



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

RELATÓRIO DE BOLSA DE PÓS DOUTORADO

**ACURÁCIA E PRECISÃO DA ANÁLISE ISOTÓPICA NA AUTENTICIDADE
DE SUCOS DE FRUTAS**

PÓS DOUTORANDA: Juliana Célia Denadai

COORDENADOR: Prof. Vladimir Eliodoro Costa

RESUMO

A qualidade de alimentos e bebidas tornou-se um problema mundial e é cada vez mais importante detectar a introdução, no mercado, de produtos adulterados e de qualidade inferior. A autenticação de alimentos envolve a maioria dos gêneros alimentícios, em particular produtos a base de frutas. O desenvolvimento de diferentes técnicas para a autenticação de alimentos e bebidas tem aumentado significativamente com a crescente consciência do consumidor, bem como é de interesse de empresas que não desejam a competição injusta com empresários sem escrúpulos que ganham vantagens econômicas através de práticas fraudulentas observadas nas indústrias. Diante do exposto, medições da razão isotópica têm se mostrado úteis na autenticidade de alimentos e bebidas, especialmente em casos em que a composição de alimentos e bebidas baseia-se em misturas de compostos produzidos a partir de plantas do ciclo fotossintético C_3 e C_4 . A formação de um banco de dados das matérias-primas e dos possíveis adulterantes se faz necessário. Este relatório apresenta os resultados dos valores de açúcares de diferentes tipose marcas encontrados nos mercados brasileiros, em dois anos consecutivos e nas diferentes origens geográficas da produção dos mesmos e resultados das análises das amostras de água de coco e sucos enviadas ao Centro de Isótopos Estáveis Dr. Carlos Ducatti, do IBB/UNESP nos anos de 2020, 2021, 2022 e 2023. Com essas análises, temos um banco de dados atualizado do valor médio do $\delta^{13}C$ do açúcar e produtos, proporcionando maior segurança para futuras análises de autenticidade de alimentos e bebidas que usam esses valores como base. Este projeto se encontra em expansão com novos estudos em maçã, caju, mel e água de coco, com a finalidade de melhorar a dispersão dos resultados, com financiamento de bolsa pela FUNDIBIO/IBB/UNESP.

Palavras-chave: Açúcar de cana, carbono-13; plantas C_3 ; análise isotópica, água de coco, suco

01) RESUMO DAS ATIVIDADES REALIZADAS NO PERÍODO

As etapas propostas no cronograma de execução do projeto foram cumpridas na sua totalidade conforme cronograma abaixo. Durante o período ao termo de outorga adicional, foi estendido a Análise Isotópica das amostras do ano de 2023, foi feito a análise descritiva dos resultados, montagem dos gráficos e tabelas e elaborado o relatório e artigo científico que está em fase de versão para a língua inglesa.

Cronograma executado nos 4º, 5º e 6º bimestre

Etapas	Trimestres					
	1º	2º	3º	4º	5º	6º
Revisão Bibliográfica	X	X	X	X	X	
Preparação das amostras		X	X	X	X	
Análise Isotópica			X	X	X	
Análise dos Resultados			X	X	X	
Discussão dos Resultados					X	X
Redação do Relatório						X

Durante o período da bolsa foi realizado atividades de ensino conforme abaixo:

Atuação profissional

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP

Vínculo institucional

2024 - 2024 Vínculo: Professor Visitante , Enquadramento funcional: Professor Colaborador da Disciplina , Carga horária: 20, Regime: Parcial

Disciplina Isótopos Estáveis Ambientais - Aplicação Biotecnológica do Programa Biotecnologia - IBB - UNESP - Botucatu Noções básicas de traçadores (13C; 2H; 18O; 15N; 34S). Definições, conceitos e equações. Variação natural e compostos enriquecidos. Espectrometria de Massa de Razões Isotópicas. Linguagem analítica. Aplicações práticas.Noções básicas de traçadores dos bioelementos com isótopos estáveis ambientais. Linguagemanalítica no uso da variação natural e compostos enriquecidos (átomos).

2023 - 2023 Vínculo: Professor Visitante , Enquadramento funcional: Professor Colaborador da Disciplina , Carga horária: 20, Regime: Parcial

Disciplina Isótopos Estáveis Ambientais - Aplicação Biotecnológica do Programa

Biotecnologia - IBB - UNESP - Botucatu Noções básicas de traçadores (^{13}C ; ^2H ; ^{18}O ; ^{15}N ; ^{34}S). Definições, conceitos e equações. Variação natural e compostos enriquecidos. Espectrometria de Massa de Razões Isotópicas. Linguagem analítica. Aplicações práticas. Noções básicas de traçadores dos bioelementos com isótopos estáveis ambientais. Linguagem analítica no uso da variação natural e compostos enriquecidos (átomos).

2023 - 2023 Vínculo: Professor Visitante , Enquadramento funcional: Professor Colaborador da Disciplina , Carga horária: 20, Regime: Parcial

Disciplina Tópicos especiais em biologia Geral e Aplicada: Isótopos Estáveis do Programa Biologia Geral - IBB - UNESP - Botucatu Noções básicas de traçadores (^{13}C ; ^2H ; ^{18}O ; ^{15}N ; ^{34}S). Definições, conceitos e equações. Variação natural e compostos enriquecidos. Espectrometria de Massa de Razões Isotópicas. Linguagem analítica. Aplicações práticas. Noções básicas de traçadores dos bioelementos com isótopos estáveis ambientais. Linguagem analítica no uso da variação natural e compostos enriquecidos (átomos)

2021 - Atual Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Pós-doutorado , Carga horária: 40, Regime: Integral.

Revisor de periódico

Brazilian Journal of Poultry Science:

RBCA-2023-1828.R2 entitled "NUTRIENT AND ENERGY BALANCE, AND AMINO ACID DIGESTIBILITY IN BROILERS FED CANOLA MEAL AND AN EXOGENOUS ENZYME COMBINATION" (Set 2023).

RBCA-2023-1843.R1 entitled "GROWTH PERFORMANCE AND GUT MICROBIOTA OF BROILERS ADMINISTERED DIFFERENT LEVELS OF MANGO SEED KERNEL EXTRACT" (Out 2023).

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. LIMA, G.P.P.; COSTA, V.E.; NUNES, A.; BASÍLIO, L.S.P.; BORGES, C.V.; MONTEIRO, G.C.; MINATEL, I.O.; DENADAI, J.C.; ORSI, R.; VIANELLO, F.; MARASCHIN, M.; Biogenic amines and stable isotopes in the quality and authenticity of honeys from Brazil. **FOOD CHEMISTRY**. , v.427, p.136702 - , 2023.

2. PASQUALI, G.A.M.; DOS SANTOS, T.S.; ZANETTI, L.H.; DORNELAS, L.C.; CRUVINEL, J.M.; MURO, E.M.; ARAUJO, R.G.A.C.; NETTO, R.R.F.; DENADAI, J.C.; PEZZATO, A.C.; SARTORI, J.R.; MIGLIOR, F.; Impact of combined xylanase and beta-

glucanase enzymes on digesta transit time, short-chain fatty acids, and caecal thermal profile of broilers fed corn & soy-based diets. **CANADIAN JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE.** , v.102, p.9 - 18, 2022.

3. DENADAI, J.C.; BATISTIOLI, J.S.; SARTORI, J.R.; MADEIRA, L.A.; SARTORI, M.M.P; PIZZOLANTE, C.C.; KAKIMOTO, S.K.; CONTIN NETO, A.C.; COSTA, V.E.; Rastreability of bovine meat and bone meal using the stable isotope technique in egg production. **SCIENTIA AGRICOLA.** , v.79, p.e20190301 - , 2022.

Livros publicados

1. NARDOTO, G. B.; MAYRINK, R. R.; BARBIERI, C. B.; COSTA, F. J. V.; DENADAI, J.C; CELSO, P. G.; LEONARDELLI, S.; COSTA, V. E.

Isótopos Forenses. Campinas-SP: Millennium, 2022, v.1. p.217.

Bancas

Participação em banca de trabalhos de conclusão

Mestrado

1. COSTA, V. E.; HORMAZA, J. M.; DENADAI, J.C; Participação em banca de Samara Henrique Maschetti. Variação Isotópica da Madeira de Eucalyptus grandis Submetida ao Déficit Hídrico, 2023. (Agronomia (Energia na Agricultura)) Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

2. COSTA, V. E.; PEDROSA, V. A.; DENADAI, J.C.; Participação em banca de Samuel Perri Gimenès. Caracterização isotópica para avaliar autenticidade de óleos vegetais refinados comercializados no Brasil, 2022. (Biotecnologia) Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

02) ARTIGO CIENTÍFICO

INTRODUÇÃO

Nas indústrias de alimentos e bebidas, autenticidade é palavra-chave associada à proteção do consumidor. A palavra autêntico é definida como o sentido de realidade e falta de falsidade ou deturpação. Autêntico carrega uma conotação de certificação oficial de que um objeto é o que se afirma ser. Os alimentos e as bebidas não autênticos são originados de resultado de fraude por meio de práticas que incluem, entre outras, rotulagem incorreta ou deturpação, suplementação com sabores ou aromas para impulsionar um produto a um preço mais baixo e adição de aditivos não especificados para aumentar o volume. Uma vez que produtos não autênticos são economicamente preocupantes e podem apresentar riscos para a saúde, a necessidade de produtos autênticos é do interesse do consumidor (CAMIN et al., 2010a).

No Brasil, o controle de qualidade de produtos a base de frutas é realizado tendo como referência os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs), definidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que indicam suas características físicas, químicas e sensoriais. No entanto, com base nos PIQs, as análises físico-químicas convencionais não permitem detectar a origem botânica e a quantidade de polpa de fruta ou açúcar de cana empregada na elaboração de polpas, sucos e néctares, tornando ineficiente a fiscalização dos mesmos (BRASIL, 2021).

O desenvolvimento de diferentes metodologias analíticas para a autenticação desses produtos tem aumentado significativamente com a crescente consciência do consumidor, bem como o interesse de empresas que não desejam a competição injusta com empresários sem escrúpulos que ganham vantagens econômicas através das fraudes (REID et al., 2006).

Cana-de-açúcar e seu impacto

A cana-de-açúcar é uma planta pertencente à família das gramíneas (Poaceae), gênero *Saccharum* e espécie *Saccharum officinarum* utilizada como matéria-prima para a produção de diversos produtos, sendo seu principal componente a sacarose, que corresponde a cerca de 70 a 90% das suas substâncias sólidas solúveis (LEMOS; STRADIOTTO, 2012). O maior produtor mundial de cana-de-açúcar é o Brasil, produzindo, até agora, na safra de 2020/2021, 657 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, 41 milhões de toneladas de açúcar e 32 bilhões de litros de etanol, que são os principais subprodutos obtidos da cana. A produção de açúcar se constituiu na primeira atividade econômica do Brasil e como setor de agroindústria atuou significativamente no planejamento e na ocupação territorial (CAMPAGNOL; ANDRADE, 2008). Atualmente existem 422 usinas no Brasil, dentre estas todas produzem etanol e 150 delas

são produtoras de açúcar (NOVA CANA, 2021).

A produção da cana foi impulsionada nas últimas décadas pela produção do etanol, visto que a experiência adquirida pelo Brasil no cultivo de cana-de-açúcar e o processamento industrial elevou fortemente os índices de produção pela ampliação da produtividade e otimização do uso da terra. O crescimento mais significativo ocorreu entre 1990 e 2009, nesse período de 20 anos, a área plantada cresceu 85%, a produção de etanol aumentou em 130% e a de açúcar em 350% no período (VILLEN, 2009).

O açúcar continua tendo uma importância significativa no dia-a-dia no nosso país, de acordo com um levantamento da Sucden, multinacional do ramo açucareiro, realizado em 2014, o Brasil é o 4º maior consumidor de sacarose do mundo, consumindo 12 milhões de toneladas em 2013/2014. A recomendação da Organização Mundial de Saúde (OMS) é que apenas 10% dos alimentos consumidos por dia venham do açúcar, mas os brasileiros consomem 16,3%.

O consumo excessivo de açúcares, especialmente a sacarose, pode comprometer a qualidade da dieta e impactar negativamente na saúde (WHO, 2003) além de favorecer o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis como o Diabetes mellitus tipo 2 (DM2), a obesidade, as dislipidemias e as doenças cardiovasculares (SONESTEDT, 2012). Além disso, atualmente o consumidor final de alimentos e bebidas vêm se deparando com um sério problema de adulteração dos produtos, entre eles sucos de frutas e mel, produtos vendidos com base no seu teor de açúcar, visto que o preço do açúcar da cana é menor e pode ser usado como substituto dos açúcares extraídos das frutas. Devido à diferença de preço entre o açúcar de cana e o autêntico, o aumento do lucro do adulterador pode chegar a 20% (THOMAS; HAMMOND, 2018).

Por fim, os valores isotópicos dos açúcares de alcoois na literatura possui grande variabilidade, conforme dados da Tabela 1, portanto estudo dos valores de açúcares e alcoois se faz importante, para melhoria da acurácia do método de detecção de adulteração de produtos.

Tabela 1 - Tabela dos valores médios do $\delta^{13}\text{C}$ dos açúcares e álcoois da literatura.

Açúcar de cana			
Açúcar	-11,46	C ₄	BRASIL/2001
Açúcar	-14,79	C ₄	Imaizumi et al (2019)
Áçucar	-12,62	C ₄	Nogueira et al (2016)
Açúcar	-14,09	C ₄	Nogueira et al (2016)
Açúcar	-12,77	C ₄	Figueira et al (2011)
Açúcar	-13,38	C ₄	Figueira et al (2011)
Açúcar	-12,51	C ₄	Figueira et al (2013)
Açúcar	-13,06	C ₄	Figueira et al (2013)
Média	-13,09		
Álcool de cana			
Álcool	-12,54	C ₄	OIV-MA-AS312-06

Bebidas

Medições da razão isotópica dos isótopos estáveis têm se mostrado úteis na autenticidade de alimentos e bebidas, pois certos processos biológicos e ambientais discriminam os isótopos estáveis leves ou pesados de forma particular (ARAMENDIA et al., 2007), principalmente quando a composição de alimentos e bebidas baseia-se em misturas de compostos produzidos a partir de plantas do ciclo fotossintéticos C₃ e C₄, em função da grande diferença entre a composição isotópica destes dois tipos de plantas (ANGEROSA et al., 1999; CAMIN et al., 2004; MANCA et al., 2001; ROSSMANN et al., 2000; CAMIN et al., 2010a; CAMIN et al., 2010b).

No caso de bebidas, a análise isotópica é o método oficial do MAPA para determinação da razão isotópica de carbono em suco, refresco, néctar e bebidas de uva, além de vinhos e derivados da uva, fermentados acéticos, fermentado de frutas, fermentado de cereais (BRASIL, 2021), e pensando nisso diversos trabalhos têm sido publicados nos últimos anos sobre adulteração em polpas, sucos e/ou néctares de diferentes frutas como laranja (QUEIROZ et al., 2007; QUEIROZ et al., 2009; FIGUEIRA et al., 2011a), maçã (FIGUEIRA, 2008; FIGUEIRA et al., 2011b), maracujá (DINIZ, 2010), uva (FIGUEIRA et al., 2010a; FIGUEIRA et al., 2010b), pêsego (NOGUEIRA et al., 2011) e caju (FIGUEIRA et al., 2011c).

Por fim, nas bebidas não alcoólicas a base de frutas, os sólidos insolúveis são utilizados como padrão interno, contudo o açúcar de cana não apresenta referência interna e em função disso, há a necessidade de se adotar um banco de dados de diversos tipos de açúcares usados na produção das bebidas (DONER, 1995).

A maioria das metodologias isotópicas requer a utilização de banco de dados isotópicos das matérias-primas (suco ou polpa de fruta e açúcar de cana) como referência de comparação, para estimar a composição dos produtos a serem analisados. Porém, quando possível, o banco de dados pode ser substituído pela análise isotópica de um padrão interno. A utilização de um componente interno como referência isotópica diminui erros de quantificação em função da variabilidade isotópica das matérias-primas (KELLY, 2003). Para os produtos polposos, os sólidos insolúveis podem ser usados como padrão interno, já sucos não polposos (água de coco ou uva) e o açúcar de cana não apresentam constituinte como referência interna, necessitando utilizar valores isotópicos oriundos de um banco de dados (DONER, 1995).

Água de coco

Imaizumi et al. (2019) analisou 13 águas de coco in natura e 17 industrializadas comercializadas em território nacional, utilizando técnicas de isótopos estáveis, a fim de verificar a ocorrência de adulteração nessas bebidas. A quantidade de água de coco adulterada com excesso de açúcar foi de aproximadamente 65%, considerada alta. Quando este estudo foi realizado o Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) da água de coco permitia a empresa adicionar à bebida uma quantidade não superior a 1g de açúcar de cana para cada 100ml de matéria-prima, hoje essa adição de açúcar diminuiu para menos de 0,5g de açúcar para cada 100 mL de matéria prima, podendo essa adulteração hoje ser em maior número.

Para quantificação do açúcar C_4 adicionado é considerado o teor de açúcar C_3 determinado pela metodologia isotópica a partir dos valores de $\delta^{13}C$ do produto analisado, do produto in natura (padrão interno) e dos açúcares C_4 . Como o teor de C_3 muda de acordo com a quantidade de açúcar estimada em sólidos solúveis, faz-se necessário a realização de um balanço de massas isotópico considerando os parâmetros físico-químicos pré-estabelecido no PIQ do produto. Dessa forma, a metodologia isotópica pode quantificar, não só o teor de açúcar C_3 da água de coco integral ou concentrada ou desidratada, como também quantificar massa de açúcar C_4 (em g /100 ml) adicionada à água de coco padronizada ou reconstituída.

OBJETIVOS

Diante do exposto, o objetivo deste relatório é de apresentar resultados para a formação do banco de dados da composição isotópica de diversos tipos de adulterantes (açúcares) e valores isotópicos das análises das águas de coco e sucos dos anos de 2020, 2021, 2022 e 2023, buscando assim melhorar a precisão e acurácia da metodologia isotópica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras açúcares

Foram analisadas 73 amostras, entre açúcares, xaropes, melado e álcoois em 2022. Para melhor interpretação essas amostras foram divididas em 7 categorias, de acordo com tipos e características semelhantes, no caso dos açúcares, e gerais para os outros grupos, conforme Tabela 2. As amostras foram provenientes de 37 marcas, de 32 cidades e oito estados diferentes, adquiridas em mercados das cidades de Botucatu e de São Paulo ou de forma online, as amostras.

Tabela 2 – Apresentação das categorias de divisão das amostras analisadas em 2022.

Categorias	n	Composto por: (tipos)
Cristal	23	18 cristal + 5 extra fino
Refinado	17	8 amorfo + 4 granulado + 3 adoçante c/ sacarose + 2 confeitiro
Mascavo	15	7 mascavo + 7 mascavo orgânico + 1 mascavo c/ sacarose
Demerara	11	10 demerara + 1 VHP
Glicose	2	2 glicose de milho
Melado de Cana	1	1 melado de cana
Álcool	5	4 Álcool 46,2° + 1 Álcool 70°

n = número de amostras

Em 2023 foram analisados 24 açúcares e 20 álcoois de origem de cana e cereais. Todas as amostras foram compradas em supermercados, de diferentes marcas e origem geográfica. Para as amostras de açúcares foi realizado a caracterização conforme o tipo de refinamento (demerara, refinado e cristal) e as amostras de álcoois foram separadas entre o tipo de diluição (70° INPM, 46° INPM) e em combustível ou cereais, conforme classificação contida na Tabela 3.

Tabela 3. Apresentação das categorias de divisão das amostras analisadas em 2023

Amostra	Matriz	n
Açúcar Demerara	Cana	6
Açúcar Cristal	Cana	6
Açúcar Refinado	Cana	12
Etanol Combustível	Cana	2
Etanol 46° INPM	Cana	8
Etanol 70° INPM	Cana	4
Etanol	Cereais	6

n = número de amostras

Análise isotópica açúcar e álcool (adulterantes)

As amostras sólidas de açúcares foram moídas em moinho criogênico com nitrogênio líquido (Spex CertiPrep 6750 Freezer/Mill) durante 5-6 minutos na temperatura de -196°C para obter um material homogêneo e com textura fina ($\leq 65 \mu\text{m}$) e foram posteriormente acondicionadas em cápsulas de estanho para a análise com aproximadamente 50-80 μg de massa. As amostras líquidas, como as do álcool, melado e glicose, foram pipetadas em cápsula de estanho com aproximadamente 0,4 μL de volume.

O valor do $\delta^{13}\text{C}$ foi obtido no Espectrômetro de Massa de Razões Isotópicas (IRMS) (Delta V) localizado no Centro de Isótopos Estáveis em Botucatu, SP. A razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra $R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{amostra}}$ em relação a razão de um padrão $R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{padrão}}$ conforme Equação 1.

$$\delta^{13}\text{C} = R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{amostra}} / R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{padrão}} - 1 \quad (1)$$

O padrão para $\delta^{13}\text{C}$ foi o VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite) e os valores foram expressos em ‰, ou seja, multiplicado por 1000. Os resultados de $\delta^{13}\text{C}$ foram normalizados pelo padrão NBS22 da IAEA (Agência Internacional de Energia Atômica). A incerteza analítica da medida foi estimada (n=10) em $\pm 0,15\text{‰}$.

Análise isotópica das águas de coco

Estas águas de coco estão classificadas em duas grandes categorias, concentradas e prontas para consumo. As águas de coco concentradas são as matérias-primas para a confecção das águas de coco prontas para consumo envazadas, a diferença entre elas é que as concentradas são aquelas com menos teor de água

Análise isotópica de água de coco foi realizada in natura, no momento da análise, a água de coco foi pipetada (0,6 μL) em cápsula de estanho e introduzida no IRMS.

O valor do $\delta^{13}\text{C}$ foi obtido no Espectrômetro de Massa de Razões Isotópicas (IRMS) (Delta V) localizado no Centro de Isótopos Estáveis em Botucatu, SP. A razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra $R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{amostra}}$ em relação a razão de um padrão $R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{padrão}}$, da mesma forma que foi realizado para o açúcar, álcool e sucos.

Análise isotópica de sucos polposos

Foi centrifugado 50 mL do suco a 4500 rpm durante 5 minutos para precipitação dos sólidos insolúveis (polpa). Os tubos contendo a polpa foram completados com água destilada até a marca de 50 mL e a suspensão homogeneizada em agitador mecânico tridimensional tipo 'vortex'. Em seguida centrifugados novamente a 4500 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado. O processo de lavagem com água foi repetido até Brix zero no sobrenadante, o qual foi verificado com o uso de refratômetro. Para eliminar os carotenóides que interferem nos resultados das análises isotópicas, os sólidos insolúveis foram lavados duas vezes com acetona (20 mL) e água (30 mL) e depois mais duas vezes somente com água (50 mL) para completa remoção da acetona. Por fim, foram secos em estufa, e comparados com o suco "in natura", conforme metodologia da diluição isotópica de duas fontes isotopicamente diferentes, gerando um produto. Ao misturar polpa de fruta (C_3) e açúcar de cana (C_4) para elaboração de um suco tropical adoçado e/ou néctar, a bebida tem-se o valor isotópico intermediário entre as duas fontes, dependendo da proporção de cada uma delas.

A quantificação das fontes C_3 e C_4 pode ser obtida pelas Equações 2 e 3:

$$\delta a * A + \delta b * B = \delta p \quad (2)$$

$$A + B = 1 \quad (3)$$

Os símbolos das equações 1 e 2 significam: δa , δb e δp = enriquecimento isotópico relativo da fonte de carbono C_3 , C_4 e do produto, respectivamente (adimensional); A e B = proporção relativa da fonte C_3 e C_4 no produto, respectivamente (adimensional). Portanto, δa representa o valor isotópico dos sólidos insolúveis (padrão-interno), δb representa o valor isotópico do açúcar de cana e δp o valor isotópico da bebida.

Análise isotópica de suco de uva

Foi centrifugado 50ml de suco (4000 rpm) por 10 minutos, a fim de eliminar os componentes insolúveis. Adicionado ao sobrenadante 2 gramas de hidróxido de cálcio em pó, agitando em agitador magnético durante 5 minutos, após este processo a solução foi aquecida, em banho-maria a 90°C, por 3 minutos. Durante esta etapa, os ácidos orgânicos, os aminoácidos e outros componentes foram precipitados, O próximo passo foi centrifugar a solução aquecida (4000 rpm) por 5 minutos para separar os produtos precipitados.

Para decantar o líquido sobrenadante a solução foi acidificada com ácido sulfúrico 2 N obtendo um pH de aproximadamente 5, havendo mudança de coloração da solução. Esta solução

contém principalmente açúcares, sulfato de cálcio e corantes em menor quantidade, a qual foi analisada após eliminar parcialmente o sulfato de cálcio residual, por decantação, conservando a solução em frasco fechado a 4°C durante aproximadamente 12 horas.

Análise dos Resultados

As análises estatística descritiva dos resultados foram feitas por meio de planilhas e gráficos construídos no Excel a partir dos valores do $\delta^{13}\text{C}$ obtidos no IRMS (Delta V), focando principalmente nos valores médios e desvio padrão dos diferentes grupos analisados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas 2258 análises de $\delta^{13}\text{C}$ de alimentos e bebidas no período de 2020 a 2023 no Centro de isótopos Estáveis Ambientais, sendo 210 no ano de 2020, em 2021 foram 1168 análises, 2022, 611 análises e em 2023, 269 análises. Destas, 945 análises foram em sucos, 790 em águas de coco, 182 méis, 51 fermentados, 159 vinagres e 151 vinhos. O foco deste estudo foi as amostras de sucos e águas de coco.

AÇÚCAR e ÁLCOOL (Adulterantes)

A partir da análise isotópica para o $\delta^{13}\text{C}$ das 69 amostras dos mais diversos açúcares comercializados no Brasil no ano de 2022, o valor médio $\delta^{13}\text{C}$ foi de $-12,97\text{‰} \pm 0,27$ (n=69), o valor máximo encontrado foi de $-12,07\text{‰}$ e o valor mínimo foi de $-13,41\text{‰}$, gerando uma amplitude de $1,34\text{‰}$ entre os extremos. A Figura 1 ilustra a distribuição desses valores. Nota-se grande concentração de valores na faixa de $-12,70\text{‰}$ e $-13,30\text{‰}$, totalizando nessa faixa, 87% das amostras analisadas (60/69).

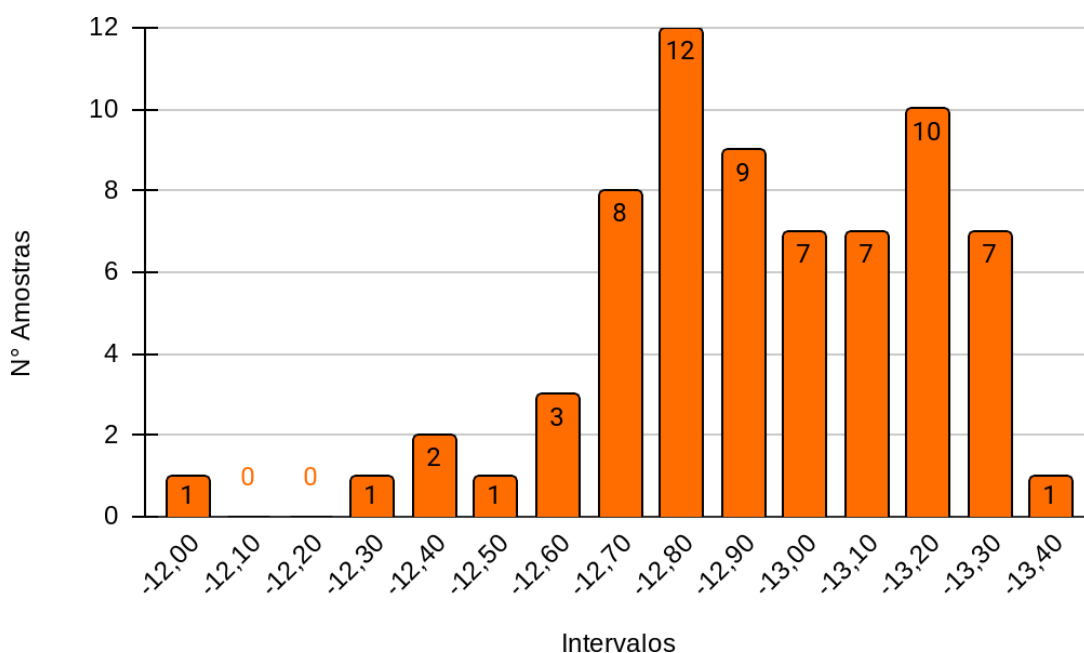


Figura 1 - Número de amostras por intervalos de valores do $\delta^{13}\text{C}$ do ano de 2022.

Com relação ao ano de 2023, foram analisados mais 24 amostras de açúcares. Neste caso o valor médio $\delta^{13}\text{C}$ foi de $-12,10\text{‰} \pm 0,24$, o valor máximo foi de $-11,59\text{‰}$ e o valor mínimo foi de $-12,46\text{‰}$, com amplitude de $0,87\text{‰}$ entre os extremos, com concentração de valores na faixa de $-11,88\text{‰}$ e $-12,46\text{‰}$, com 21 amostras das 24, totalizando $87,5\%$ (Figura 2).

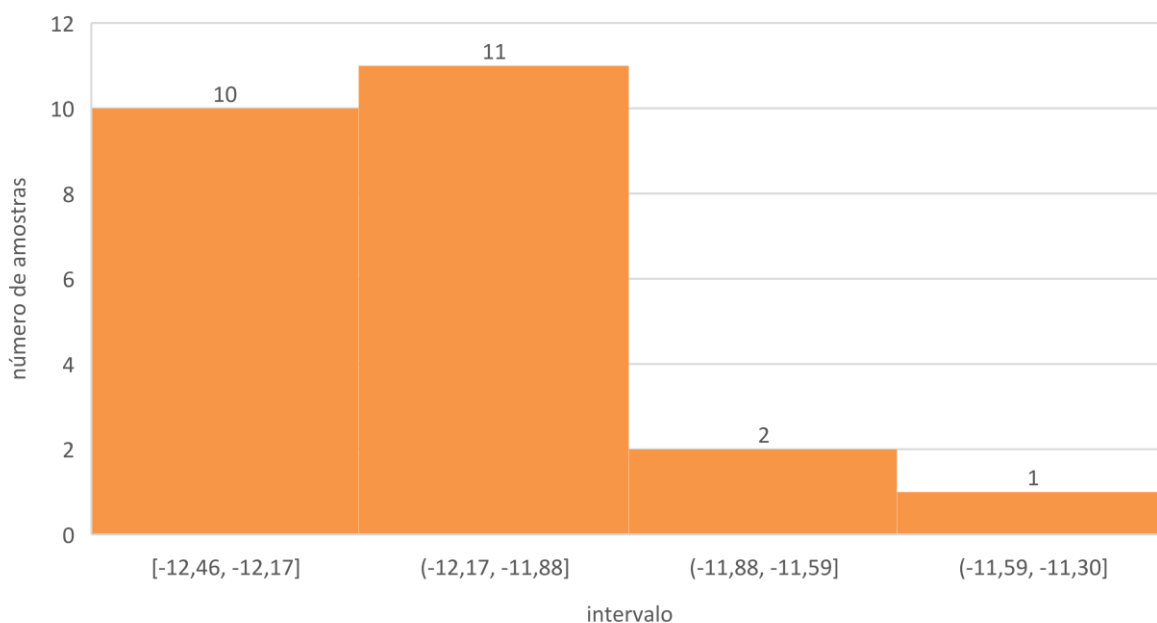


Figura 2 - Número de amostras por intervalos de valores do $\delta^{13}\text{C}$ do ano de 2023.

Com relação às 69 amostras adquiridas de açúcar, melado de cana e xarope do ano de 2022, estas foram divididas em 6 principais grupos. Os valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ de cada grupo podem ser encontrados na tabela abaixo. O grupo dos cristais (n=23) com maior número de amostras analisadas teve valor médio $\delta^{13}\text{C}$ de $-12,95\text{‰} \pm 0,32$, valor similar ao valor médio geral encontrado ($-12,97\text{‰} \pm 0,27$), mostrando uma grande correlação desse grupo com o valor geral. O grupo demerara (n=11), teve valor maior, dentro daquelas de maior amostragem ($-12,85\text{‰} \pm 0,32$), com destaque que dos sete maiores valores encontrados no geral, 4 deles estão neste grupo. O grupo do mascavo (n=15) e do refinado (n=17) tiveram valores médios menores, de $-13,02\text{‰} \pm 0,18$ e de $-13,08\text{‰} \pm 0,21$, respectivamente, e também tiveram o menor desvio padrão dentre os grupos de 0,18 e 0,21. Já o melado de cana (n=1) e os xaropes (n=2) apresentaram valores mais altos na comparação com os outros grupos, de $-12,81\text{‰}$ e $-12,62\text{‰} \pm 0,23$, respectivamente. Em 2023 foram analisadas apenas açúcares do tipo cristal (n = 6), demerara (n = 6) e refinado (n = 12), e o comportamento destes grupos de açúcares foi similar ao de 2022, com valores mais altos aos açúcares demerara ($-11,84\text{‰} \pm 0,26$), mais baixos para os refinados ($-12,21\text{‰} \pm 0,15$) e próximos à média os açúcares cristais ($-12,16\text{‰} \pm 0,18$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Tabela dos valores médios do $\delta^{13}\text{C}$ encontrados para os principais grupos de açúcar.

2022			2023	
Grupos	n	Valor médio $\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$	n	Valor médio $\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$
Cristal	23	$-12,95 \pm 0,32$	6	$-12,16 \pm 0,18$
Demerara	11	$-12,85 \pm 0,32$	6	$-11,84 \pm 0,26$
Mascavo	15	$-13,02 \pm 0,18$	-	-
Refinado	17	$-13,08 \pm 0,21$	12	$-12,21 \pm 0,15$
Xarope	2	$-12,62 \pm 0,23$	-	-
Melado	1	$-12,81$	-	-
Média	69	$-12,97 \pm 0,27$	24	$-12,10 \pm 0,24$

n = número de amostras.

As amostras de açúcar de 2022 foram provenientes de oito estados diferentes, analisando os valores médios do $\delta^{13}\text{C}$ por estado e cidade percebe-se variação entre os diferentes estados. A Figura 3 ilustra a média do $\delta^{13}\text{C}$ por estado de produção. O estado de São Paulo (n=44) foi o de maior amostragem (64% das amostras) e é também o maior produtor de cana e açúcar no Brasil, tem valor de médio de $-13,02\text{‰} \pm 0,23$; o que se assimila ao valor médio geral encontrado, de $-12,97\text{‰} \pm 0,27$, a grande quantidade de amostras de São Paulo podem ter

influenciado nesse resultado geral. Além disso, nota-se que os estados do Paraná (n=13) e de Minas Gerais (n=3) apresentam valores mais baixos, $-13,07\text{‰} \pm 0,2$ e $-13,13\text{‰} \pm 0,14$; enquanto os estados do Centro-Oeste e Nordeste tiveram valores mais altos, Pernambuco (n=1) com $-12,46\text{‰}$, Goiás (n=4) com $-12,52\text{‰} \pm 0,34$ e Alagoas (n=2) com $-12,62\text{‰} \pm 0,17$.

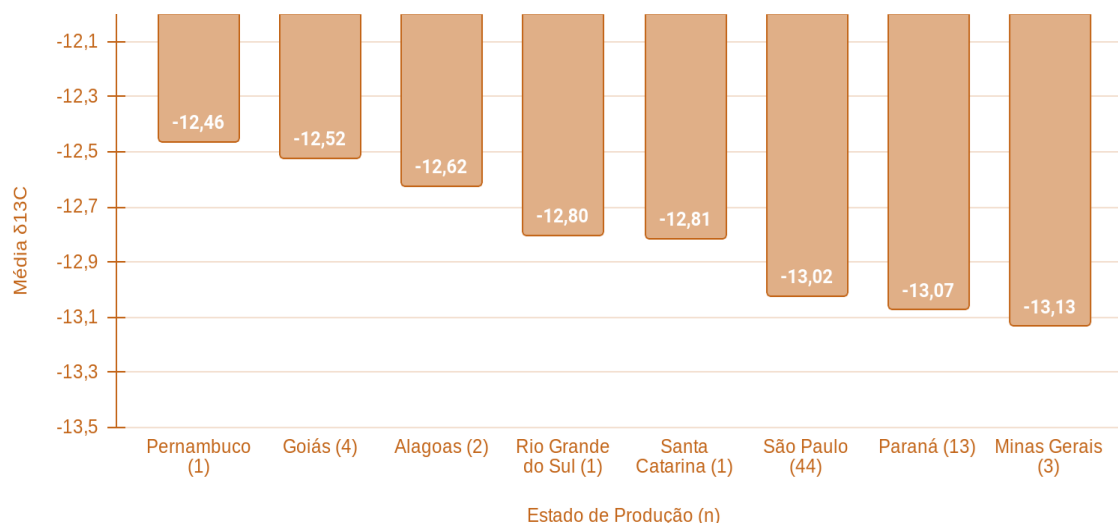


Figura 3 - Valor médio do $\delta^{13}\text{C}$ por estado de produção do açúcar de 2022.

As amostras de açúcar de 2023 foram adquiridas de apenas três estados, São Paulo (n = 20), Paraná (n = 2) e Goiás (n = 2). A variação dos valores médios do $\delta^{13}\text{C}$ entre os estados de São Paulo e Paraná foram de $-12,15\text{‰} \pm 0,18$ e $-12,14\text{‰} \pm 0,06$ respectivamente, e do estado de Goiás foi de $-11,56\text{‰} \pm 0,24$, o mais alto dos três estados. Corroborando os dados encontrados em 2022.

Analisando o clima dos locais das usinas pode-se inferir algumas hipóteses para a variação isotópica entre os diferentes estados. Calculando a média de temperatura e pluviosidade de todos os estados coletados temos a média de $22,3^{\circ}\text{C}$ e de 1.411,2mm de índice pluviométrico. A média dos estados do Sul e Sudeste neste período foi de $22,1^{\circ}\text{C}$ e 1.434,9 mm de pluviosidade. Mas, a média de temperatura e pluviosidade do outro grupo de estados, do Nordeste e Centro-Oeste (Pernambuco, Goiás e Alagoas) apresentou maior média de temperatura (24°C) e menor média de pluviosidade (1.180,9 mm), com isso tivemos valores do $\delta^{13}\text{C}$ em torno de 0,50‰ maior do que a média geral. O que pode indicar que locais com esses indicadores climáticos elevado, podem promover aumento no valor do $\delta^{13}\text{C}$, entretanto devido ao baixo número de amostras desses estados, seria interessante uma análise mais profunda posteriormente (Climate-data.org, 2023).

Por fim as médias dos valores isotópicos do $\delta^{13}\text{C}$ dos açúcares de 2022 ($-12,97\text{‰} \pm 0,27$), ficaram mais próximos dos valores encontrados em Nogueira et al. (2016) ($-12,62\text{‰}$) e Figueira et al. (2011) ($-12,77\text{‰}$) e do ano de 2023 ($-12,10\text{‰} \pm 0,24$) mais próximos do $\delta^{13}\text{C} = -11,46\text{‰}$ do BRASIL/2001.

As análises isotópicas das amostras de álcoois do ano de 2022 e 2023 apresentaram valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ de $-13,50\text{‰} \pm 0,41$ ($n=5$) em 2022, com valor máximo de $-12,86\text{‰}$ e valor mínimo de $-13,86\text{‰}$, gerando uma amplitude de $1,00\text{‰}$ entre os extremos e valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ de $-13,24\text{‰} \pm 0,27$ para os álcoois de cana, com valor máximo de $-12,71\text{‰}$ no álcool de combustível e valor mínimo de $-13,74\text{‰}$ no álcool 70%, com amplitude de $1,03\text{‰}$. Na Tabela 5 está presente os valores de $\delta^{13}\text{C}$, em triplicata, encontrados para cada amostra analisada.

Tabela 5 - Tabela dos valores do $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de álcoois dos anos de 2022 e 2023.

2022			2023	
Amostra	n	Valor Médio $\delta^{13}\text{C}$ (‰)	n	Valor Médio $\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Álcool 70%	1	-13,27	4	$-13,44 \pm 0,24$
Álcool 46%	4	$-13,45 \pm 0,45$	7	$-13,26 \pm 0,16$
Álcool combustível	-	-	2	$-12,76 \pm 0,07$
Álcool de cereais	-	-	4	$-28,86 \pm 0,66$
Álcool de cereais*	-	-	2	$-22,28 \pm 4,14$
Média (C₄)	5	$-13,50 \pm 0,41$	19	$-13,24 \pm 0,27$

n = número de amostras; * Suspeita-se que estes álcoois estão misturados C₃ e C₄.

Realizando comparativo entre os valores encontrados dos dois principais subprodutos finais da cana, o açúcar e o álcool., pode-se perceber que o valor médio encontrado do álcool, de $-13,51\text{‰} \pm 0,41$ em 2022 e $-13,24\text{‰} \pm 0,27$ em 2023, continua sendo valor menor do que o açúcar de $-12,97\text{‰} \pm 0,27$ de 2022 e $-12,10\text{‰} \pm 0,24$ de 2023; assim como na Instrução Normativa número 4/2001 do MAPA (MAPA, 2001) com valor de $-11,46\text{‰}$ para o açúcar e de $-13,28\text{‰}$ para o álcool e $-12,54\text{‰}$ do álcool de cana da OIV-MA-AS312-06.

O processo de fermentação alcóolica provocou empobrecimento de $0,53\text{‰}$ no ano de 2022 e $1,14\text{‰}$ no ano de 2023. Essa diferença encontrada pode ser por causa do baixo número de álcoois analisados em 2022. O estudo do fracionamento causado pelo processo de fermentação alcóolica e acética deve ser aprofundado para melhorar a acurácia desses valores.

Água de Coco

Foram analisadas 789 amostras de água de coco dentro dos anos de 2020 a 2023 no CIE, sendo 26 em 2020; 575 amostras em 2021; em 2022 foram 150 análises e em 2023 analisou 38 amostras. Os valores médios, máximos e mínimos do $\delta^{13}\text{C}$ das águas de coco destes anos estão plotados na Tabela 6. A Figura 4 ilustra a dispersão dos valores isotópicos das águas de coco durante os anos, e na Figura 5 contêm a análise estatística descritiva das águas de coco divididas em dois principais tipos das amostras recebidas pelo CIE, em concentrada e pronta para consumo.

Tabela 6 – Média e desvio-padrão dos valores de água de coco dos anos de 2020 a 2023, e seus respectivos valores máximos e mínimos.

Parâmetros	Valores isotópicos ($\delta^{13}\text{C}$, ‰)				
	2020	2021	2022	2023	Total
Média	-21,98 ± 3,13	-22,91 ± 2,94	-23,43 ± 3,15	-24,75 ± 0,66	-23,07 ± 2,70
Máximo	-13,55	-13,60	-13,03	-23,35	-13,05
Mínimo	-25,37	-28,15	-26,72	-25,81	-28,15

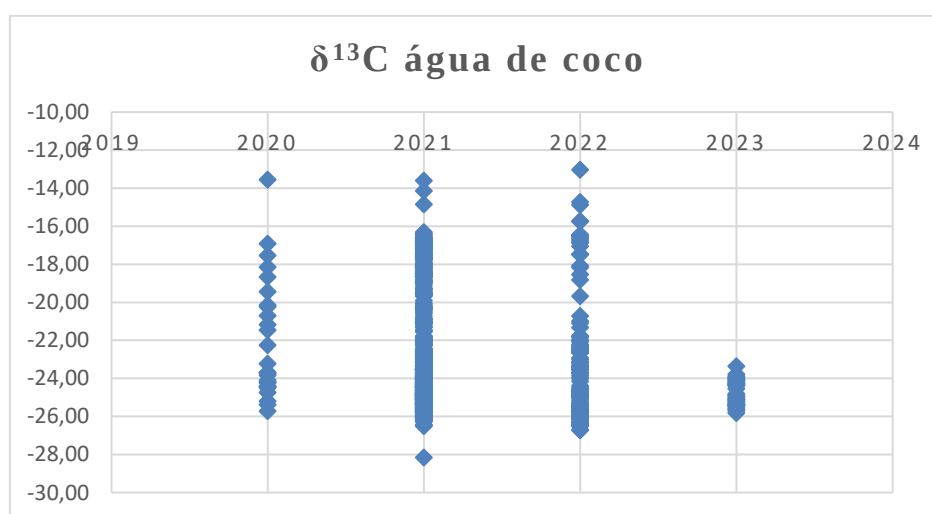


Figura 4 – Dispersão dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ das águas de coco nos anos de 2020, 2021, 2022 e 2023.

Amostras de água de coco prontas para o consumo (c) apresentaram maior dispersão dos valores de $\delta^{13}\text{C}$, com média de -21,87‰, contra -23,31‰ das amostras concentradas (a). A mediana dos valores dos tipos de água de coco também foram diferentes com menores valores também para as concentradas de -24,43‰, valor este mais condizente com o de plantas C_3 , caso o coco.

Para a determinação dos dados de amostras de água de coco não adulteradas foi considerado o valor de C_3 máximo de Imaizumi et al. (2019) e adulteradas valores superiores a este (Tabela 7).

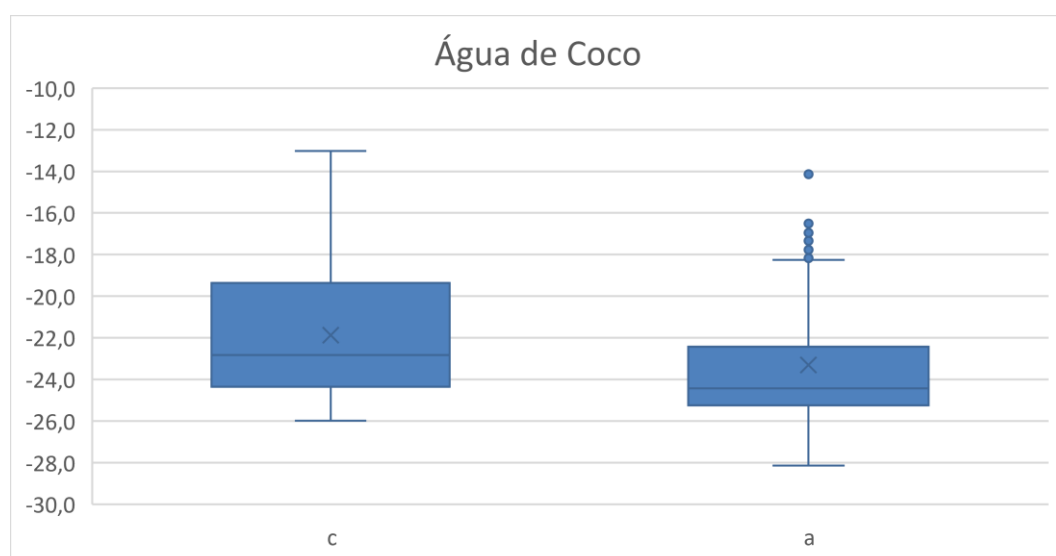


Figura 5 – Análise estatística descritiva das águas de coco concentrada (a) e prontas para consumo (c).

Tabela 7 – Valores isotópicos de análise de amostras de água de coco não adulteradas e adulteradas dos quatro anos.

Ano	Valores isotópicos ($\delta^{13}\text{C}$ em ‰)	
	Não adulterado	Adulterado
2020	média	$-24,60 \pm 0,59$
	intervalo	-25,71 a -23,83
	n	11
2021	média	$-24,92 \pm 0,65$
	intervalo	-28,15 a -23,76
	n	337
2022	média	$-25,46 \pm 0,68$
	intervalo	-26,72 a -23,84
	n	88
2023	média	$-24,79 \pm 0,65$
	intervalo	-25,81 a -23,78
	n	37
Período total	média	-25,00
	intervalo	-23,76 a -28,15
	n	473

N = número de amostras da fruta

Se aplicarmos o desvio-padrão encontrado para todos os dados analisados das águas de coc de 2020 a 2023 ($\pm 2,70$) no valor de $\delta^{13}\text{C}$ Imaizumi et al. (2019) que é de $-23,76\text{‰}$, Teremos o intervalo de $-26,46\text{‰}$ a $-21,06\text{‰}$, com média de $-24,47\text{‰}$, abrangendo 608 amostras das 789 analisadas, sendo uma porcentagem de 77% das amostras, valores mais próximos das plantas C_3 , porém mais estudos necessitam ser realizados a fim de diminuir este desvio-padrão, para melhorar a acurácia das análises de água de coco, na quantificação do açúcar adicionado nas amostras de água de coco adulteradas e determinar o intervalo isotópico seguro para as águas de coco não adulteradas.

Sucos

Foram analisadas 945 amostras de suco dentro dos anos de 2020 a 2023 no CIE, sendo 78 em 2020; 347 amostras em 2021; em 2022 foram 370 análises e em 2023 analisou 150 amostras. Os valores médios do $\delta^{13}\text{C}$ dos sucos, sólidos insolúveis e a diferença entre eles, por frutas estão plotados na Tabela 8. A Figura 5 ilustra a dispersão dos valores isotópicos dos sucos de frutas, sólidos insolúveis e a diferença isotópica entre ele, que indica a adição de açúcar C_4 nos sucos.

Tabela 8 – Valores do $\delta^{13}\text{C}$ médios dos sucos, sólidos insolúveis e a diferença isotópica entre eles analisados de 2020 a 2023.

Frutas	N	Valores isotópicos médios ($\delta^{13}\text{C}$ em ‰)		
		Suco	SI	$\neq$
Acerola	2	-26,96	*-	-
Abacaxi	13	-15,87	*-	-
Banana	7	-24,47	-26,37	1,86
Caju	155	-24,69	-27,44	2,76
Citrus	2	-22,53	-26,72	4,19
Cola	4	-17,54	*-	-
Framboesa	2	-25,93	-25,58	-0,35
Goiaba	32	-25,16	-28,89	3,60
Guaraná	4	-24,10	*-	-
Laranja	243	-25,40	-26,21	0,80
Limão	15	-23,39	*-	-
Maçã	128	-22,51	*-	-
Mamão	1	-25,31	-26,42	0,91
Manga	31	-25,25	-27,90	2,81
Maracujá	45	-22,84	-26,35	3,51
Morango	5	-23,72	-26,08	-0,21
Pêssego	30	-23,22	-27,08	3,86
Suco Verde	2	-26,18	-27,11	0,94
Tangerina	44	-26,37	-26,70	0,41
Uva	180	-26,14	**-	-
Total/Média	945	-24,66	-26,85	1,91

N = número de amostras da fruta, SI = sólidos insolúveis, $\neq$ = Diferença do $\delta^{13}\text{C}_{\text{SUCO}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{SI}}$, * sucos clarificados, que não possuem SI, ** suco de uva não extrai SI

Nossos sucos de laranja (Tabela 8) estão condizentes com a literatura, porém os valores isotópicos na literatura são muito variáveis, como por exemplo, o valor suco de laranja na AOAC-982.21-Orange (2010) é considerado como $\delta^{13}\text{C} = -24,50\text{‰}$, Martin et al., (1996) encontraram valores de $\delta^{13}\text{C} = -29,3\text{‰}$ a $-25,2\text{‰}$ e em Figueira et al., (2011) o intervalo de valores foi de $\delta^{13}\text{C} = -27,6\text{‰}$ a $-25,4\text{‰}$.

Em Figueira et al., (2011) o valor do suco de caju foi de $\delta^{13}\text{C} = -26,6\text{‰}$, mais empobrecido em quase 2‰ que o deste estudo (Tabela 8).

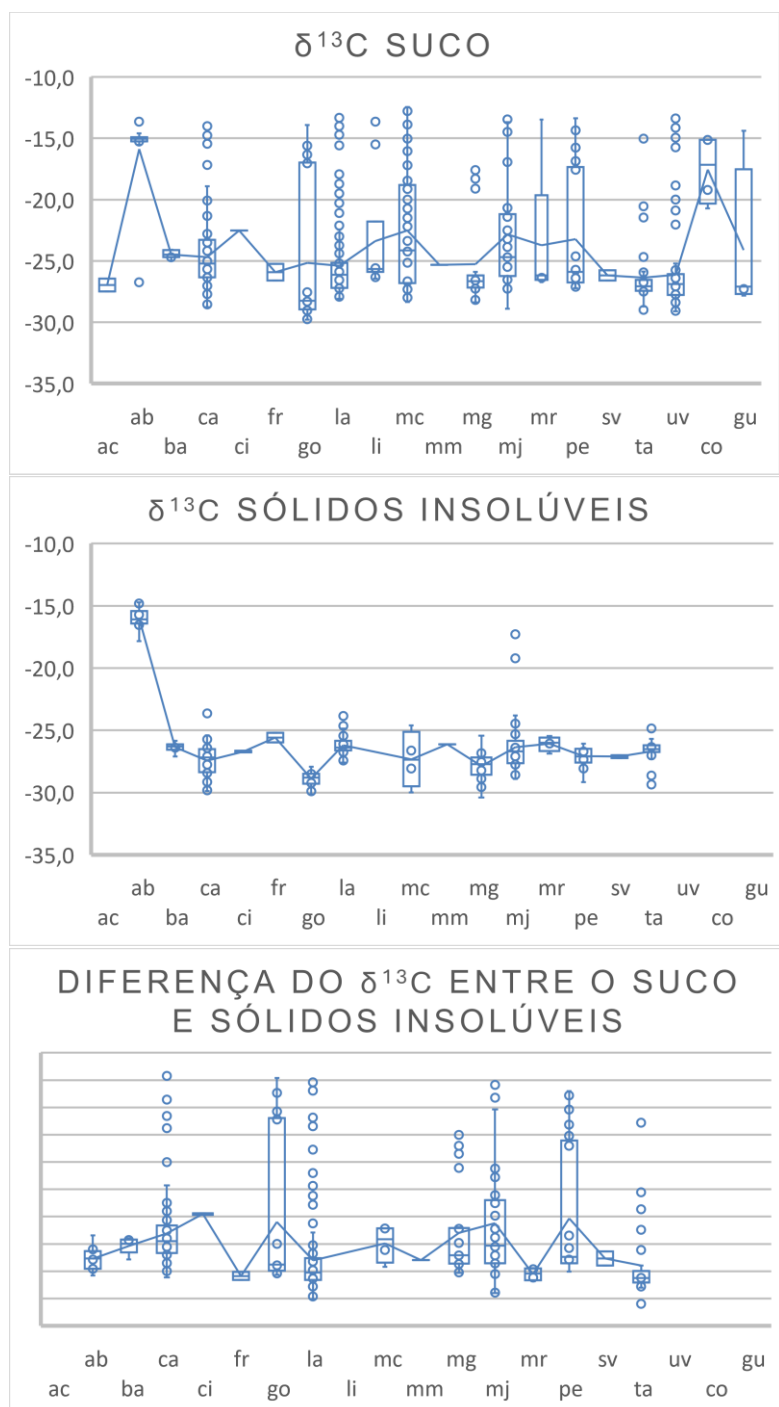


Figura 6 – Dispersão dos valores isotópicos dos sucos, sólidos insolúveis e diferença entre eles, de acordo com cada fruta analisada.

De acordo com a Figura 6 pode-se observar que muitos sucos analisados possuem adição de açúcar C_4 , pois apresentam grande dispersão dos valores isotópicos de $\delta^{13}C = -29,74\text{‰}$ a $\delta^{13}C = -12,77\text{‰}$. Quando se observa os valores dos sólidos insolúveis os valores isotópicos se encontram na faixa de $-30,00\text{‰}$ a $-25,00\text{‰}$, no caso dos sucos de frutas C_3 , e no caso do abacaxi, planta do ciclo fotossintético CAM, apresentam valores na faixa do $-16,00\text{‰}$, característico dessas plantas. Apenas no caso do maracujá apareceram dois valores outliers. No caso do gráfico das diferenças entre suco e sólidos insolúveis, pode-se observar que alguns sucos especificamente apresentaram maior adição de açúcar, como o suco de caju, goiaba, maracujá e pêssago.

De acordo com a classificação dos sucos em concentrado (a), fruta (b), néctar (c) e clarificado (d), pode-se observar que os sucos concentrados possuem, menor adição de açúcar, seguido pelos sucos clarificados e por último os néctares (Tabela 9 e Figura 7). Na literatura já está bem elucidado que a utilização de um padrão interno, no caso dos sucos, a extração dos sólidos insolúveis é o melhor método para detectar a adição de açúcar, da mesma forma que foi demonstrado neste estudo (Kelly, 2003; Queiroz, et al., 2007; Diniz, 2010; Figueira et al., 2010a, Figueira, et al., 2011a; Nogueira et al., 2011; Nogueira et al., 2016.).

Porém, os valores isotópicos dos sólidos insolúveis da mesma literatura apresentam alta variabilidade em algumas frutas, como o caso do pêssago, goiaba, maracujá, caju e laranja, que sugerem que mais estudos ainda são necessários para diminuir esta dispersão e melhorar a acurácia, como estudar estas frutas de diversas regiões, preparar os sucos e analisar isotópicamente, a fim de buscar o melhor valor da diferença entre o suco e os sólidos insolúveis, para não penar produtores honestos devido ao método de extração que pode estar causando uma diferença natural do processo.

Tabela 9 - Valores isotópicos de análise de amostras de suco e sólidos insolúveis de sucos concentrados, frutas, néctares e sucos clarificados dos quatro anos.

Tipos de sucos	Parâmetros	Suco	Sólido insolúveis
Concentrado	Média	$-25,69 \pm 2,83$	$-26,89 \pm 1,16$
	Mínimo	-29,78	-30,39
	Máximo	-13,30	-23,65
Fruta	Média	$-27,32 \pm 0,93$	
Néctar	Média	$-18,53 \pm 3,90$	$-26,66 \pm 1,41$
	Mínimo	-26,59	-29,51
	Máximo	-13,20	-23,48
Clarificado	Média	$-22,46 \pm 5,30$	-
	Mínimo	-28,00	-
	Máximo	-12,45	-

ainda há muito o que se fazer em fiscalizações, para melhorar a qualidade dos produtos para o consumidor final.

Os sólidos insolúveis extraído dos sucos de frutas é o melhor parâmetro para indicar a adição de açúcar no suco. Como era de se esperar os néctares de frutas são os sucos com maior teor de açúcar de cana adicionado. Alguns sucos de frutas apresentaram alta variabilidade dos valores isotópicos, dentre eles o suco de caju, goiaba, pêssgo e laranja, que precisam de maiores investigações futuras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGEROSA, F.; BASTI, C.; VITO, R. Virgin olive oil volatile compounds from lipoxygenase pathway and characterization of some Italian cultivars. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 47, n. 3, p. 836-839, 1999
- ARAMENDIA, M. A. et al. Oxygen-18 measurement of Andalusian olive oils by continuous flow pyrolysis/isotope ratio mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 21, p. 487–496, 2007.
- BRASIL, 2001. Instrução Normativa 4 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília**, 8 de fevereiro de 2001. Seção 1, nº28, p. 3.
- BRASIL, 2021 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portal Inspeção de Produtos de Origem Vegetal. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal>. Acesso em 08 fev. 2021.
- CAMIN, F., et al. Application of multielement stable isotope ratio analysis to the characterization of French, Italian and Spanish cheeses. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.52, p. 6592–6601, 2004.
- CAMIN, F., et al. Isotopic and elemental data for tracing the origin of European olive oils. **Food Chemistry**, v. 58, p. 570–577, 2010a.
- CAMIN, F., et al. Characterization of authentic Italian extra-virgin olive oils by stable isotopes ratios of C, O and H and mineral composition. **Food Chemistry**, v. 118, p. 901–909, 2010b.
- CAMPAGNOL, G.; ANDRADE, C. R. M.; **Usinas de açúcar: habitação e patrimônio industrial**. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008
- DINIZ, A. P. C. Aplicação da razão isotópica do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) para detecção de adulteração em bebidas a base de maracujá - *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. 2010. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.
- DONER, L.W. Application of natural variations in $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios to detect adulteration of orange, lemon, and apple juices. In: NAGY, S.; ATTAWAY, J. A.; RHODES, M.E. *Adulteration of Fruit Juice Beverage*. 2. ed. New York: Marcel Decker, cap. 7, p. 125-138, 1995.

- FIGUEIRA, R., et al. Método de análise isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) e quantificação da percentagem de fonte C3 em sucos de uva comerciais. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 13, n. 2, p. 147-155, 2010a.
- FIGUEIRA, R., et al. Análise isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) e legalidade em néctares de uva. **Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA)**, v. 28, n. 2, p. 233-246, 2010b.
- FIGUEIRA, R., et al. Método de análise isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) e limite de legalidade em néctar de laranja. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 3, p. 211-219, 2011a.
- FIGUEIRA, R., et al. Isotope analysis ($\delta^{13}\text{C}$) of pulpy whole apple juice. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 31, n. 3, p. 660-665, 2011b.
- FIGUEIRA, R., et al. Análise isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) e legalidade em suco e polpa de caju. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 4, p. 317-324, 2011c.
- FIGUEIRA, R.; VENTURINI FILHO, W.G.; DUCATTI, C. Carbon isotope analysis in apple nectar beverages. **Food Science and Technology** v.33, p. 32-37, 2013.
- IMAIZUMI, Vitor Massami et al . Use of stable isotopes of carbon to detect coconut water adulteration. **Sci. agric. (Piracicaba, Braz.)**, Piracicaba, v. 76, n. 3, p. 261-265, May 2019.
- KELLY, S.D. Using stable isotope ratio mass spectrometry (IRMS) in food authentication and traceability. In: LEES, M. **Food authenticity and traceability**. chap.7, p.156-183, 2003
- LEMOES, E. G. M.; STRADIOTTO, N. R; **Bioenergia: desenvolvimento, pesquisa e inovação**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2012
- MANCA, G.; et al. Characterization of the geographical origin of Pecorino Sardo cheese by casein stable isotope ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) ratios and free amino acid ratios. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 1404–1409, 2001.
- MARTIN GG, MARTIN YL, NAULET N, MCMANUS HJ. Application of ^2H SNIF-NMR and ^{13}C SIRA-MS analyses to maple syrup: detection of added sugars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**.v.44, p. 3206–3213, 1996.
- NOGUEIRA, A. M. P. et al. Análise isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) para detecção de adulteração em néctares de pêssogo. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 2, p. 115-124, 2011.
- NOGUEIRA, A. et al; Análise isotópica do carbono e legalidade de polpas, sucos tropicais e néctares comerciais de goiaba; **Boletim centro de pesquisa de processamento de alimentos**; v.34, n.2, 2016.
- QUEIROZ, E. et al. Quantificação de açúcar de cana em suco de laranja através de análise isotópica do carbono-13 ($\delta^{13}\text{C}$). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 4, p. 278-284, 2007.
- QUEIROZ, E. et al. Determinação da razão isotópica ^{13}C em bebidas comerciais a base de laranja. **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**, v. 33, n. 4, p. 1085-1094, 2009.
- NOVA CANA. "Números Finais da Safra de Cana-de-Açúcar 2021/22". Nova Cana, <https://www.novacana.com/noticias/numeros-finais-safra-cana-de-acucar-2021-22->

120422. Acesso em 20 de maio de 2024.

- REID, L. M.; O'DONNELL, C. P.; DOWNEY, G. Recent technological advances for the determination of food authenticity. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 7, p. 344-353, 2006.
- ROSSI, N.F. et al; Análise da adulteração de méis por açúcares comerciais utilizando-se a composição isotópica de carbono.; **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 199-204, 1999.
- ROSSMANN, A., et al. The potential of multielement stable isotope analysis for regional origin assignment of butter. **European Food Research and Technology**, v. 211, n. 1, p. 32–40, 2000.
- SONESTEDT, E et al; Does high sugar consumption exacerbate cardiometabolic risk factors and increase the risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease?; **Food & Nutrition Research**. 2012;56:19104
- THOMAS, F.; HAMMOND, D. Food integrity handbook a guide to food authenticity issues and analytical solutions; cap.10, **Plant-derived sugars and sweeteners**, 2018, p. 155-172
- VILLEN, R. A.; Mauá: biotecnologia: histórico e tendências; **Mauá: Escola de Engenharia de Mauá**, 2009. Apostila.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases; Geneva: **World Health Organization**, 2003.