

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

REVALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE ANÁLISES PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR ALCOÓLICO EM CERVEJAS

**Gabriella dos Anjos Lima da Silva, Vitória de Oliveira Thebas, Samarra
Pacheco Wichello, Lara Oliveira Mozer, Sérgio Henriques Saraiva, Luciano
José Quintão Teixeira**

Universidade Federal do Espírito Santo/Departamento de Engenharia de Alimentos, Alto
Universitário, S/N Guararema, Alegre - 29500-000 - Espírito Santo Brasil,
gabrielladosanjos1@gmail.com, vitoria16thebas4@hotmail.com, samarhapacheco@gmail.com,
mozerlara@gmail.com, sergiohsaraiva@gmail.com, luqteixeira@yahoo.com.br.

Resumo

A cerveja é uma bebida alcoólica amplamente consumida e produzida globalmente. Seu teor alcoólico desempenha um papel crucial na avaliação da qualidade, permitindo distinguir entre variedades sem álcool, de baixo teor alcoólico e alcoólicas, bem como verificar conformidade legal e a precisão das informações no rótulo. A revalidação dos métodos de análise do teor alcoólico é recomendada para garantir a acurácia dos resultados, englobando parâmetros como linearidade, exatidão e precisão, além de avaliar a estabilidade da amostra. A presente pesquisa aplicou normas técnicas na análise de cervejas comerciais e na revalidação de métodos, usando soluções hidroalcoólicas e amostras fortificadas com álcool absoluto. As técnicas empregadas incluíram alcoometria, picnometria e refratometria, com foco na avaliação da precisão, exatidão e linearidade dos métodos. Após análise e revalidação, todas as metodologias demonstraram conformidade com os padrões de precisão, exatidão e linearidade, destacando-se a alcoometria como método mais indicado.

Palavras-chave: Linearidade. Exatidão. Análises Físico-Químicas. Parâmetros.

Área do Conhecimento: Ciência da Saúde - Ciência e Tecnologia de Alimentos

Introdução

A cerveja, obtida pela fermentação do mosto de cevada malteada, passa por um processo de cocção com lúpulo, permitindo substituição parcial por adjunto cervejeiro (BRASIL, 2019). É uma bebida amplamente consumida e produzida, passando por seis etapas principais: mosturação, filtragem, fervura, fermentação, maturação e envase (SILVA; LEITE; PAULA, 2016). As cervejas são classificadas com base em extrato primitivo, graduação alcoólica, cor e proporções de ingredientes (BRASIL, 2019), assegurando consistência no produto. A graduação alcoólica, obrigatória em rótulos (BRASIL, 2009), é crucial e categoriza cervejas em sem álcool (<0,5% v/v), baixo teor (0,5-2,0% v/v) e com álcool (>2,0% v/v) (BRASIL, 2019), comumente variando de 3 a 8% (v/v).

Análises físico-químicas são realizadas para garantir a conformidade legal e precisão nos rótulos, sendo recomendado que se faça a revalidação dos métodos para avaliar execução e estimar a incerteza (SOUZA; SOBRINHO; BOZA, 2016). A revalidação garante que haja linearidade, exatidão e precisão dos dados, além de estimar a estabilidade durante estocagem (ALVES et al., 2014). Linearidade se refere à proporção entre concentração e resultado; exatidão compara ensaio e valor aceito; precisão estima dispersão entre repetições (BRASIL, 2011a).

O crescente número de microcervejarias no Brasil tem impulsionado a demanda por análises de teor alcoólico em cervejas para verificar a conformidade com as informações do rótulo. Dado que o teor alcoólico pode variar devido a parâmetros de processo, como tempo de fermentação e teor de açúcares, verificações frequentes se tornam essenciais. Devido às limitações de algumas microcervejarias em conduzir tais análises internamente, surge uma oportunidade para laboratórios privados e empresas juniores fornecerem esse serviço. Para garantir a confiabilidade, é crucial revalidar os métodos de análise no laboratório em questão e pelo analista responsável. Este estudo visa revalidar um método de determinação de teor alcoólico de cerveja no laboratório de Química de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), servindo de guia para futuros analistas.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Metodologia

A determinação do teor alcoólico das cervejas foi realizada por três métodos diferentes, sendo eles: alcoometria, picnometria e refratometria, por serem os mais acessíveis ao laboratório de química de alimentos da UFES, de fácil compreensão e aparentemente de boa repetibilidade. Antes das análises é necessário fazer o preparo das amostras, que consistiu em realizar a decarbonatação das bebidas, seguido de destilação, dando origem à solução alcoólica que foi de fato analisada (IAL, 2008).

A cerveja utilizada para preparo das amostras e realização das análises foram adquiridas no comércio local. Além disso, foram utilizados parâmetros para aferir a revalidação do método, como exatidão, linearidade e precisão.

Alcoometria

A determinação do teor alcoólico foi realizada mergulhando um alcoômetro de precisão em uma proveta que continha a amostra a 20°C. Após sua estabilização, a medida foi feita por leitura direta posicionando os olhos na altura do recipiente (IAL, 2008).

Picnometria

A determinação por picnometria foi realizada utilizando-se picnômetros de vidro, que foram previamente lavados com água e sabão e enxaguados com água destilada e acetona e, por fim, secos em dessecador. Para manusear a vidraria utilizou-se luvas e papel toalha limpos para que não houvesse impacto sobre a massa real da amostra (IAL, 2008).

Inicialmente foi medida a massa da vidraria vazia e, posteriormente, a massa da vidraria com água destilada, para o cálculo da densidade relativa da amostra, com auxílio de uma balança analítica para as pesagens. Após esses procedimentos, a amostra foi adicionada no mesmo picnômetro para sua pesagem e medição e a densidade relativa foi determinada pela equação 1.

$$\frac{ma - mp}{m_{H_2O} - mp} = \text{densidade relativa a } 20^\circ C \quad \text{Eq.(1)}$$

em que: ma é a massa do picnômetro com amostra, mp é a massa do picnômetro vazio e m_{H_2O} é a massa do picnômetro com água.

Índice de refração

A determinação do índice de refração foi realizada por leitura em refratômetro de bancada elaborando-se uma curva de calibração do índice de refração em função da concentração de álcool, utilizando-se sete soluções hidroalcoólicas (álcool absoluto e água destilada) com concentrações de 3mL, 4mL, 5mL, 6mL, 8mL, 9mL e 10 mL de álcool absoluto em 100 mL de solução.

Em seguida, o índice de refração do destilado de cada amostra de cerveja foi medido e o teor alcoólico foi calculado utilizando a curva padrão.

Linearidade

A linearidade foi obtida por meio de um gráfico do valor medido utilizando cada um dos métodos em função da adição do analito de interesse. Para isso, foi realizada a fortificação da cerveja com 0mL, 1mL, 2mL, 3mL, 4mL, 5mL e 6mL de álcool absoluto, para 100 mL de cerveja totalizando 7 pontos experimentais. O parâmetro de linearidade de cada um dos métodos foi expresso pelo coeficiente de determinação R^2 , calculado pela equação da reta (2):

$$Y = A + BX \quad \text{Eq. (2)}$$

em que: Y é o valor medido; X é o valor adicionado do analito, A a interseção com o eixo Y .

Foi construída a curva de calibração utilizando a média de cada ponto e calculou-se o r (coeficiente de correlação) por meio da equação de Pearson em planilha eletrônica (Excel, versão 2016), sendo esperado um valor $\geq 0,99$ para cada método de análise (BRASIL, 2015).

Por meio destes dados, foi feita análise estatística em que foram obtidos os resíduos (erro absoluto) e por meio destes, foi calculado os erros percentuais (diferença percentual entre cada resposta e o valor real na curva de calibração) para cada ponto.

Por fim, foi feita uma inspeção visual da linearidade da curva por meio da reta obtida no gráfico e os erros percentuais a fim de que não fossem encontrados valores maiores que $\pm 20\%$ (BRASIL, 2015).

Precisão

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

A precisão de cada um dos métodos foi calculada e expressa pelo coeficiente de variação (SOUZA, SOBRINHO e BOZA, 2016), conforme Equação 3. Para esse cálculo foram utilizadas 7 repetições para cada um dos métodos de análise.

$$CV = (DP \div CMD) \times 100 \quad \text{Eq. (3)}$$

em que: DP = desvio padrão; CMD = concentração média determinada.

Também foi calculado o valor de Horwitz (CV_{R-H}) para avaliar a aceitabilidade das características de precisão de um método, conforme a Equação 4.

$$CV_{R-H} = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad \text{Eq. (4)}$$

em que: C é a concentração média de álcool na amostra.

Exatidão

A exatidão dos métodos foi calculada por meio da percentagem de recuperação, conforme descrito na Equação 5.

$$\text{Exatidão} = (C_m \div C_t) \times 100 \quad \text{Eq. (5)}$$

em que: C_m = Concentração média experimental; C_t = Concentração teórica obtida pelo laboratório acreditado pelo MAPA ao qual fez uso da metodologia descrita no manual de bebidas e vinagres (BRASIL, 2005).

Resultados

Para obtenção dos resultados foram realizadas análises de acordo com a metodologia descrita. Para o índice de refração foi obtida uma curva padrão (Figura 2) para auxiliar na determinação do teor alcoólico das amostras utilizando as informações dispostas na Tabela 1.

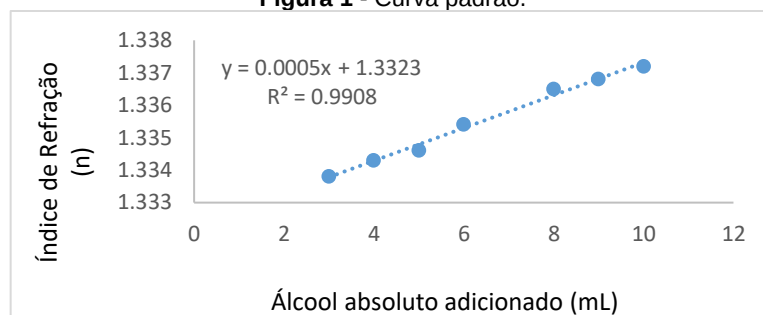
Tabela 1 - Preparo de 100 mL das soluções hidroalcoólicas, suas concentrações e índice de refração.

Concentração de Álcool Absoluto (%) = 97,5		
Concentração de álcool absoluto das soluções (%)	Quantidade de álcool absoluto adicionado (mL)	Índice de refração (n)
2,925	3	1,3338
3,900	4	1,3343
4,875	5	1,3346
5,850	6	1,3354
7,800	8	1,3365
8,775	9	1,3368
9,750	10	1,3372

Fonte: As autoras (2023).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Figura 1 - Curva padrão.



Fonte: As autoras (2023).

Após isso, procedeu-se à medição do índice de refração dos destilados das amostras de cerveja e, em seguida, utilizou-se a curva padrão para calcular o teor alcoólico.

Frente a isso, é possível observar os valores obtidos para o parâmetro em questão por meio de análises de regressão, feitas a partir dos dados experimentais apresentados na Tabela 2, obtendo Equações da reta e parâmetros de r^2 expressos na Tabela 3.

Tabela 2 - Fortificação e concentrações em °GL medidas no destilado de cerveja.

Fortificação das Amostras	Valores medidos por diferentes métodos de determinação de teor alcoólico das amostras		
ADIÇÃO DE ÁLCOOL (mL adicionado)	ALCOÔMETRO	PICNÔMETRO	Índice de refração (n)
0	4,8	4,45	5,0
1	5,8	5,6	6,0
2	6,5	6,0	7,2
3	7,0	6,4	7,4
4	8,0	7,4	7,8
5	8,5	7,8	8,2
6	9,0	9,0	9,8

*A adição de álcool absoluto foi completada para 100 mL

Fonte: As autoras (2023).

Tabela 3 – Linearidade dos Métodos

Método	Equação	R ²	r
Picnômetro	$y = 0,6946x + 4,5804$	0,9767	0,99
Alcoômetro	$y = 0,6964x + 4,9964$	0,9892	0,99
Índice de Refração	$y = 0,6929x + 5,2643$	0,9401	0,97

Fonte: As autoras (2023).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

A tabela 4 ilustra o teor alcoólico obtido através dos métodos estudados e seu referente cálculo de precisão.

Tabela 4 - Teor alcoólico (°GL) da amostra de cerveja obtido para cada um dos métodos estudados e cálculo da precisão.

REPETIÇÃO	PICNÔMETRO	ALCOÔMETRO	Índice de refração (n)
1	5,1	4,7	4,6
2	5,1	4,7	4,4
3	4,9	5	5
4	4,6	4,8	5,07
5	4,1	4,8	5,4
6	5,2	5,5	5,8
7	6,2	5,5	5,2
MÉDIA	5,03	5,00	5,07
DESVIO PADRÃO	0,642	0,356	0,471
CV <i>Horwitz</i>	1,6492	1,6505	1,6474
CV (%)	12,77	7,11	9,3

Fonte: As autoras (2023).

Os resultados obtidos na análise de exatidão foram calculados através da equação 5 e estão ilustrados na Tabela 5.

Tabela 5 - Exatidão obtida para os métodos de análise estudados.

MÉTODO	TEOR DE ÁLCOOL* °GL	RÓTULO °GL	REFERÊNCIA ** °GL	EXATIDÃO (%)
PICNÔMETRO	5,03	4,7	4,6	109,34
ALCOÔMETRO	5,00	4,7	4,6	108,69
Índice de refração (n)	5,07	4,7	4,6	110,21

*Valor médio de 7 repetições

**Valor obtido em laboratório de referência

Fonte: As autoras (2023).

Discussão

Para o parâmetro de linearidade utilizando-se os métodos do alcoômetro e picnômetro, obteve-se valores adequados para o coeficiente de correlação, sendo eles $\geq 0,99$. Portanto, os resultados obtidos através de medições com estes instrumentos são linearmente proporcionais à quantidade real

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

de álcool presente nas amostras (BRASIL, 2015). Para o método utilizando o índice de refração, obteve-se linearidade aceitável, pois o valor de r está entre 0,90 e 0,99 (INMETRO, 2007). Para a precisão de cada método, quanto menor for o coeficiente de variação (CV), melhor é a precisão da análise, pois indica menor variação entre os resultados obtidos de uma mesma amostra e maior possibilidade de repetibilidade. Os valores para o CV, para todos os métodos (alcoômetro, picnômetro e índice de refração), estão dentro dos limites aceitáveis, sendo o menor (7,11%) observado para o alcoômetro, que por essa razão se torna o mais preciso. Analisando também os resultados de (CV Horwitz) podemos verificar que como para todos os métodos de análise se encontram inferiores a 2, os dados podem ser considerados satisfatórios (SOUZA; SOBRINHO; BOZA, 2016).

Na análise de exatidão, quanto mais próximo de 100% melhor é a exatidão do método. Sendo assim, os três métodos apresentaram valores próximos, variando de 108,69% a 110,21% e o mais exato seria a alcoometria pelo valor satisfatório de exatidão.

Conclusão

Conclui-se que os três métodos propostos apresentaram linearidade, precisão e exatidão satisfatórios para a faixa de concentração testada, sendo a alcoometria de precisão o método mais indicado pois apresentou melhor linearidade, precisão e exatidão. Além disso, é o método mais barato entre os três e de fácil operação.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres**. 2005. Disponível em: <https://docplayer.com.br/15005352-Manual-de-metodos-de-analises-de-bebidas-e-vinagres.html>. Acesso em: 10 de agosto de 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.. Instrução Normativa nº 65, de 10 de dezembro de 2019. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 dez. 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-d-e-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-65-de-10-de-dezembro-de-2019.pdf/view>. Acesso em: 10 de agosto de 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Manual de garantia da qualidade analítica**, 1. ed., MAPA/ACS, Brasília, 2011a.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Manual de garantia da qualidade analítica**, MAPA/ACS, Brasília, 2015.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo, 2008. INMETRO. **Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial**. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE008. 2007. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_03.pdf. Acesso em: 10 agosto de 2023.

SILVA, H. A.; LEITE, M. A.; PAULA, A. R. V. de. **Cerveja e sociedade**. Contextos da Alimentação. Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade, v. 4, n. 2, p. 86-89, 2016. SOUZA, G. B. de; SOBRINHO, M. R.; BOZA, Y. (Coord.). Validação de métodos para análise de alimentos: enfoque em análise centesimal. 1. ed. São Paulo: REMESP, 2016.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Espírito Santo – Brasil (FAPES)