

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” – UNESP
Instituto De Biociências De Botucatu - Campus de Botucatu

DAVI AUGUSTO SCHUINDT DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO ISOTÓPICA DO CARBONO-13 DOS
SUBPRODUTOS PRESENTES NA COMPOSIÇÃO DE
BISCOITOS DOCES E SALGADOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Instituto de Biociências, Campus de Botucatu,
como parte dos requisitos para conclusão do curso de
graduação em Física Médica.

Orientador: Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa.

BOTUCATU

2024

S237a Santos, Davi Augusto Schuindt
Avaliação Isotópica Do Carbono-13 dos Subprodutos
Presentes na Composição de Biscoitos Doces e Salgados /
Davi Augusto Schuindt Santos. -- Botucatu, 2024
29 p. : tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Física
Médica) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Instituto de Biociências, Botucatu
Orientador: Vladimir Eliodoro Costa

1. Isótopos Estáveis. 2. Física Nuclear. 3.
Biotecnologia. 4. Alimentos. I. Título.

DAVI AUGUSTO SCHUINDT DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO ISOTÓPICA DO CARBONO-13 DOS
SUBPRODUTOS PRESENTES NA COMPOSIÇÃO DE
BISCOITOS DOCES E SALGADOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Bacharel em Física Médica.

Data da Defesa: 27/11/2024

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa
Departamento de Biofísica e Farmacologia



Prof. Dr. Paulo Roberto Rodrigues Ramos
Departamento de Biofísica e Farmacologia



Pós-doutorado Juliana Célia Denadai
Centro de Isótopos Estáveis

BOTUCATU

2024

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho para todas as pessoas que realizam ciência e desenvolvem a educação no Brasil.

À minha base familiar, que sempre acreditaram e incentivaram a minha jornada ao longo desses 4 anos de formação em Física Médica. São estes, meus avós Eunice e Hermelindo, minhas irmãs Amanda Luiza e Melissa Vitória e meus pais José Luis e Sheila Cynira. O apoio concedido dessas pessoas na minha vida é incalculável.

Aos meus amigos que estavam comigo anteriormente a esses quatro anos de graduação e me acompanharam ao decorrer dela. Mas, também aos que conheci ao longo da minha trajetória na UNESP. São estes, Carlo Luders, Gabriel Chahine, Giovanni Cuoghi, Guilherme de Paula, Iury Victorino, Letícia Graciane, Lucas Tomazette, Luis Felipe Pereira, Maria Eduarda Torres, Rafael Scarpa e Yuri Souza. Há outros nomes que não caberiam, para serem citados nesse documento, mas corroboraram para minha formação no curso e facilitando dias difíceis.

Por fim, dedico também à minha gata de estimação Severina e à minha cachorra falecida neste ano de 2024, Sunny, que ela esteja descansando em Paz neste momento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa e ao grupo de pesquisa composto por: Juliana Célia Denadai, Paulo Perin, Samuel Perri Gimenes, Vitória Duarte e Vitor Hugo Breda. Sem o auxílio de todos não seria possível realizar este trabalho.

Meus agradecimentos à minha família e amigos pelo apoio emocional e psicológico durante todo esse período.

Ao Centro de Isótopos Estáveis pela estrutura e auxílio nessa pesquisa. A Unesp de Botucatu e ao Instituto de Biociências de Botucatu por toda estrutura fornecida nesses 4 anos de graduação.

Ao PIBIC CNPq pelo apoio financeiro.

Por fim, agradeço a Deus, que sempre guiou meus passos ao longo da minha vida e me concedeu proteção, sabedoria e bênçãos inestimáveis ao longo dos 4 anos de curso. Sem ele nada disso seria possível.

Provérbios 16:9 - “Em seu coração o homem planeja o seu caminho, mas o Senhor determina os seus passos”.

Resumo

Neste estudo, foram avaliados os principais subprodutos de biscoitos, doces e salgados, por meio da análise isotópica do carbono-13. Para tanto, 56 amostras de biscoitos salgados e 78 amostras de biscoitos doces foram adquiridas em estabelecimentos comerciais das cidades de São Paulo e Botucatu. A preparação das amostras incluiu metodologias com objetivo de separar os subprodutos que compõem os biscoitos, para uma análise isolada e precisa desses ingredientes, conferindo assim precisão nas avaliações realizadas. Com os dados obtidos, foi possível então avaliar tanto os biscoitos salgados quanto os doces, como por exemplo, verificando a quantidade de milho (*Zea mays L*) presente nas amostras de biscoito salgado, a veracidade da rotulagem que descrevem os biscoitos doces e a origem da gordura proveniente de ambos os produtos. Em algumas amostras de biscoito salgado comercializado como batata (*Solanum tuberosum L*) detectou-se até 23% de presença de milho na composição de sua massa. Foi observado também valores de $\delta^{13}\text{C}$, para a farinha de trigo (*Triticum*) que compõe a massa dos biscoitos doces, próximos aos descritos em outras literaturas no Brasil. E por fim, na maior parte dos biscoitos salgados e doces, que tiveram o valor isotópico da gordura analisado, evidenciaram a fonte dessa gordura sendo de soja (*Glycine max*). Portanto, foi possível ao longo desse estudo avaliar de diversas formas, os subprodutos que compõe os biscoitos salgados e os doces, de modo que, análises como a realizada nesse estudo, que utilizam da espectrometria de massa de razão isotópica podem corroborar a verificação da autenticidade de alimentos, como os biscoitos, sendo uma ferramenta com grande potencial de otimizar a fiscalização desses produtos.

Palavras-chaves: Isótopos Estáveis; Física Médica; Biotecnologia; Alimentos.

Abstract

This study evaluated the primary by-products of biscuits, sweets, and savory snacks using carbon-13 isotopic analysis. A total of 56 savory biscuit samples and 80 sweet biscuit samples were purchased from commercial establishments in São Paulo and Botucatu. Sample preparation involved methodologies aimed at isolating the individual by-products that compose the biscuits, ensuring precise ingredient-specific analysis and reliable evaluations. The data collected enabled the assessment of both savory and sweet biscuits. For instance, it was possible to determine the corn (*Zea mays L*) content in savory biscuit samples, verify the accuracy of the labeling on sweet biscuits, and identify the origin of the fats used in both product types. In some savory biscuit samples marketed as "potato-based" (*Solanum tuberosum L*), up to 23% corn content was detected in the dough composition. Additionally, $\delta^{13}\text{C}$ values for wheat (*Triticum*) flour in sweet biscuits were consistent with those reported in Brazilian literature. Furthermore, in most savory and sweet biscuit samples, isotopic analysis revealed that soybean (*Glycine max*) was the primary source of the fat used. Overall, this study successfully evaluated various by-products in savory and sweet biscuits. Analytical methods like those employed here, using isotopic ratio mass spectrometry, can support the authentication of food products such as biscuits. This approach has significant potential to enhance the monitoring and regulation of these products.

Keywords: Stable Isotopes; Medical Physics; Biotechnology; Food.

SUMÁRIO

Resumo.....	6
Abstract.....	7
1. Introdução.....	9
2. Objetivo.....	11
3. Materiais e Métodos.....	11
• 3.1 Amostragem.....	11
• 3.2 Preparação dos Biscoitos Salgados.....	15
• 3.3 Preparação dos Biscoitos Doces.....	18
• 3.4 Análises Isotópicas de Carbono das Amostras.....	19
• 3.5 Análise Estatísticas dos Resultados.....	20
4. Resultados e Discussões.....	21
• 4.1 Resultados e Discussões dos Biscoitos Salgados.....	21
• 4.2 Resultados e Discussões dos Biscoitos Salgados.....	26
5. Conclusão.....	27
6. Referências Bibliográficas.....	28

1. Introdução

O consumo de alimentos industrializados está associado com doenças como a obesidade e o sobrepeso, este fato ocorre devido à elevada quantidade de gordura e açúcar que esses alimentos costumam possuir [1]. Os biscoitos salgados, popularmente conhecidos como salgadinhos, são alimentos ultraprocessados que apresentam elevado teor de lipídios [2]. Já os biscoitos doces, que podem ser conhecidos como bolachas, são, assim como os salgadinhos, produtos ultraprocessados com alto teor de lipídios, além de possuírem quantidade expressiva de açúcar adicionado [1][3]. Sendo assim, tanto biscoitos doces quanto salgados, são em geral alimentos calóricos e pouco nutritivos.

Entretanto, a praticidade e os mecanismos apelativos de consumo que os alimentos ultraprocessados utilizam, como as diversas opções de sabores e texturas, corroboram o aumento do consumo desse tipo de alimento, em especial para o público infanto-juvenil [4][5][6]. Esse público, em especial as crianças, apresentam dificuldade na compreensão dos conceitos nutricionais dos alimentos e, conseqüentemente, não se atentam à rotulagem nutricional. Assim a escolha dietética desse público é menos consciente [7].

Outro ponto a se considerar é que os alimentos ultraprocessados derivados de produtos agrícolas como os biscoitos, doces ou salgados, passam por processos que podem ser desconhecidos pelo consumidor final. É necessária uma fiscalização desses produtos que podem apresentar irregularidades ao longo da sua cadeia de produção como por exemplo contaminações e adulterações [8].

A RDC 429, emitida pela ANVISA em 8 de outubro de 2020, propõe os selos de alerta de “alto em açúcar adicionado” e “alto em gordura saturada” na rotulagem de produtos a partir de certa concentração dos mesmos. Para alimentos sólidos o alerta de “alto em açúcar adicionado” deve constar nas embalagens dos produtos que contenham 15 gramas ou mais de açúcar adicionado em 100 gramas do produto, no caso da gordura saturada o alerta é adicionado a partir de 6 gramas em 100 gramas [9].

Sendo assim, a legislação brasileira adota medidas relacionadas à rotulagem e fiscalização dos produtos que contém em excesso tais ingredientes. Devido, às eventuais falhas de fiscalização, reforça-se a importância desse tipo de medida a fim de garantir que o consumidor final se sinta seguro e realize sua escolha dietética de modo mais consciente [10].

A fraude alimentar é intencional, e a falsificação na rotulagem pode ser utilizada para mascarar adições que não são desejadas à ciência do consumidor final [11]. A ausência ou quantidades desproporcionais de produtos que compõem o alimento também pode ser fraudada.

Uma ferramenta que pode ser utilizada para verificação da autenticidade de alimentos de maneira precisa e moderna, é a metodologia da análise isotópica, sendo capaz de atestar o cumprimento de normas como a RDC 429 [12].

Os biscoitos doces são compostos de farinha, açúcar e gordura [3]. A farinha do biscoito doce é em geral de trigo ou milho, e o açúcar é proveniente da sacarose originária da cana-de-açúcar e a gordura comumente derivada de fonte vegetal. Enquanto os salgados, apresentam massa em geral composta de milho ou batata que é frita ou assada na presença de gordura oleaginosa [13].

A gordura vegetal utilizada para a produção dos biscoitos doces, bem como os óleos vegetais presente nos biscoitos salgados, tendem a ser provenientes da soja (*Glycine max*), visto que é o mais utilizado no Brasil [14][15]. A soja assim como o trigo (*Triticum*) e a batata (*Solanum tuberosum L*) presentes nas massas dos biscoitos são plantas de metabolismo fotossintético da rota C3 [15]. Já a cana-de-açúcar (*Saccharum officinal*) que provém a fonte de sacarose dos biscoitos doces e o milho (*Zea mays L*) presente na massa de certos biscoitos salgados são plantas que tem a sua rota fotossintética sendo C4 [14].

Os metabolismos fotossintéticos conferem variação específica na proporção de isótopos estáveis de carbono-13, de modo que é possível diferenciar algumas plantas a partir da rota de seu metabolismo [16]. Para os metabolismos de rota fotossintética C3 e C4, é possível realizar essa diferenciação a partir dos valores de razão isotópica de carbono-13. As plantas de origem C3 apresentam valores de $\delta^{13}\text{C}$ (razão isotópica) de -22,00‰ a -34,00‰ e as de origem C4, tem este valor de -9,00‰ a -16,00‰ [12][16].

Sendo as massas dos biscoitos doces composta de trigo e/ou milho e as massas dos biscoitos salgados de batata ou milho, a partir do Espectrômetro de massa de razão isotópica (IRMS) elas podem ser analisadas e avaliadas a partir dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ obtidos. Isto é possível uma vez que as matrizes apresentam rotas fotossintéticas diferentes. Para a gordura e o açúcar também apresentam valores que diferem, e podem ser avaliados para verificação da real fonte utilizada em cada uma.

Portanto, os biscoitos doces e os salgados são compostos por matérias-primas de origem agrícola. As fontes dessas matérias-primas, sendo de origem C3 ou C4 ao serem separadas e analisadas pela metodologia de espectrometria de massa de razão isotópica fornecem valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos subprodutos que compõem esses biscoitos. Assim, a avaliação desses subprodutos a partir dessa técnica pode ser realizada e fornecer informações úteis para a veracidade da rotulagem desses produtos.

2. Objetivo

Este estudo teve como objetivo avaliar, por meio da análise de espectrometria de massa de razão isotópica, os principais produtos que compõem biscoitos doces e salgados a partir de seus valores de $\delta^{13}\text{C}$.

3. Materiais e Métodos

3.1 Amostragem

Os biscoitos salgados e os produtos derivados de milho foram de variadas marcas e adquiridos em diversos mercados dos municípios de São Paulo e Botucatu. A figura 1 apresenta as amostras coletadas.



Figura 1 - Amostras de Biscoitos Salgados (n = 56).

A tabela 1 apresenta o número da amostra de biscoito, o seu tipo e 3 primeiros ingredientes para produção indicado na rotulagem das embalagens.

Tabela 1 – Amostras de biscoitos salgados utilizados para o estudo, explicitando o tipo de biscoito e seus 3 primeiros ingredientes (n=56).

Amostras	Tipo	1º Ingrediente	2º Ingrediente	3º Ingrediente
1	Ondulada	Batata	Óleo Vegetal	Sal
2	Lisa	Batata	Óleo Vegetal	Sal

3	Tube	Batata	Óleo Palma	Mandioca
4	Ondulada	Batata	Óleo Girassol	Sal
5	Salgadinho	Milho	Óleo Vegetal	Sal
6	Lisa	Batata	Óleo Girassol	Sal
7	Salgadinho	Milho	Óleo Soja	-
8	Salgadinho	Trigo	Óleo Palma	Óleo Soja
9	Ondulada	Batata	Óleo Palma	Óleo Soja
10	Salgadinho	Milho	Óleo Soja	-
11	Tube	Batata	Óleo Vegetal	Amido
12	Palha	Batata	Óleo Palma	Óleo Soja
13	Palha	Batata	Óleo Palma	Óleo Soja
14	Salgadinho	Milho	Óleo Palma	Óleo Soja
15	Salgadinho	Milho	Óleo Palma	Sal
16	Salgadinho	Milho	-	-
17	Salgadinho	Milho	Óleo Soja	Sal
18	Palha	Batata	Óleo Vegetal	Sal
19	Lisa	Batata	Óleo Girassol	Sal
20	Palha	Batata	Gordura Vegetal	Sal
21	Lisa	Batata	Óleo Palma	Sal
22	Palha	Batata	Óleo Palma	Sal
23	Ondulada	Batata	Óleo Palma	Sal
24	Palha	Batata	Gordura Vegetal	Sal
25	Lisa	Batata	Óleo Palma	Óleo Soja
26	Lisa	Batata	Óleo Girassol	Azeite Oliva
27	Salgadinho	Milho	Óleo Soja	Milho
28	Ondulada	Batata	Óleo Palma	Sal
29	Salgadinho	Batata	Gordura Vegetal	Amido Arroz
30	Ondulada	Batata	Óleo Palma	Sal
31	Palha	Batata	Óleo Palma	Sal
32	Palha	Batata	Óleo Palma	Sal
33	Lisa	Batata	Óleo Palma	Sal
34	Tube	Batata	Óleo Vegetal	Milho
35	Palha	Batata	Gordura Vegetal	Sal
36	Lisa	Batata	Gordura Vegetal	Sal
37	Ondulada	Batata	Gordura Vegetal	Sal
38	Salgadinho	Milho	Óleo Vegetal	Sal
39	Palha	Batata	Óleo Vegetal	Sal
40	Palha	Batata	Óleo Vegetal	Sal
41	Palha	Batata	Óleo Vegetal	Sal
42	Lisa	Batata	Óleo Vegetal	Sal
43	Palha	Batata	Gordura Vegetal	Sal
44	Palha	Batata	Gordura Palma	Sal
45	Ondulada	Batata	Gordura Palma	Sal
46	Lisa	Batata	Gordura Palma	Sal
47	Tube	Batata	Óleo Girassol	Amido Batata
48	Ondulada	Batata	Óleo Palma	Fécula de batata
49	Lisa	Batata	Óleo Palma	Fécula de Batata
50	Palha	Batata	Óleo Palma	Sal
51	Palha	Batata	Óleo Vegetal	Sal
52	Salgadinho	Milho	Óleo Palma	Trigo
53	Palha	Batata	Gordura Vegetal	Sal

54	Palha	Batata	Gordura Vegetal	Sal
55	Tubo	Batata	Óleo Vegetal	Trigo
56	Frita	Batata	Óleo	Sal

Fonte: Próprio Autor

Os biscoitos doces são, assim como os biscoitos salgados, de variadas marcas e foram adquiridos em diversos mercados dos municípios de São Paulo e Botucatu. A figura 2 apresenta as amostras coletadas. Foram utilizados neste estudo um grupo menor de biscoitos em relação a quantidade dos que foram adquiridos, estes biscoitos utilizados foram selecionados a fim de que fosse abrangido a maior variedade possível de marcas e tipos.



Figura 2 – Amostras de Biscoitos Doces (n=78).

A tabela 2 apresenta o número da amostra de biscoito, seu tipo e 3 primeiros ingredientes para produção indicado na rotulagem das embalagens. Foram escolhidas para o estudo 40 biscoitos dos 78 adquiridos, esta escolha foi feita a fim de otimizar o tempo de realização do estudo sem comprometer a qualidade da avaliação dos diferentes tipos de biscoitos. Assim, os 40 biscoitos escolhidos foram selecionados a fim de cobrir a maior abrangência de tipos possíveis evitando a repetição

Tabela 2 – Amostras de biscoitos doces utilizados para o estudo, explicitando o tipo de biscoito e seus 3 primeiros ingredientes (n=40).

Amostra	Tipo	1º Ingrediente	2º Ingrediente	3º Ingrediente
1	Maizena	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
3	Maizena	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
10	Maizena	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
14	Maizena	Farinha de Trigo	Açúcar	Creme de Milho
15	Maizena	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
17	Rosquinha	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
21	Rosquinha	Amido de Milho	Açúcar	Farinha de Trigo
22	Rosquinha	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Palma
24	Rosquinha	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
25	Rosquinha	Farinha de Trigo	Açúcar	Amido de Milho
28	Sequillo	Amido de Milho	Açúcar	Farinha de Trigo
29	Sequillo	Fécula Mandioca	Ovo	Açúcar
30	Sequillo	Amido de Milho	Açúcar	Ovo
32	Leite	Farinha de Trigo	Açúcar	Amido de Milho
35	Maria	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
37	Amanteigado	Farinha de Trigo	Açúcar	Amido de Milho
40	Maltado	Farinha de Trigo	Açúcar	Leite
41	Maltado	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
43	Champanhe	Açúcar	Farinha de Trigo	Ovo
44	Champanhe	Açúcar	Farinha de Trigo	Ovo
45	Champanhe	Açúcar	Farinha de Trigo	Ovo
47	Cookie	Farinha de Trigo	Gota de Chocolate	Açúcar
52	Cookie	Farinha de Trigo	Farinha de Trigo	Gordura Girassol
53	Cookie	Farinha de Trigo	Aveia	Gordura Vegetal
54	Cookie	Farinha de Trigo	Farinha de Trigo	Gordura Vegetal
58	Cookie	Farinha de Trigo	Açúcar	Gota de Chocolate
60	Cereal	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
61	Cereal	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
62	Cereal	Farinha de Trigo	Farinha de Trigo	Açúcar
64	Cereal	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
65	Cereal	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
63	Cereal	Farinha de Trigo	Gordura Vegetal	Açúcar
69	Biscoito	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
66	Cereal	Farinha de Trigo	Farinha de Trigo	Gordura Girassol
70	Biscoito	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
71	Biscoito	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
74	Broinha	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
75	Broinha	Farinha de Trigo	Açúcar	Gordura Vegetal
76	Broinha	Farinha de Trigo	Creme de Milho	Açúcar
78	Cereal	Farinha de Trigo	Farinha de Trigo	Gordura Palma

Fonte: Próprio Autor

3.2 Preparação das Amostras de Biscoito Salgados

Os biscoitos salgados passaram por 3 tipos de preparação. A primeira preparação buscou obter os valores de $\delta^{13}\text{C}$ da massa dos biscoitos, sendo necessário o emprego de metodologia de remoção de gordura para a preparação dessas amostras. A segunda preparação, buscou quantificar o percentual de milho presente nas amostras, sendo necessário obter os valores de referência batata e milho para o cálculo desse percentual.

Por fim, a terceira preparação buscou isolar os subprodutos dos biscoitos centrifugando as amostras com a adição de água destilada, de modo que cada amostra fosse separada em 3 fases heterogêneas, sendo estas, a fase sobrenadante (gordura emulsificada), a fase líquida (sólido solúvel) e a fase sólida (sólido insolúvel). Para realizar a avaliação dos biscoitos salgados então foi necessário realizar essas 3 preparações para as amostras, sendo denominadas respectivamente: remoção de gordura, cálculo do percentual de milho e a centrifugação do produto (heterogêneo de 3 fases).

3.2.1 Remoção de Gordura

Conforme observado na Tabela 1, os biscoitos salgados adquiridos para análise são constituídos por massa, sendo em sua maioria de matriz principal batata ou milho, e uma fonte de gordura, sendo em maior parte descrita como um óleo de origem vegetal. Para uma análise que fosse capaz de diferenciar as massas, foi necessário realizar a remoção dessa gordura oleaginosa, pois poderiam alterar os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dessas massas.

Assim, foi utilizada uma metodologia baseada na técnica desenvolvida por Bligh e Dyer para a remoção da gordura oriunda da fritura presente nos biscoitos [17]. Este procedimento consistiu em adicionar uma mistura de clorofórmio-metanol com proporção de 2:1 (V:V) à amostra e centrifugar essa nova solução, de modo que a fase líquida apresentasse a mistura junto com a gordura que estava presente na amostra e a fase sólida apresenta a amostra com a gordura removida.

O procedimento realizado para a preparação das amostras foi dividido em 5 etapas, que foram repetidas em todas as 56 amostras. A primeira etapa foi a trituração, utilizando um almofariz com pistilo, de uma alíquota do biscoito. Na segunda etapa, adicionou-se uma mistura de clorofórmio-metanol de modo que cobrisse a amostra triturada por completo em um tubo de ensaio de vidro de 45 ml dentro da capela. Na terceira etapa, foi realizada a centrifugação desta solução (amostra com a mistura adicionada) e então posta para descanso por 1 hora.

Na quarta etapa, foi reservada a fase líquida para descarte controlado e adicionada água destilada à fase sólida para lavar a amostra que em seguida foi levada à estufa por 24 horas para sua secagem. Por fim, na quinta etapa, a amostra foi introduzida em uma cápsula de estanho com uma massa de 0,05 a 0,15 mg e então levada ao Espectrômetro de massa de razão isotópica.

Portanto, foram obtidas 56 amostras, uma de cada biscoito salgado, para análise da fase sólida. Essa fase apresentou a massa insolúvel sem gordura das amostras, sendo assim a massa pura dos biscoitos.

Este procedimento foi reproduzido para a fase sólida (massa insolúvel) dos biscoitos doces, conforme a sexta etapa do item 3.3.1.

3.2.2 Cálculo do Percentual de Milho para os Biscoitos Salgados

Após, obter os valores de $\delta^{13}\text{C}$ da metodologia da remoção de gordura do item 3.2.1, estes dados da massa pura (sem gordura) foram utilizados para realizar a quantificação do milho adicionado nos biscoitos salgados, assim sendo realizado então o cálculo do percentual de milho dessas amostras.

Para realizar o cálculo do percentual de milho foi necessário obter o valor de referência de $\delta^{13}\text{C}$ para o milho e a batata. Portanto, foi realizada a análise dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ de 4 produtos derivados de milho (um amido de milho, um milho em flocos e dois fubás de milho) e de uma batata (com e sem casca), para isso estes produtos foram introduzidos em cápsulas de estanho com massa de 0,05 a 0,15 mg e, então, encaminhados ao Espectrômetro de massa de razão isotópica. A média destes valores foi utilizada como referência para o valor de $\delta^{13}\text{C}$ do milho ($M \delta^{13}\text{C}$) e da batata ($B \delta^{13}\text{C}$), que por sua vez foram utilizadas na Equação 1.

$$\% \text{ Milho} = \frac{B\delta^{13}\text{C} - \delta^{13}\text{C}}{B\delta^{13}\text{C} - M\delta^{13}\text{C}} \quad (1)$$

Na equação 1, % Milho é o percentual de milho presente nas amostras; $\delta^{13}\text{C}$ é o valor de cada uma das amostras, $M\delta^{13}\text{C}$ é a média dos valores das amostras de referências de milho, e $B\delta^{13}\text{C}$ é a média dos valores de referências da batata.

A partir dessa equação foi possível então quantificar o percentual de milho adicionado nos biscoitos salgados.

3.2.3 Centrifugação do Produto: Heterogêneo de 3 Fases para os Biscoitos Salgados

Após o cálculo do percentual de milho, as 3 amostras de matriz principal batata que apresentaram mais de 10% de milho adicionado e as 3 amostras de milho que apresentaram menos de 90% de quantidade de milho, totalizando 6 amostras, foram preparadas a partir de um novo procedimento de centrifugação. Procedimento esse a fim de obter os valores de $\delta^{13}\text{C}$ da massa solúvel, massa insolúvel e gordura emulsificada. Para essa análise também foi obtido o valor da massa seca sem passar por processo químico, sendo assim a massa seca (com gordura).

Esta metodologia buscou analisar especificamente os componentes dos biscoitos, sendo feita a partir da adaptação da Instrução Normativa nº 39 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) [18]. Este procedimento consistiu em adicionar água destilada na massa seca de biscoito e centrifugar essa mistura a 5 mil rpm por 5 minutos a 20°C, obtendo assim uma solução heterogênea com 3 fases. Essa solução heterogênea era composta por uma fase sobrenadante que contém a gordura em sua forma emulsificada, uma fase líquida contendo os sólidos solúveis diluídos na água, e uma fase sólida composta pela massa dos sólidos insolúveis do biscoito.

O procedimento realizado para a preparação das amostras foi dividido em 6 etapas, que foram repetidas para as 6 amostras de biscoitos salgados de interesse. A primeira etapa realizada foi a trituração, utilizando um almofariz com pistilo, de uma alíquota do biscoito, armazenou-se em um microtubo de 2 ml uma fração dessa massa seca triturada para ser analisada posteriormente. Na segunda etapa, adicionou-se água destilada de modo que cobrisse a amostra triturada por completo em um tubo cônico de plástico de 45 ml, essa solução foi posta para descanso por 30 minutos.

Na terceira etapa, essa solução foi agitada, por um agitador magnético, de modo que fosse homogeneizada e então foi centrifugada a 5 mil rpm por 5 minutos a 20°C. Na quarta etapa, após a centrifugação, foram coletadas a fase sobrenadante (gordura emulsificada) com auxílio de uma espátula e a fase líquida (sólidos solúveis) com uma pipeta Pasteur de 3 ml, ambas foram armazenadas em um microtubo de 2 ml para serem analisadas posteriormente.

Na quinta etapa, descartou-se as fases sobrenadantes e líquidas, e adicionou-se água destilada à fase sólida (massa insolúvel) para lavar essa amostra que em seguida foi levada à estufa por 24 horas para sua secagem. Por fim, na sexta etapa, as amostras da massa triturada seca (massa seca), da fase sobrenadante (gordura emulsificada) e da fase sólida (massa insolúvel) foram introduzidas em cápsulas de estanho com uma massa de 0,05 a 0,15 mg e encaminhadas ao Espectrômetro de massa de razão isotópica, a amostra da fase líquida (sólido solúvel) foi pipetada diretamente no aparelho.

Portanto, foram obtidas 4 amostras para serem analisadas a partir de 1 única amostra de biscoito, totalizando 24 amostras analisadas para essa metodologia. Sendo estas amostras: a massa seca, o sólido solúvel, o sólido insolúvel e a gordura emulsificada.

3.3 Preparação das Amostras de Biscoito Doce

A avaliação realizada no estudo para os biscoitos doce consistiu em 1 análise, que mesclou as metodologias dos itens 3.2.1 e 3.2.3. Esta análise buscou obter os valores da massa seca (com gordura e açúcar), a massa solúvel (açúcar diluído na água), a gordura emulsificada e a massa insolúvel (sem gordura e açúcar).

Assim então foi realizada, uma centrifugação similar à do item 3.2.3, de modo que fosse separada do biscoito doce, a massa seca (com gordura e açúcar), massa solúvel (açúcar) e a gordura emulsificada para análise do valor de $\delta^{13}\text{C}$ no Espectrômetro de Massa de Razão Isotópica. A massa insolúvel (sem açúcar) separada por essa centrifugação, foi submetida a remoção de gordura conforme o item 3.2.1, assim ao ser encaminhado ao Espectrômetro de Massa de Razão Isotópica, o valor dessa massa insolúvel (sem gordura e açúcar) representa a massa pura do biscoito analisado.

3.3.1 Centrifugação do Produto: Heterogêneo de 3 Fases para os Biscoitos Doces com Remoção de Gordura

Conforme observado na Tabela 2, os biscoitos doces adquiridos para análise são constituídos por massa composta em sua maioria por farinha de trigo e/ou amido de milho, uma fonte de gordura, sendo a maior parte descrita como de origem vegetal e açúcar que é proveniente da cana-de-açúcar. Assim, para avaliar os valores de $\delta^{13}\text{C}$ da massa, da gordura e do açúcar empregou-se uma metodologia que separasse esses produtos minimizando a contaminação entre eles.

Este procedimento foi realizado para as 40 amostras de biscoito doce, assim como para os biscoitos salgados, a metodologia que foi utilizada é adaptada da Instrução Normativa nº 39 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) [18].

O procedimento realizado para a preparação das amostras foi dividido em 7 etapas, diferentemente do item 3.2.3 que possui 6 etapas, que foram repetidas para as 40 amostras de biscoitos doce. A primeira etapa realizada foi a trituração, utilizando um almofariz com pistilo, de uma alíquota do biscoito, armazenou-se em um microtubo de 2 ml uma fração dessa massa seca triturada para ser analisada posteriormente. Na segunda etapa, adicionou-se água destilada de modo que cobrisse a amostra triturada por completo em um tubo cônico de plástico de 45

ml, essa solução foi posta para descanso por 30 minutos.

Na terceira etapa, essa solução foi agitada, por um agitador magnético, de modo que fosse homogeneizada e então foi centrifugada a 5 mil rpm por 5 minutos a 20°C. Na quarta etapa, após a centrifugação, foram coletadas a fase sobrenadante (gordura emulsificada) com auxílio de uma espátula e a fase líquida (sólidos solúveis) com uma pipeta Pasteur de 3 ml, ambas foram armazenadas em um microtubo de 2 ml para serem analisadas posteriormente. Na quinta etapa, descartou-se a fase sobrenadante e a líquida, preservando a fase sólida (massa insolúvel) e então adicionou-se água destilada e repetiu-se a centrifugação até o valor Brix da fase líquida estivesse menor ou igual a 0,1 indicando que o açúcar adicionado foi removido da fase sólida (massa insolúvel).

Na sexta etapa, após o valor mínimo de Brix ser atingido, uma alíquota da massa insolúvel foi armazenada em um microtubo de 2 ml e levada à estufa por 24 horas para sua secagem, essa amostra foi então preparada conforme a metodologia do item 3.2.1. Por fim, na sétima etapa, as amostras da massa triturada seca (massa seca), da fase sobrenadante (gordura emulsificada) e da fase sólida (massa insolúvel) - após passarem pelo processo de remoção de gordura - foram introduzidas em cápsulas de estanho com massa de 0,05 a 0,15 mg e encaminhadas ao Espectrômetro de Massa de Razão Isotópica, já a amostra da fase líquida foi pipetada diretamente no aparelho..

Portanto, a partir desse procedimento foram obtidas 4 amostras para serem analisadas no Espectrômetro de Massa de Razão Isotópica a partir de 1 única amostra de biscoito, totalizando 160 amostras para análises provenientes dos biscoitos doces, sendo estas amostras: a massa seca, o sólido solúvel, o sólido insolúvel e a gordura emulsificada.

3.4 Análises Isotópica de Carbono das Amostras

Para a obtenção dos resultados referentes a razão isotópica de carbono $R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})$ das amostras, o Espectrômetro de massa de razão isotópica fornece o valor da diferença relativa da razão isotópica por meio da razão isotópica do Carbono $R(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})$ da amostra (R_{amostra}) em relação ao padrão internacional Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB) ($R_{\text{padrão}}$) calculado pela Equação 2.

$$\delta^{13}\text{C} = \left(\frac{R_{\text{amostra}}}{R_{\text{padrão}}} \right) - 1 \quad (2)$$

Na equação 2, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ se referem à diferença relativa da razão isotópica da amostra com o padrão VPDB (adimensional); R é a razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra e do padrão VPDB (adimensional). A figura 3 apresenta o sistema de espectrometria de massa de razão isotópica para determinação de $\delta^{13}\text{C}$.



Figura 3 - Espectrômetro de massa de razão isotópica $\delta^{13}\text{C}$.

Portanto, foram analisadas para os biscoitos salgados, 56 amostras a partir do procedimento de remoção de gordura, 6 amostras a partir do procedimento do cálculo de percentual de milho e 24 amostras a partir procedimento de centrifugação para obtenção de 3 fases. Assim, totalizando 86 amostras analisadas para obter seus valores de $\delta^{13}\text{C}$, e realizadas as 3 análises para avaliação. Para os biscoitos doces, totalizaram 160 amostras que foram analisadas para obter seus valores de $\delta^{13}\text{C}$, e assim realizada a análise para avaliação.

3.5 Análise Estatísticas dos Resultados

Os resultados foram analisados estatisticamente por meio da média e do desvio padrão médio dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ obtidos.

4. Resultados e Discussões

4.1 Resultados e Discussões dos Biscoitos Salgados

4.1.1 Gráfico Box-Plot dos Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e Tabela dos Valores Médios de $\delta^{13}\text{C}$ dos Biscoitos Salgados

A figura 4 mostra a distribuição dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ das 56 amostras analisadas no trabalho divididas pela matriz declarada no rótulo sendo: batata, milho ou trigo. Na tabela 3 são apresentados os valores médios das diferentes origens botânicas das amostras.

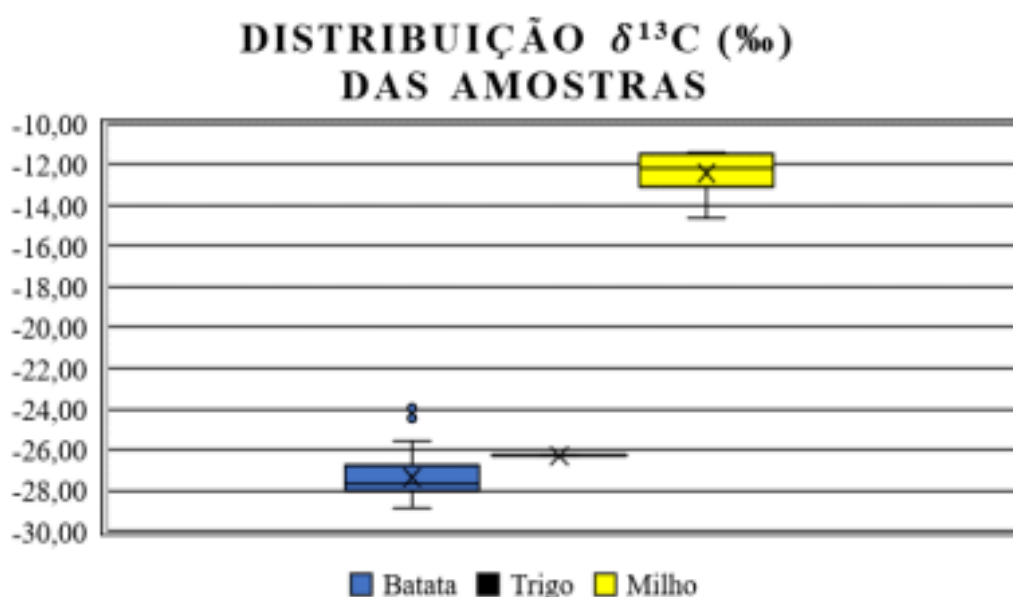


Figura 4: Distribuição dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) das amostras de biscoito divididas por matriz declarada no rótulo.

Tabela 3: Valores da média e desvio padrão de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) das amostras de biscoito e os produtos utilizados como valor de referência.

Matriz	N	Origem Botânica	Média e Desvio Padrão	Valor Máximo	Valor Mínimo
--------	---	-----------------	-----------------------	--------------	--------------

Batata e Trigo	46	C3	$-27,36 \pm 3,45$	-23,98	-28,86
----------------	----	----	-------------------	--------	--------

Milho	10	C4	$-12,44 \pm 2,27$	-11,45	-14,66
-------	----	----	-------------------	--------	--------

Batata Referência	2	C3	$-27,82 \pm 0,138$	-27,68	-27,96
Milho Referência	3	C4	$-10,87 \pm 0,8125$	-10,08	-12,50

Fonte: Próprio Autor

Na figura 4 observa-se diferença notável nas matrizes das amostras batata e trigo em relação à matriz de milho. Por conta da batata e trigo possuírem mesmo ciclo fotossintético (C3) e o milho possuir outro (C4) essa diferença era esperada.

Tanto na tabela 3, quanto na figura 4 também é possível observar que os valores $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de origem C3 apresentam maior variação em relação às C4. Isto provavelmente ocorre pela maior quantidade de amostras C3, 46 ao todo, em relação às C4, apenas 10 apresentadas, ou pela presença de amostras C3 com traços de C4.

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de referência para batata e milho foram de $B\delta^{13}\text{C} = -27,82\text{‰}$ e $M\delta^{13}\text{C} = -10,87\text{‰}$ respectivamente. Estes valores estão dentro do esperado para as duas matrizes.

4.1.2 Gráfico e Tabela dos Valores de Percentual de Milho

A quantificação de adição de milho nas amostras de salgadinhos de batata pode ser observada em percentual de milho adicionado em função dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ das amostras calculados a partir da equação 1 e apresentados na figura 5.

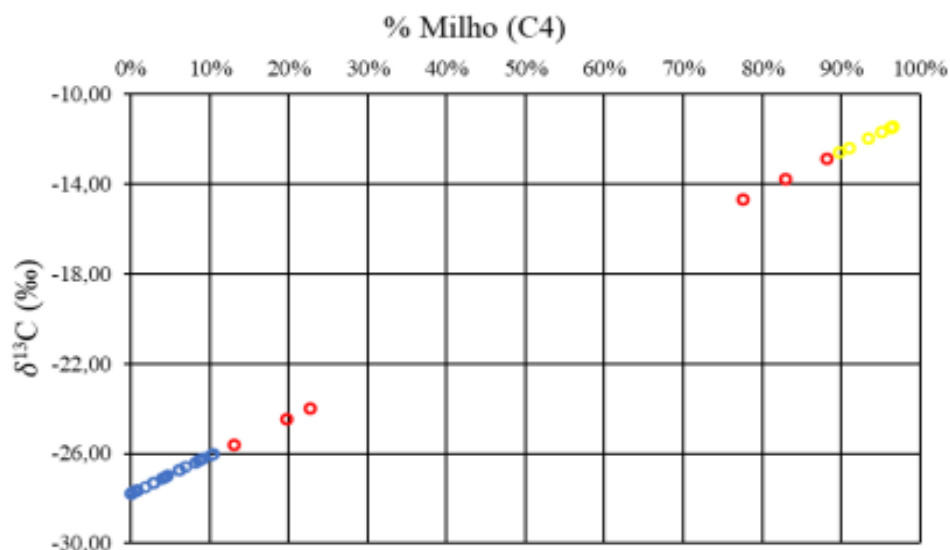


Figura 5. Gráfico do percentual de milho nas amostras de biscoito a partir dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) de cada amostras. Os pontos em azul representam as amostras com percentual de milho de até 10%, os pontos em amarelo representam as amostras com valor de percentual de milho maior ou igual a 90% e as amostras em vermelho indicam as amostras com valor de percentual de milho entre 11% a 89%.

Os pontos em azul representam as amostras de matriz declarada batata ou trigo (C3) e os pontos amarelos representam as declaradas de milho (C4). Os pontos em vermelho representam as amostras que passaram posteriormente pela a análise específica por conta de seus valores de mistura entre matrizes acima de 10%

A partir da figura 5, observa-se a variação dos percentuais de milho nas amostras, sendo as amostras com maior percentual de milho em menor quantidade, por conta da menor quantidade de amostras de matriz de milho em relação às amostras de batata. Algumas amostras de salgadinhos de milho podem ter apresentado percentuais de C3 devido a outros ingredientes não declarados no rótulo, não apenas batata ou trigo. A mistura acima de 10% de matrizes de origem botânica C3 com C4, ou vice-versa, foi evidenciada nas amostras da tabela 4 (pontos em vermelho do Gráfico da figura 5).

Tabela 4 - Valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) e %Milho das amostras com variação acima de 10% da matriz principal baseado nos valores de referência $\text{B}\delta^{13}\text{C} = -27,82\text{‰}$ e $\text{M}\delta^{13}\text{C} = -10,87\text{‰}$.

Amostras	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	%Milho
43 Amostras de Biscoito de Batata	$\leq -26,04$	$\leq 10\%$
11	-25,60	13%
55	-24,47	20%
34	-23,98	23%
5	-14,66	78%
15	-13,76	83%
10	-12,87	88%
7 Amostras de Biscoito de Milho	$\geq -12,60$	$\geq 90\%$

Ao observar a tabela 4 que existem 3 amostras de batata com um percentual de milho

acima de 10% e 3 amostras de milho com menos de 90% de percentual de milho, ou seja, mais de 10% a menos de milho do que o esperado. Para estas 3 amostras de batata com maior percentual de milho, é evidenciado no rótulo da embalagem a presença de milho ou derivados em sua composição, justificando a tal percentual. Já para as 3 amostras de milho, não há uma indicação da presença de batata ou trigo para essa metodologia.

4.1.3 Tabela do Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e Tabela da Média e Desvio Padrão da Análise Heterogênea dos Biscoitos Salgados

A partir das 6 amostras com percentual de milho entre 11% e 89%, a tabela 5 apresenta os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dessas amostras referentes a Massa Pura (P), obtida na metodologia do item 3.2.1, a Massa Seca (S), o Sólido Solúvel (SS), o Sólido Insolúvel (SI) e a Gordura Emulsificada (G), obtidas pela metodologia do item 3.2.3.

Tabela 5 - Valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) referentes a Massa Pura (P), obtida na primeira metodologia, a Massa Seca (S), o Sólido Solúvel (SS), o Sólido Insolúvel (SI) e a Gordura Emulsificada (G) obtidas pela a segunda metodologia.

Amostra	S	SS	SI	P	G
11	-21,28	-23,21	-25,35	-25,6	-15,65
55	-25,71	-22,69	-26,25	-24,47	-29,7
34	-26,78	-22,41	-24,62	-23,98	-29,7
5	-20,12	-20,9	-28,78	-14,66	-28,91
15	-17,55	-18,69	-16,5	-13,76	-20,79
10	-18,01	-20,55	-16,21	-12,87	-29,41

Fonte: Próprio Autor

A tabela 6 apresenta a relação da média, desvio padrão e valores máximo e mínimo referentes aos valores de $\delta^{13}\text{C}$ dessas 6 amostras.

Tabela 6 – Média, desvio padrão, valor máximo e valor mínimo dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) das 6 amostras que passaram pela centrifugação heterogênea.

Dados Estatísticos	S	SS	SI	P	G
Média dos Milhos	-18,56	-20,05	-17,17	-13,76	-26,36

Desvio Padrão dos Milhos	1,04	0,90	1,08	0,60	3,72
Média das Batatas	-24,59	-22,77	-25,41	-24,68	-24,95
Desvio Padrão das Batatas	2,21	0,29	0,56	0,61	6,20

Fonte: Próprio Autor

A partir dos resultados obtidos pela a segunda metodologia, representados na tabela 5 foi possível observar que os valores dos sólidos solúveis apresentaram uma média de -21,42% e um desvio padrão de 1,36, isto indica a presença de carboidratos solúveis C3 nos biscoitos de milho e de fonte C4 para os de batata. A média dos valores da massa seca e do sólido e insolúvel também foram muito próximas aos valores dos sólidos solúveis, na faixa de -21,4% entretanto o valor da média da gordura foi de -25,66%, evidenciando separação satisfatória da gordura emulsificada dos carboidratos.

Pode-se observar que a amostra 11 apresentou valor de -15,65%, proveniente da fonte de gordura C4 e a amostra 15 que possui valor para gordura emulsificada de -20,79%, indicando produto referente a mistura de fontes C4 e C3. Os demais biscoitos analisados, por esse método, apresentaram valor médio para gordura emulsificada de -29,43%, de modo que indica que a matriz de gordura utilizada para produção desses biscoitos foi o óleo de soja, expressada na rotulagem genericamente como óleo vegetal.

Ao comparar os valores dos sólidos insolúveis da segunda metodologia e os valores da massa após processo de remoção de gordura da primeira metodologia é possível observar que apesar de segunda metodologia separar a gordura emulsificada para ser analisada, isolando a gordura dos carboidratos da massa ela não é capaz de remover essa gordura dos carboidratos com tanta eficiência como a primeira metodologia. Isso pode ser observado no valor isotópico mais negativo para os sólidos insolúveis dos biscoitos de milho em relação aos valores de quantificação para esses mesmos biscoitos. Este fato, se deve à ausência da mistura de clorofórmio-metanol na segunda metodologia, que utiliza apenas água destilada para realizar a mistura que é conduzida à centrifugação, sem um agente removedor de gordura capaz de extrair com altíssima eficiência esse subproduto das amostras.

Entretanto realizar as análises da fase líquida e sobrenadante diretamente pela a primeira metodologia, não é possível, por mais que remova a gordura de forma eficiente, os carbonos presentes no clorofórmio metanol iriam contaminar a análise dos sólidos solúveis e da gordura emulsificada, obtendo valores isotópicos irreais desses subprodutos.

Assim, a união das duas metodologias torna possível uma análise minuciosa dos componentes presentes na preparação do biscoitos salgados de milho e de batata, sendo possível

quantificar a presença de milho em biscoitos de batata, por meio da remoção da gordura da primeira metodologia obtendo valores isotópicos de carbono das matérias primas utilizadas na composição da massa desses produtos.

Enquanto a segunda metodologia analisa de maneira mais detalhada a fonte de gordura utilizada na preparação dos biscoitos e os sólidos solúveis que se diluem na água destilada, sendo possível verificar com mais precisão a remoção da gordura das amostras e outros tipos de fraudes referentes por exemplo a matriz de gordura utilizada. Por outro lado, podem existir variações naturais nos valores de referência de $\delta^{13}\text{C}$ para milho e batata que não foram avaliados neste trabalho, que ainda podem ser desenvolvidos em trabalhos futuros ou adaptando metodologias desse e de outros trabalhos.

4.2 Resultados e Discussões dos Biscoitos Doces

4.2.1 Tabela do Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e Tabela da Média e Desvio Padrão da Análise Heterogênea dos Biscoitos Doces

A partir das 160 amostras obtidas pela metodologia do item 3.3.1 dos 40 biscoitos doces analisados, a tabela 7 apresenta os dados estatísticos de média, desvio padrão, valor máximo e mínimo dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ dessas amostras referentes a Massa Pura (P), a Massa Seca (S), o Sólido Solúvel (SS), o Sólido Insolúvel (SI) e a Gordura Emulsificada (G). Das 160 amostras encaminhadas para análise, 25 amostras de gordura emulsificada, 2 amostras de massa seca e 1 de sólido solúvel, não continham material suficiente, sendo desconsideradas no estudo.

Tabela 7 – Dados estatísticos dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) das amostras referentes a Massa Pura (P), a Massa Seca (S), o Sólido Solúvel (SS), o Sólido Insolúvel (SI) e a Gordura Emulsificada (G).

Dados Estatísticos	S	SS	SI	G
Média	-23,04	-17,50	-24,10	-29,74
Desvio Padrão	1,87	1,49	2,36	0,40
Valor Máximo	-14,86	-14,29	-16,61	-28,83
Valor Mínimo	-26,06	-22,12	-27,80	-30,34

Fonte: Próprio Autor

Os valores obtidos neste estudo indicam valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$, sendo de fonte de origem C3 para a massa seca, o sólido insolúvel e a gordura. Os sólidos insolúveis, em

contrapartida, apresentam estes valores provenientes de fonte C4.

Os valores da massa seca e do sólido insolúvel (massa pura), apresentam em média uma diferença de 1‰, isto ocorre pois as massas secas e os sólidos insolúveis representam em grande parte a farinha presente nos biscoitos. Este valor isotópico obtido é similar ao valor de -26,1‰ encontrado na literatura, que indica a massa sendo predominantemente de farinha de trigo assim como descrito na rotulagem [19]. A presença do valor máximo -14,87‰ é proveniente das amostras 21, que apresenta o amido de milho como 1º ingrediente de sua composição, logo o mais abundante, justificando o valor encontrado

Apesar da ausência de 25 amostras das 40 preparadas para análise da gordura emulsificada, os valores de $\delta^{13}C$ obtidos foram os que apresentaram menor desvio padrão, e um valor de média de -29,74‰. Este valor isotópico é característico da soja, esta fonte é a comercialmente mais barata no Brasil e era esperada de ser a mais utilizada para a produção desses biscoitos. Entretanto, vale ressaltar que por mais que os produtos indiquem que possam conter soja, nenhuma das embalagens dos 78 biscoitos doces adquiridos divulgam a fonte de gordura sendo de soja, mas sim uma fonte vegetal, que a partir dessa análise foi identificada sendo em maior parte dessa origem.

O valor dos sólidos solúveis, está ligado à predominância de uma fonte C4, valor esperado por conta do fato da sacarose oriunda da cana-de-açúcar (C4), presente nos biscoitos doces, ser um dissacarídeo que é solúvel em água. Todavia, o valor presente na literatura para os açúcares advindos da cana de açúcar está em torno de -29,50‰ [19]. Assim, provavelmente os outros subprodutos que compõe os biscoitos doces, sendo de fontes de origem C3, acabaram contribuindo para este valor. A gordura emulsificada de valor médio de -29,47‰ não foi extraída completamente para 25 amostras, essa dificuldade de separação da gordura na fase sobrenadante, de modo que o contato dessa fase com a fase líquida é um dos fatores que explicita essa possível contaminação para análise dos sólidos solúveis.

Portanto, a massa seca, a massa pura e a gordura apresentaram valores de $\delta^{13}C$, muito próximo, as das fontes desses compostos descritos na rotulagem. Já o sólido solúvel apresentou os valores menos negativos, e que indicam ser do açúcar adicionado, porém a técnica utilizada para separação deste produto pode ser otimizada. Assim, como para separação da gordura que não foi eficiente para parte dos biscoitos. Mas, de modo geral, a avaliação dos componentes foi possível, possibilitando verificação e validação dos subprodutos descritos na rotulagem.

5. Conclusão

Portanto, para os biscoitos salgados, foi possível realizar avaliações em relação aos subprodutos da massa (milho ou batata) e gordura, sendo possível diferenciar as matrizes de

origem C3 (batata e trigo) da matriz C4 (milho) das amostras de biscoitos. De modo que, ao utilizar valores de referência, quantificou-se a presença de milho nas amostras, observando não só a presença elevada de milho em 3 amostras com matriz de batata, como também ausência elevada do mesmo em 3 amostras de matriz milho.

Essas 6 amostras passaram por nova análise para verificar os seus demais componentes e em conjunto com a rotulagem das embalagens justificou-se a variação para as 3 amostras de batata e para as 3 amostras de milho, a presença de elementos de origem C3 tanto em seus sólidos solúveis como na gordura emulsificada, justificam eventuais contaminações que explicam a ausência de matriz milho.

Por outro lado, para os biscoitos doces, também foi possível realizar avaliações em relação aos subprodutos da massa (trigo ou milho), gordura e açúcar. Sendo possível reconhecer a veracidade das informações descritas na rotulagem bem como, identificar a principal diferença fonte de gordura utilizada na produção desses biscoitos.

Assim, pode-se concluir que foi possível por meio das somatórias das metodologias utilizadas para separação dos subprodutos, avaliar, pelos valores obtidos da razão isotópica dos isótopos estáveis de carbono, a quantidade de milho adicionado em biscoitos salgados, baseada nos valores de ^{13}C , bem como a veracidade da rotulagem dos subprodutos utilizados na produção dos biscoitos doces. E por fim, foi possível identificar a origem das gorduras utilizadas na produção tanto dos biscoitos doces quanto dos salgados.

6. Referências

[1] RINALDI, Ana Elisa M. et al. Contribuições das práticas alimentares e inatividade física para o excesso de peso infantil. *Revista Paulista de Pediatria*, v. 26, p. 271-277, 2008.

[2] AQUINO, Rita de Cássia de; PHILIPPI, Sonia Tucunduva. Consumo infantil de alimentos industrializados e renda familiar na cidade de São Paulo. *Revista de saúde pública*, v. 36, p. 655-660, 2002.

[3] MANLEY, Duncan. *Biscuit, Cookie and Cracker Manufacturing Manuals: Manual 1: Ingredients*. Woodhead publishing, 1998

[4] FIATES, Giovanna MR et al. Alimentos industrializados consumidos no lanche: composição nutricional e adequação às recomendações do PNAE e ANVISA. *Hig Aliment*, v. 206, n. 207, p. 190-195, 2012.

[5] SOUZA, Amanda de M. et al. Alimentos mais consumidos no Brasil: Inquérito nacional de alimentação 2008-2009. *Revista de Saúde Pública*, v. 47, p. 190s-199s, 2013.

[6] BEZERRA, Ilana Nogueira; SICHIERI, Rosely. Características e gastos com alimentação fora do domicílio no Brasil. *Revista de Saúde pública*, v. 44, p. 221-229, 2010.

[7] TRICHES, Rozane Márcia; GIUGLIANI, Elsa Regina Justo. *Obesidade, práticas alimentares e conhecimentos de nutrição em escolares. Revista de Saúde Pública*, v. 39, p. 541-547, 2005

[8] CRUZ, Fabiana Thomé da; SCHNEIDER, Sergio. *Qualidade dos alimentos, escalas de produção e valorização de produtos tradicionais. Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 5, n. 2, p. 22-38, 2010.

[9] Resolução RDC nº 429, de 8 de outubro de 2020. *Estabelece requisitos para rotulagem nutricional dos alimentos embalados. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 9 out. 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-429-de-8-de-outubro-de-2020-281080199>. Acesso em: [data de acesso].*

[10] CÂMARA, Maria Clara Coelho et al. *A produção acadêmica sobre a rotulagem de alimentos no Brasil. Revista Panamericana de Salud Pública*, v. 23, p. 52-58, 2008.

[11] KOLICHESKI, MÔNICA BEATRIZ. *FRAUDS IN FOODS. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 12, n. 1, 1994.

[12] ROSSMANN, Andreas. *Determination of stable isotope ratios in food analysis. Food reviews international*, v. 17, n. 3, p. 347-381, 2001.

[13] Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. *PLANO DE TRABALHO 2013: contrato de gestão e desempenho entre Ministério da Saúde e ANVISA. Brasília: ANVISA, 2013.*

[14] BALDANI, J. I. et al. *Especificidade na infecção de raízes por Azospirillum spp. em plantas com via fotossintética C3 e C4. 1981.*

[15] SABRIA, AUED-PIMENTEL et al. *Ácidos graxos saturados versus ácidos graxos trans em biscoitos. Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 62, n. 2, p. 131-7, 2003.

[16] KOZIET, J. et al. *Determination of carbon-13 content of sugars of fruit and vegetable juices: A European inter-laboratory comparison. Analytica Chimica Acta*, v. 271, n. 1, p. 31-38, 1993

[17] Bligh, E.G; Dyer, W.J. *A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 1959, 37, 911–917.

[18] BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa nº 39, de 08 de agosto de 2007. Dispõe sobre [assunto da normativa]. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 ago. 2007. Seção 1, p. [página(s)]*

[19] MARTINELLI, Luiz A. et al. *Carbon and nitrogen isotope ratios of food and beverage in Brazil. Molecules*, v. 25, n. 6, p. 1457, 2020.