓLICAS NO SISTEMA DE MEDIÇÃO DE VAZÃO (SMV)**. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/283088780_DIFERENCIACAO_DE_BEBIDAS_ALCOOLICAS_E_NAO_ALCOOLICAS_NO_SISTEMA_DE_MEDICAO_DE_VAZAO_SMV> Acesso em: 15/10/2018.

OLIVEIRA F. C. D. C. Modelos de calibração multivariada associados à espectroscopia vibracional para análise de misturas diesel - óleos vegetais. 2006; 120

OLIVEIRA, N. A. M. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. 2011. 45p. Trabalho de conclusão de curso. Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2011.

OLIVEIRA, S. C. 2018. Espectroscopia no infravermelho associada a quimiometria para a determinação de parâmetros de qualidade e de indicação geográfica de cachaça. Mestrado em Química. Universidade Estadual da Paraíba.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v.14, n.2, p.198-219, 2003.

PASSARELLI, E. O elemento-base da cerveja. **Revista Beerlife**. n.3, dez., 2008. p.9–12.

PEREIRA, C. M. 2011. A Espectroscopia NIR no Controlo de Qualidade de Solventes Industriais. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa - Instituto Superior Técnico.

REIS, B. F.; MARTELLI, P. B.; MENEGÁRIO, A. A.; GINÉ, M. F. **Sistema de análise química por injeção em fluxo controlado por microcomputador para diluição automática em espectroscopia de absorção atômica**. Química Nova. V.16, n. 2, p. 109-112, 1993.

REIS, Juliana Z. **Dosagem de Etanol Utilizando Álcool Desidrogenase de Levedura de Panificação**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Araraquara-SP, Julho de 2006. Disponível em: <<http://www2.fcfar.unesp.br/Home/Posgraduacao/AlimentoseNutricao/JulianaPereiaZanon.pdf>>. Acesso em: 20/10/2018

RIBEIRO, Rafael Alves de Souza. **Refratômetro por ondas evanescentes em guias de ondas planares**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2007

RINNAN, Åsmund; VAN DEN BERG, Frans; ENGELSEN, Søren Balling. Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 10, p. 1201-1222, 2009.

SANTOS, A. M. **Estudo da Influência da Complementação de Nutrientes no Mosto Sobre o Processo de Fermentação Alcoólica em Batelada**. Maceió, 2008. 77p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Unidade Acadêmica Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2008.

SANTOS, Francisco; ROCHA Maria Valdez Pontes Rocha; SILVA, Marta Ligia Pereira e SANTOS, Zilvam Melo dos. Disciplina: LABORATÓRIO DE QUÍMICA GERAL, Universidade Federal Rural do Semi-Árido Departamento de Agrotecnologia e Ciências Sociais, Mossoró-RN, 2009. Disponível em: <<http://www2.ufersa.edu.br/portal/view/uploads/setores/72/Apostila%20laborat%C3%B3rio%20final.pdf>>. Acesso em: 02/10/2018.

SANTOS, S.P. dos. **Os primórdios da cerveja no Brasil**. 2.ed. - Cotia: Ateliê Editorial, 2004.

SEBRAE. Potencial de consumo de cervejas no Brasil. Disponível em: <http://www.sebrae2014.com.br/Sebrae/Sebrae%202014/Estudos%20e%20Pesquisas/2014_07_08_RT_Agroneg%C3%B3cio_Potencial_de_consumo_de_cervejas_no_Brasil.pdf>.

Acesso em: 20/11/2018.

SERRÃO, Keyla Freitas et al. Determinação do teor alcoólico de cachaças por Imagens Digitais. 2014.

SILVA, Carolina Santos. Uso de imagens hiperespectrais na região do infravermelho próximo para identificar fraudes em documentos. 2013.

SILVA, Kleiton Eduardo da. **Produção de Cerveja de Mandioca**, Trabalho de conclusão de curso Universidade Regional de Blumenau, Bacharel em Química Blumenau/SC, 2008. Disponível em: http://www.bc.furb.br/docs/MO/2011_/346141_1_1.pdf. Acesso em 14/11/2018.

SIMÕES, S. S. 2008. Desenvolvimento, de métodos validados para a determinação de captopril usando espectrometria NIR e calibração multivariada. Tese de Doutorado em Química. Universidade Federal da Paraíba.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química orgânica 1**. 7^a ed. Rio de Janeiro : LTC, 2001. 645 p.

SOUZA J. A. L de. Desenvolvimento de uma metodologia NIR para determinação do produto de degradação do captopril em comprimidos. 2011.

TSCHOPE, E. C. Microcervejarias e cervejarias: a história, a arte e a tecnologia. São Paulo: Aden, 2001, 223 p. Disponível em: <www.teses.usp.br/.../RafaelAlvesdeSouzaRibeiroMErevisada.pdf>. Acesso em: 10/11/2018

WYLER, Patricia. **Influência da madeira de carvalho na qualidade da cerveja**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

ZARPELON, Florenal. As especificações do Álcool Focadas Para o Mercado Mundial. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Especificacoes_doAlcool_Focado_para_Mercado_Mundial_000fxgfertu02wyiv80soht9hal6t8qx.pdf>. Acesso em: 20/10/2018

ZENEBON, Odair; PASCUET, Neus S. e TIGLEA, Paulo. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 4. ed. 1ª Edição Digital. São Paulo: IMESP, 2008. p. 21.

ANEXO I

CONCENTRAÇÃO DAS AMOSTRAS QUE APRESENTAM %ABV INFERIOR AO VALOR ROTULADO.

Bebida (ml)	Água deionizada (ml)	%ABV
0,83	4,17	1,58
0,90	4,1	1,75
1,00	4,00	1,97
1,42	3,58	2,25
1,66	3,34	2,63
2,00	3,00	3,16
2,5	2,5	3,95
Solução estoque (ml)		
0,85	4,15	4,5
0,94	4,06	5,0
1,04	3,96	5,5
1,14	3,86	6,0
1,24	3,76	6,5
1,34	3,66	7,0
1,42	3,58	7,5

ANEXO 2**CONCENTRAÇÃO DAS AMOSTRAS QUE APRESENTAM %ABV SUPERIOR AO VALOR ROTULADO.**

Solução estoque (ml)	Água deionizada (ml)	%ABV
1,52	4,48	8,0
1,90	3,10	10,0
2,28	2,72	12,0
2,46	2,54	13,0
4,57	0,43	15,72
4,56	0,44	16,00
4,55	0,45	16,19
4,52	0,48	16,65
4,51	0,49	16,72
4,513	0,497	17,05
4,5	0,5	17,11