

**SOFIA MESQUITA DE LIMA GURGEL**

**O USO DA ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA DIFERENCIAR SOJA  
CONVENCIONAL DE SOJA TRANSGÊNICA**

Dissertação apresentada à Universidade de Franca, como exigência parcial para a obtenção do título de Mestre em Promoção de Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Cesar Mello

**FRANCA  
2006**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

SOFIA MESQUITA DE LIMA GURGEL

O USO DA ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA DIFERENCIAR SOJA  
CONVENCIONAL DE SOJA TRANSGÊNICA

Presidente: \_\_\_\_\_  
Nome:  
Instituição:

Titular 1: \_\_\_\_\_  
Nome:  
Instituição:

Titular 2: \_\_\_\_\_  
Nome:  
Instituição:

Franca, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

***DEDICO*** aos meus pais, pelo esforço de uma vida;  
ao meu marido, por todo apoio, compreensão e carinho.

## RESUMO

GURGEL, Sofia Mesquita de Lima. **O uso da espectroscopia Raman para diferenciar soja convencional de soja transgênica.** 2006. 66 f. Dissertação (Mestrado em Promoção de Saúde) – Universidade de Franca, Franca-SP.

A soja faz parte da alimentação humana há milhares de anos e se tornou um alimento de grande consumo pelo alto teor de proteínas, lipídeos, vitaminas e minerais. Hoje já se sabe que seu papel é muito mais importante, desempenhando papel preventivo e terapêutico em doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose, diabetes e alívio nos sintomas da menopausa. Mas, nos últimos anos com o desenvolvimento da biotecnologia e a crescente produção de soja transgênica resistente à herbicida, fica a dúvida se a composição nutricional da soja é a mesma e se preservam seus valores terapêuticos. Neste trabalho, o uso da Espectroscopia Raman, largamente utilizado na indústria de alimentos, foi escolhido para análise dos teores de lipídeo e proteína entre soja convencional e transgênica por ser um método rápido e não destrutivo. Utilizando o método quimiométrico foi possível identificar as diferenças entre os dois tipos de soja.

**Palavras-chave:** soja; soja transgênica; espectroscopia Raman.

## ABSTRACT

GURGEL, Sofia Mesquita de Lima. **The use of the Raman spectroscopy to differentiate conventional soy from genetically modified soy.** 2006. 66 f. Dissertation (Master's Degree in Health Promotion) – University of Franca, Franca-SP, Brazil.

Soy is part of the human food since thousand years ago and it became a great consumption food due to the high quality of protein, lipids, vitamins and minerals. Today we already know that its role is much more important, playing preventive and therapeutical role in cardiovascular illnesses, cancer, osteoporoses, diabetes and relief in the menopause symptoms. But, in the last years with the development of the biotechnology and the increasing production of genetically modified soy resistant to the herbicide, there is the doubt if the nutritional composition of the soy is the same one and if it preserves its therapeutical values. In this study, the use of the Raman Spectroscopy, wide used in the food industry, was chosen for analysis of the quality of lipids and protein between conventional and genetically modified soy since it is a fast method and not destructive. Using the chemometric method it was possible to identify the differences between the two types of soy.

**Key words:** soy; genetically modified soy; Raman spectroscopy.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 — Representação esquemática do espectro eletromagnético	26
Figura 2 — Representação esquemática uma onda eletromagnética	27
Figura 3 — Representação esquemática da seqüência de operações utilizada na aplicação do Filtro de transformada de Fourier	35
Figura 4 — Sinal original, isto é, sinal + ruído	35
Figura 5 — Espectro de frequências do sinal original	36
Figura 6 — Sinal livre do ruído	37
Figura 7 — Sinal distorcido em função de um corte errado nas frequências	37
Figura 8 — Ortogonalização de vetores para remoção da fluorescência usando o método de Gram-Schmidt	40
Figura 9 — Representação esquemática do processo de obtenção da nova base do espaço vetorial. Em que $PC_1$ e $PC_2$ geram a nova base vetorial	46
Figura 10 — Espectros Raman da Farinha crua de soja não transgênica (soja conquista, linha azul) e das farinhas de soja transgênicas linhas verde, azul e vermelha	54
Figura 11 — Espectros Raman da Farinha torrada de soja não transgênica (soja conquista, linha azul) e das farinhas de soja transgênicas linhas verde, azul e vermelha	55

Figura 12 — Espectros Raman tratados pelo método de Gram-Schmidt, para as farinhas soja crua	56
Figura 13 — Espectros Raman tratados pelo método de Gram-Schmidt, para as farinhas soja torrada	58
Figura 14 — Análise Hierárquica (HCA) das farinhas utilizadas neste trabalho	59

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
1.1	HISTÓRICO DA SOJA .....	10
1.2	CARACTERIZAÇÃO DA SOJA .....	12
1.3	DADOS ECONÔMICOS .....	17
1.4	ALIMENTOS TRANSGÊNICOS .....	18
1.5	SOJA TRANSGÊNICA .....	20
1.6	PROCEDIMENTOS DE SEGURANÇA NA UTILIZAÇÃO DE ALIMENTOS TRANSGÊNICOS .....	23
1.7	ROTULAGEM DE ALIMENTOS GENETICAMENTE MODIFICADOS NO BRASIL .....	24
1.8	ALIMENTOS TRANSGÊNICOS: opinião pública e polêmica .....	25
1.8.1	Risco ao meio ambiente .....	25
1.9	O ESPECTRO ELETROMAGNÉTICO .....	26
1.9.1	A região visível .....	26
1.10	O ESPALHAMENTO DE LUZ .....	27
1.11	A ESPECTROSCOPIA .....	29
1.11.1	A região do infravermelho .....	30
1.11.2	O modelo clássico .....	30
1.12	A ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL .....	30
1.12.1	Espectros no infravermelho .....	31
1.12.2	A magnitude do espalhamento Raman .....	32
1.13	QUIMIOMETRIA .....	33

1.14	PRÉ-PROCESSAMENTO DE SINAIS ANALÍTICOS.....	34
1.14.1	A remoção de ruído experimental: o filtro de transformada de Fourier.....	34
1.14.2	O filtro de transformada de Fourier.....	34
1.14.3	Correção de Espalhamento de Luz (MSC).....	38
1.14.4	A ortogonalização de espectros.....	39
1.14.4.1	O método de Gram-Schmidt.....	39
1.15	PROCESSAMENTO DE SINAIS ANALÍTICOS .....	41
1.15.1	Compressão de dados: a Análise de Componentes Principais (PCA).....	41
1.15.2	Compressão de dados através da Análise de Componentes Principais (PCA): a fundamentação teórica.....	42
1.15.3	A compressão de espectros.....	43
1.15.4	Autovalores e Autovetores .....	43
1.16	O MÉTODO DOS MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS (PLS) .....	47
1.17	UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA RAMAN NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS .....	48
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>50</b>
<b>3</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>51</b>
3.1	MATERIAL E MÉTODOS.....	51
3.1.1	Amostras.....	51
3.1.2	Preparo das amostras .....	52
3.1.3	Material .....	53
3.1.4	Obtenção dos espectros Raman da farinha de soja.....	53
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>54</b>
	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>60</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>61</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 HISTÓRICO DA SOJA

A soja que hoje cultivamos é muito diferente dos seus ancestrais, que eram plantas rasteiras que se desenvolviam na costa leste da Ásia, principalmente ao longo do rio Yangtse, na China. Sua evolução começou com o aparecimento de plantas oriundas de cruzamentos naturais entre duas espécies de soja selvagem, que cresciam ao longo do rio Amarelo, que foram domesticadas e melhoradas por cientistas da antiga China (BISOTO, 2002).

As primeiras citações do grão aparecem no período entre 2883 e 2838 a.C., quando a soja era considerada um grão sagrado, juntamente com o arroz, o trigo, a cevada e o milho. Um dos primeiros registros do grão está no livro "Pen Ts'ao Kong Mu", que descrevia as plantas da China ao Imperador Sheng-Nung. Para alguns autores, as referências à soja são ainda mais antigas, remetendo ao "Livro de Odes", publicado em chinês arcaico e, também, a inscrições em bronze (BISOTO; FARIAS, 2002).

Até aproximadamente de 1894, término da guerra entre a China e o Japão, a produção de soja ficou restrita à China. Apesar de ser conhecida e consumida pela civilização oriental por milhares de anos, só foi introduzida na Europa no final do século XV, como curiosidade, nos jardins botânicos da Inglaterra, França e Alemanha (BISOTO; FARIAS, 2002).

A partir do século XIX essa leguminosa passou a ter importância econômica e na segunda década do século XX, o teor de óleo e proteína do grão começou a despertar o interesse das indústrias mundiais. No entanto, as tentativas de introdução comercial do cultivo do grão na Rússia, Inglaterra e Alemanha fracassaram, provavelmente, devido às condições climáticas desfavoráveis (EMBRAPA, 2005).

Sobre a chegada do grão no Brasil, existem duas versões, a primeira que teriam vindo dos Estados Unidos em 1882, onde Gustavo Dutra, então professor da Escola de Agronomia da Bahia realizou os primeiros estudos de cultivares introduzidos naquele país. A soja dessa época era estudada mais como cultura forrageira - eventualmente produzindo grãos para consumo de animais, indústrias de farelo e óleos vegetais (BONATO; BONATO, 1987; MIYASAKA; MEDINA, 1981).

A segunda versão relata a chegada do grão junto com imigrantes japoneses no Rio Grande do sul em 1908, mas foi introduzida em 1914, onde a cultura encontrou efetivas condições para se desenvolver e expandir, dadas as semelhanças climáticas do ecossistema de origem (sul dos EUA) dos materiais genéticos existentes no país, com as condições climáticas predominantes no extremo sul do Brasil. Porém a expansão na produção ocorreu em 1970, com o interesse crescente da indústria de óleo e a demanda do mercado internacional (BONATO; BONATO, 1987).

Com o estabelecimento do programa oficial de incentivo à triticultura nacional, em meados dos anos 50, a cultura da soja foi igualmente incentivada, por ser, desde o ponto de vista técnico (leguminosa sucedendo gramínea), quanto econômico (melhor aproveitamento da terra, das máquinas/implementos, da infra-estrutura e da mão de obra), a melhor alternativa de verão para suceder o trigo cultivado no inverno (DALL'AGNOL, 2000).

A revolução sócio-econômica e tecnológica protagonizada pela soja no Brasil Moderno pode ser comparada ao fenômeno ocorrido com a cana de açúcar, no Brasil Colônia

e com o café, no Brasil Império/República, que, em épocas diferentes, comandou o comércio exterior do País. A soja responde (2003) por uma receita cambial direta para o Brasil de mais de sete bilhões de dólares anuais (superior a 11% do total das receitas cambias brasileiras) e cinco vezes esse valor, se considerados os benefícios que gera ao longo da sua extensa cadeia produtiva (EMBRAPA, 2005).

Abrindo fronteiras e semeando cidades, a soja liderou a implantação de uma nova civilização no Brasil Central, levando o progresso e o desenvolvimento para uma região despovoada e desvalorizada (MELO, 2001).

O explosivo crescimento da produção de soja no Brasil, de quase 260 vezes no transcorrer de apenas quatro décadas, determinou uma cadeia de mudanças sem precedentes na história do País. Foi a soja, inicialmente auxiliada pelo trigo, a grande responsável pelo surgimento da agricultura comercial no Brasil. Também, ela apoiou ou foi a grande responsável pela aceleração da mecanização das lavouras brasileiras, pela modernização do sistema de transportes, pela expansão da fronteira agrícola, pela profissionalização e pelo incremento do comércio internacional, pela modificação e pelo enriquecimento da dieta alimentar dos brasileiros, pela aceleração da urbanização do País, pela interiorização da população brasileira (excessivamente concentrada no sul, sudeste e litoral do Norte e Nordeste), pela tecnificação de outras culturas (destacadamente a do milho) (EMBRAPA, 2005).

## 1.2 CARACTERIZAÇÃO DA SOJA

Botanicamente a soja é classificada entre as glicininas, a vagem mede de 5 a 8 cm de comprimento e contém de três a cinco grãos, de forma e tamanho variáveis, de acordo

com sua classificação. São numerosíssimas as variedades de soja, mais de 2500, e a classificação mais comum é em relação a cor do grão, a cor amarela é a mais apreciada, seguida, a grande distância, a branca, a verde, a escura e outras mais (ORNELLAS, 2001; PHILIPPI, 2003).

Analisada sob o ponto de vista nutricional, apresenta de 35 a 40% de proteínas de alto valor biológico (contendo 10 aminoácidos essenciais em teor adequado, exceto a metionina); contêm de 18 a 22 % de lipídeos (20 % de óleo em peso seco); contêm vitamina A, complexo B, vitamina C e E, magnésio, enxofre, cloro e potássio. Seu aminograma é falho em relação aos sulfoconjugados. A farinha de soja contém mais fósforo e cálcio que o leite de vaca ou o trigo integral, na proporção de duas vezes mais cálcio e cinco vezes mais fósforo que o referido leite. Quanto as vitaminas ao serem comparadas aos cereais, a soja e seus derivados são apenas fontes razoáveis de vitaminas do complexo B, apresentam também baixo teor de vitamina A e C, porém é ótima fonte de vitaminas E e K, boa fonte de Tiamina, riboflavina, ácido fólico e não contêm vitamina D e B12 (PEREIRA; OLIVEIRA, 2004).

O alimento tem outros fatores antinutricionais (inibidores de proteases, lectinas, oligossacarídeos, fitato e saponinas). O fósforo que sob forma de ácido fítico, por quebração, formará um sal insolúvel inibindo a absorção do cálcio do alimento (SOUZA, 2002; MONTEIRO et al., 2004). A soja tem sido descrita por conter antinutrientes que limitam sua utilização. Os mais importantes e extensivamente investigados dos antinutrientes foram os inibidores de proteases. Estes antinutrientes apresentam especificidade de inibir as enzimas proteolíticas e, conseqüentemente, reduzem a digestão protéica dos alimentos, proporcionando diminuição no ganho de peso e crescimento dos animais. Desta forma, para aumentar o valor nutricional da soja e seus produtos, há necessidade de processamentos térmicos para inativá-los (MIURA; BINOTTIM; CAMARGO, 2001).

O seu valor nutritivo pode ser visto no Quadro 1 abaixo:

**Quadro 1** – Composição química da soja, em 100 g de parte comestível.

Alimento	Calorias	Carbo- idrato (g)	Proteí- na (g)	Lipídeos	Fibra	Cálcio (g)	Ferro (g)	B1 (g) m	B2 (g) M	Niac. (g) m
Soja crua	4400	332	335	117,7	44,2	226	88,5	00,66	00,22	22,2
Soja cozida	1160	112,8	114	77,1	11,7	990	33,4	00,26	00,09	00,9

**Fonte:** IBGE, 1996.

A soja é rica em muitos minerais, em especial, magnésio, fósforo, ferro, cobre e zinco, e é uma fonte moderada de cálcio (MORAIS; SILVA, 2000).

O tratamento térmico tem sido usado para melhorar o valor nutricional, porém a temperatura deve ser controlada para evitar a destruição dos aminoácidos importantes e a diminuição da biodisponibilidade de outros nutrientes (VASCONCELOS et al., 2001). Uma forma boa forma de resolver o problema dos inibidores e a consequência do tratamento térmico elevado sobre a qualidade da proteína seria a eliminação genética desses da soja (MONTEIRO et al., 2004).

O aquecimento térmico tem se mostrado bastante eficiente para os grãos inteiros, mas com efeitos reduzidos ou mesmo ineficientes quando se trata da farinha (RAYAS-DUARTE; BERGERON; NIELSEN, 1992; CARVALHO et al., 2002). Portanto, o valor nutritivo do farelo de soja integral está estreitamente relacionado com o tipo de processamento utilizado (AVIES et al., 1997; BERTOL et al., 2001).

A soja tem estado na berlinda durante os anos 90, não apenas porque é uma proteína de alta qualidade, conforme avaliação pelo método "Escore de Aminoácidos Corrigido pela Digestibilidade Protéica" (*Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score*) do FDA, mas agora tem se pensado que ela desempenha um papel preventivo e terapêutico na doença cardiovascular (DCV), câncer, osteoporose e o alívio dos sintomas da menopausa.

O efeito da soja em diminuir o colesterol é o efeito fisiológico mais bem documentado. Uma análise de 1995 de 38 estudos diferentes (envolvendo 743 pessoas) descobriu que o consumo da proteína da soja resultou em reduções significativas no colesterol total (9,3%), LDL-colesterol (12,9%) e triglicérides (10,5%), com um pequeno, porém insignificante aumento (2,4%) da proteína de alta-densidade (HDL) (ANDERSON; JOHNSTONE; COOK-NEWELL, 1995). Análise de regressão linear indicou que o nível limiar de ingestão de soja no qual os efeitos sobre os lipídeos do sangue se tornaram significativos foi de 25 g. No que se refere ao componente específico responsável pelo efeito da soja em diminuir o colesterol, recentemente tem-se dado atenção às isoflavonas (POTTER, 1998). As isoflavonas, todavia, não foram eficazes em diminuir o colesterol em dois importantes estudos realizados na década de 90 (HODGSON et al., 1998; NESTLE et al., 1997). O mecanismo exato pelo qual a soja exerce seu efeito hipocolesterolêmico não foi completamente elucidado.

Em 4 de maio de 1998, a *Protein Technologies International* (PTI, de St. Louis, Missouri) solicitou ao FDA um pedido de alegação de promoção de saúde para os produtos que contêm proteína da soja relativo a redução do risco de doenças coronarianas. Baseado em um nível diário eficaz de 25 g de proteína da soja, a PTI propôs que a quantidade de proteína da soja necessária para qualificar um alimento individual de sustentar a alegação de promoção de saúde é de 6,25 g com um mínimo de 12,5 mg de isoflavonas totais por quantidade de referência habitualmente consumida. Em agosto do mesmo ano, o FDA aceitou a petição da PTI e está em processo de formulação de uma proposta de regulamentação.

Diversas classes de anti-carcinogênicos têm sido identificados nos grãos de soja, incluindo inibidores de protease, fitoesteróis, saponinas, ácidos fenólicos, ácidos fílicos e isoflavonas (MESSINA; BARNES, 1991). As isoflavonas são fenóis heterocíclicos estruturalmente similares aos esteróides estrogênicos. Devido ao fato de elas serem estrogênios fracos, as isoflavonas podem agir como anti-estrogênios por competir com os

estrogênios endógenos de ocorrência natural e que são mais potentes ao ligarem-se ao receptor de estrogênio. Isso pode explicar porque populações que consomem quantidades significativas de soja (por ex., sudeste da Ásia) têm um risco reduzido de câncer dependente de estrogênio. Entretanto, os dados epidemiológicos sobre a ingestão de soja e o risco de câncer são inconsistentes atualmente (MESSINA; BARNES; SETCHELL, 1997). Até esta data, não há nenhum ensaio de intervenção clínica publicado que investigue o papel da soja em reduzir o risco de câncer.

A soja também pode beneficiar a saúde dos ossos (ANDERSON; GARNER, 1997). Um estudo clínico envolvendo 66 mulheres pós-menopausa conduzido pela *University of Illinois*, descobriu que 40 g de proteína de soja isolada (ISP) por dia (contendo 90 mg de isoflavonas totais) aumentou significativamente (aproximadamente 2%) tanto o conteúdo mineral como a densidade óssea na coluna lombar após 6 meses (ERDMAN; POTTER, 1997).

A teoria de que a soja pode aliviar os sintomas da menopausa foi sugerida pela observação de que mulheres asiáticas relatavam níveis significativamente menores de fogachos (ondas de calor) e suores noturnos quando comparadas com as mulheres ocidentais. Mais recentemente, 60 gramas de ISP diariamente por 3 meses reduziu os fogachos em 45% em 104 mulheres pós-menopausa (ALBERTAZZI et al., 1998). Ainda que essas observações sejam animadoras é muito prematuro sugerir que a soja possa ser um substituto para a terapia de reposição hormonal, mas é uma ótima opção para mulheres que tenham histórico familiar de câncer e, portanto o uso da reposição hormonal não é recomendado.

O farelo de soja também desempenha papel importante no controle da glicemia, por ser alimento rico em fibras. Em estudo clínico realizado em faculdade de Medicina dos EUA, dividiu-se um grupo de estudantes em dois, o primeiro grupo recebeu solução concentrada de glicose e ingeriu em seguida fibras de soja e o segundo grupo recebeu somente a solução concentrada de glicose. O grupo que recebeu as fibras de soja não

apresentou aumento significativo nos níveis de glicose no sangue quando comparados com o outro grupo. Concluiu-se que as fibras de soja adsorveram a glicose ingerida, tornando mais lenta sua liberação para ser absorvida e passar para a corrente sanguínea (MESSINA; MESSINA; STCHELL, 1994).

### 1.3 DADOS ECONÔMICOS

Por ser um grão de várias utilidades, tem uma demanda mundial de consumo superior a 180 milhões de toneladas por ano.

- *Soja no mundo*

Produção: 189,2 milhões de toneladas

Área plantada: 87,81 milhões de hectares

Complexo agroindustrial da soja movimenta aproximadamente 215 bilhões de dólares por ano.

- *Soja na América Latina*

Produção: 89,84 milhões de toneladas

Área plantada: 37,95 milhões de hectares.

- *Soja nos Estados Unidos (maior produtor mundial)*

Produção: 65,8 milhões de toneladas

Área plantada: 29,27 milhões de hectares

Custo da produção: 12 dólares a saca de 60 Kg

Produtividade: 2,25 Kg / há

- *Soja no Brasil (segundo maior produtor)*

Produção: 49,71 milhões de toneladas

Área plantada: 21,24 milhões de hectares

Custo: 9 dólares a saca de 60 Kg

Complexo agroindustrial da soja movimentada: 30 bilhões de dólares por ano

Produtividade média: 2340 Kg / há

Os estados brasileiros que mais produzem soja Mato Grosso e Paraná respectivamente (CONAB, 2005).

#### 1.4 ALIMENTOS TRANSGÊNICOS

A biotecnologia é a ciência que visa o desenvolvimento de produtos e serviços por processos biológicos, em geral utilizando a tecnologia de DNA recombinante, também conhecida como engenharia genética. Além dos alimentos transgênicos assim desenvolvidos, os de processos de fermentação por microrganismos geneticamente modificados tem sido amplamente utilizados pela indústria para a produção de alimentos ou ingredientes alimentares (BOREM, 2005).

Embora a palavra biotecnologia tenha sido usada pela primeira vez em 1919 D.C por um engenheiro agrícola da Hungria, as primeiras aplicações biotecnológicas pelo ser humano datam de 1800 A.C, com o uso de leveduras (organismo vivo) para fermentar vinhos e pães (produtos). Desde então, o conceito de biotecnologia tem sido aplicado ao longo do tempo, como pode ser observado na listagem histórica de alguns marcos científicos e tecnológicos que contribuíram para o desenvolvimento da área (PESSOA et al., 2001).

A partir da década de 60, surgiu a engenharia genética ou tecnologia do DNA recombinante, esta tecnologia permite a transferência de genes de um organismo para outro

produzindo assim uma nova substância. Mais foi a partir de 1984 que surgiram os primeiros vegetais transgênicos (PESSOA et al., 2001).

Nos métodos convencionais de melhoramento genético, novas combinações genéticas são obtidas por meio de cruzamentos sexuais entre plantas que apresentam as características desejadas. Com a transgenia insere-se uma seqüência quimérica, geralmente composta de genes de resistência a antibióticos, promotores fortes e genes de interesse, oriundos de diferentes espécies. Ou seja, plantas transgênicas (Organismos Geneticamente Modificados – OGM) são plantas que tem inseridas, em seu genoma, uma seqüência de DNA manipulado em laboratórios por técnicas moleculares ou biotecnologias. Essas técnicas de DNA, que diferenciam as variedades transgênicas e as demais, merecem ser cientificamente estudadas quanto aos seus efeitos sobre a saúde humana e possíveis danos ao meio ambiente (NODORI; GUERRA, 2000).

Mundialmente há um debate sobre o impacto dos Organismos Geneticamente Modificados (OGM) na saúde humana e animal e no meio ambiente, essa polêmica se torna ainda maior por falta de dados científicos que permitam uma avaliação conclusiva para liberação comercial. A transgenia é uma técnica que pode contribuir de forma significativa para o melhoramento genético de plantas, visando a produção de alimentos, fibras e óleos. Como por exemplo, o óleo de soja, existente no Canadá e nos Estados Unidos em que a quantidade de tocoferol de vitamina E pode ser aumentado em até 80 vezes ou ainda o arroz dourado, estudado atualmente nas universidades de Zurique (Suíça) e Freiberg (Alemanha), rico em vitamina A que pode ser um grande aliado no combate à deficiência dessa vitamina em países da Ásia, África e América Latina, onde o consumo de arroz é alto, assim como a carência de vitamina A. No Brasil, pesquisas vem sendo desenvolvidas pela Embrapa em relação ao milho com maior teor de metionina permitindo assim uma melhoria nutricional da dieta (LAJOLO; NUTTI, 2003).

Os OGM podem ser transgênicos ou não. Se o organismo alvo for modificado

geneticamente por um ou mais genes provenientes de um organismo da mesma espécie do organismo alvo, este é considerado um organismo geneticamente modificado. Um exemplo de OGM que não é transgênico é o tomate *flavr savr*. Este é um tomate geneticamente modificado que apresenta processo de maturação mais lento, onde foi necessário isolar uma determinada seqüência gênica do próprio tomate e inseri-la, em sentido invertido, no genoma do fruto. Desta forma, o, como o gene inserido provém de um organismo da mesma espécie do organismo alvo (tomate), este é considerado OGM não transgênico (GUERRANTE, 2003).

O consumo de alimentos com DNA adicional parece não ser considerado perigoso pois ingerimos DNA e RNA através da dieta e parece que pequena a passagem do gene funcional para o intestino causando efeito adverso (NODORI; GUERRA, 2003). Entretanto, discute-se que, estudos feitos em ratos alimentados com ração contendo DNA modificado geneticamente não ocorreu destruição total deste DNA no processo de digestão sendo detectado posteriormente em células do fígado e leucócitos; além de serem encontrados nas células de fetos de ratos (NODORI; GUERRA, 2003).

Aliado ao fator nutricional dos alimentos, a biotecnologia permitirá o desenvolvimento de alimentos com demandas diferenciadas, nos aspectos sensoriais, nutricionais e de saúde (VERRIPS; WARMOESKERKEN; POST, 2001).

## 1.5 SOJA TRANSGÊNICA

A soja transgênica se difere da soja convencional (não transgênica), pela introdução de DNA, tornando-a resistente ao herbicida Roundup®, cujo princípio ativo é o glicofosato. O gene foi retirado de *Agrobacterium* estirpe CP4 e produz enzima 5' – enolpiruvato – chiquimato – 3 – fosfato – sintase (EPSPS). Contudo, o transgene completo

contêm seqüências de bactérias, de vírus e da petúnia cujos produtos não fazem parte da nossa alimentação (AZEVEDO; FUNGARO; VIEIRA, 2000).

A liberação para cultivo comercial de plantas transgênicas deve ser precedidas por estudos nutricionais e toxicológicos de longa duração, mas esses estudos não existem, nem mesmo nos Estados Unidos.

No caso da variedade de soja *Roundoup Ready* (soja RR), os testes realizados não foram suficientes para discriminar possíveis variações nas 16 proteínas alergênicas presentes na soja. Foram comparados os perfis protéicos de variedades transgênicas e não transgênicas de soja observaram *in vitro*, um aumento de 26,7% no teor do inibidor de tripsina, considerado alergênico (PADGETTE et al., 1996).

Em diversos estudos diretos realizados com a proteína CP4 EPSPS, tem demonstrado que essa proteína não representa um novo risco aos alimentos. Os resultados, baseados em estudos realizados através da administração oral da proteína CP4 EPSPS em ratos, mostram que não há indícios de toxicidade dessa proteína. Essa ausência de toxicidade era esperada, dada a rápida degradação da proteína CP4 EPSPS pelos fluidos gastrointestinais. Por outro lado, essa proteína pertence a uma família de proteínas com um largo histórico de consumo seguro (BURKS; FUCKS, 1995).

A liberação comercial da soja RR, foi baseada no princípio de equivalência substancial, que significa que produtos transgênicos passaram a ser equivalentes aos similares não transgênicos, considerando o incerto transgênico como mero aditivo e assumindo-se, então, que os produtos não causam risco à saúde (NODORI; GUERRA, 2000). Ainda, segundo os autores, a construção genética inserida na planta contém elementos bastante distintos daqueles naturais encontrados nela, proporcionando novos produtos gênicos e podendo desencadear efeitos pleiotrópicos substanciais e não podem, por isso, ser considerados desprezíveis.

Para determinação da equivalência substancial, a composição do alimento

geneticamente modificado deverá ser comparada à de seu análogo convencional, preferencialmente a linhagem parental direta. Análises de composição devem ser realizadas em plantas geneticamente modificadas e nos respectivos análogos convencionais / linhagens controle que tenham se desenvolvido em condições ambientais similares, uma vez que estas podem levar à diferenças na composição não relacionadas à modificação genética. Ao mesmo tempo, é necessário avaliar a nova variedade geneticamente modificada em diferentes locais (diferentes condições ambientais) e durante temporadas subsequentes (diferentes condições climáticas), com a finalidade de verificar se não houve alteração de rotas metabólicas, com possíveis efeitos adversos na composição da planta (KUIPER et al., 2001).

As análises para determinação da composição de alimentos geneticamente modificados e seus derivados devem focar o conteúdo de nutrientes-chave (macro-nutrientes), de componentes tóxicos-chave e de fatores antinutricionais-chave. Outros componentes presentes em alimentos específicos também podem ser quantificados se apresentarem efeitos biológicos potencialmente benéficos, como as isoflavonas da soja. Também deve ser verificada a ocorrência de quaisquer antinutrientes conhecidos, naturalmente presentes no alimento, para a certeza de que seus níveis não tenham aumentado significativamente, como resultado da modificação genética, em relação aos níveis encontrados em variedades convencionais. Para alimentos processados, a comparação pode também ser realizada entre o alimento derivado de OGM processado e análogo convencional processado. Com relação aos antinutrientes, o processamento também deve ser considerado, uma vez que ele pode inativar fatores antinutricionais presentes no alimento não processado (ANZFA, 2000).

Segundo Lajolo e Nutti (2003), a aplicação do conceito de equivalência substancial não representa uma avaliação de segurança mais permite verificar similaridades e diferenças entre o alimento convencional e o novo produto, passando por uma avaliação toxicológica posterior.

## 1.6 PROCEDIMENTOS DE SEGURANÇA NA UTILIZAÇÃO DE ALIMENTOS TRANSGÊNICOS

A prática da avaliação de segurança dos AGM (alimentos geneticamente modificados) inclui não só a avaliação de riscos potenciais mas também todas as etapas relativas à inserção do DNA e do alimento como um todo (NODORI; GUERRA, 2003).

Podemos destacar:

- *Análise da construção genética:* permite a transferência horizontal de genes para bactérias intestinais ou células do intestino humano. Verifica-se que o DNA rec (recombinante) não é diferente do DNA contido nos alimentos; e em um cálculo experimental feito em uma dieta austríaca com alimentos transgênicos como milho, soja e batata, verificou-se um total de 0,38 mcg / dia de DNA rec, quantidade essa considerada insignificante e apesar de não dispormos de dados no Brasil, estima-se que ocorreria uma quantidade equivalente (LAJOLO; NUTTI, 2003).

Discute-se ainda que, os processos térmicos e mecânicos aos quais os alimentos são submetidos, levariam a uma completa degradação do DNA. Além disso, no processo de digestão o DNA rec não se comportaria diferente do DNA ingerido habitualmente na dieta e quanto a manutenção da funcionalidade do gene ingerido ou seja sua expressão nas células epiteliais do intestino mostrou-se improvável.

- *Composição química:* a composição química do AGM deverá ter uma comparação com seu análogo convencional, preferencialmente com a linhagem parental direta para determinação da equivalência substancial. Verifica-se ainda a presença de antinutrientes presentes no alimento convencional e sua checagem com os níveis dos AGM (LAJOLO; NUTTI, 2003).

- *Aspectos toxicológicos dos AGM:* têm sido realizados estudos a fim de

verificar a segurança alimentar dos AGM em estudos curtos ou até 90 dias em diversas espécies de animais não ocorrendo efeitos negativos importantes (LAJOLO; NUTTI, 2003).

- *Efeitos não intencionais*: a modificação genética não permite identificar em que local do cromossomo o DNA transferido irá se localizar, devido essa inserção ser feita ao acaso pode ocorrer efeitos não intencionais como ativação de alguns genes ou silenciamento de outros. Entre esses efeitos pode se verificar alterações na morfologia da planta ou até mesmo no metabolismo e composição química (LAJOLO; NUTTI, 2003).

## 1.7 ROTULAGEM DE ALIMENTOS GENETICAMENTE MODIFICADOS NO BRASIL

No Brasil, o governo publicou em um primeiro momento o Decreto nº 3.871, de 18 de julho de 2001, o qual estabelecia que deveriam ser rotulados os alimentos embalados, destinados ao consumo humano, que contivessem ou fossem produzidos com organismos geneticamente modificados, com presença acima do limite de 4% do produto (BRASIL, 2001).

Tal decreto, no entanto, foi revogado pelo Decreto nº 4.680, de 24 de abril de 2003, que estabelece normas de rotulagem, tanto para os produtos embalados, quanto para os vendidos a granel ou in natura, que contenham ou sejam produzidos a partir de OGM. Diz ainda que as expressões “pode conter soja transgênica” e “pode conter ingrediente produzido a partir de soja transgênica” deverão constar do rótulo, independentemente do percentual da presença da soja transgênica a partir da soja colhida na safra de 2003 (BRASIL, 2003).

## 1.8 ALIMENTOS TRANSGÊNICOS: opinião pública e polêmica

O tema organismos geneticamente modificados tem sido destacado através de polêmicas nos mais diversos campos. Ciência, política, religião, economia, meio ambiente, saúde: quando o tema em questão são os transgênicos, o que há em comum entre as perspectivas apontadas pelas diferentes áreas é a inexistência de consenso. Governantes, legisladores e juízes; cientistas e religiosos; organizações de agricultores, de consumidores e ambientalistas têm se posicionado contrária ou favoravelmente às aplicações na agricultura e na alimentação da técnica que possibilita a introdução em organismo hospedeiro de genes originários de outro organismo. É assim que o assunto tem se tornado objeto de leis, estudos, reportagens, seminários, livros, filmes, exposições artísticas, declarações, manifestações, debates e embates em que evidenciamos as dimensões materiais e simbólicas relativas ao tema (MENASCHE, 2005).

A oposição aos transgênicos não se limita, no entanto, a movimentos preocupados com a saúde das pessoas e o equilíbrio do meio ambiente. Os opositores ideológicos acreditam que grandes empresas multinacionais que produzem transgênicos passariam a ter controle, através do domínio dessa técnica, sobre a agricultura dos países pobres. O motivo maior dessa polêmica é a falta de dados científicos que permitam a avaliação conclusiva para a liberação comercial.

### 1.8.1 Risco ao meio ambiente

O Brasil é o berço de várias espécies cultivadas ou apresenta regiões com alta

variabilidade genética das populações crioulas ainda em cultivo, situação que requer muita cautela. A introdução em plantas de genes de resistência a insetos e a herbicidas isolados de bactérias ou outras fontes levanta questões relativas à probabilidade e às conseqüências desses genes serem transferidos pela polinização cruzada a espécies aparentadas, principalmente plantas daninhas que competem com as variedades cultivadas (NODORI; GUERRA, 2003).

## 1.9 O ESPECTRO ELETROMAGNÉTICO

O espectro eletromagnético constitui-se de ondas eletromagnéticas, que vão das ondas de rádio e televisão, até os raios cósmicos, com um gradiente de energia apresentado na Figura 1.

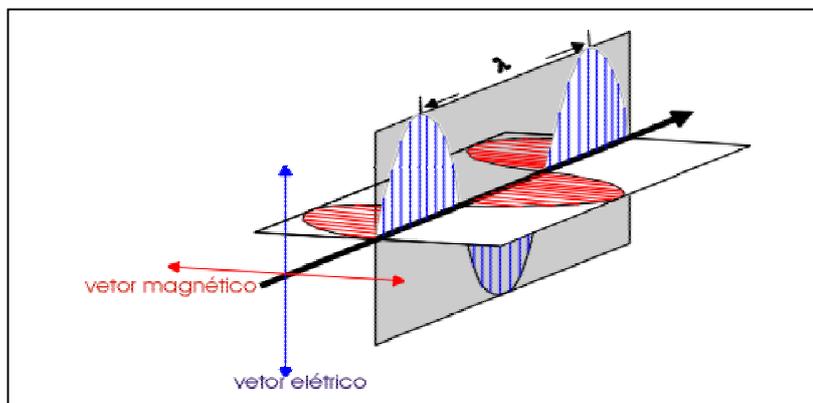
<i>Mössbauer</i>	<i>Elétrons Internos</i>		<i>Elétrons de valência</i>		<i>Vibracional</i>			<i>Rotacional</i>		<i>R.M.N.</i>		
<i>raios -<math>\gamma</math></i>	<i>raios -X</i>		<i>Ultra-violeta</i>	<i>Visível</i>	<i>Infravermelho</i>			<i>Microonda</i>		<i>Rádio-freqüência</i>		
$\lambda$ cm	$10^{-9}$	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-2}$	$10^{-1}$	1	10	100
$\nu$ Hz	$3 \times 10^{19}$	$3 \times 10^{17}$		$3 \times 10^{15}$		$3 \times 10^{13}$			$3 \times 10^{11}$		$3 \times 10^9$	

**Figura 1** – Representação esquemática do espectro eletromagnético

### 1.9.1 A região visível

A luz visível faz parte de uma pequena porção do espectro eletromagnético, que vai do vermelho ao azul, e pode ser entendida, assim como as outras regiões do espectro

eletromagnético, como campo elétrico oscilante ortogonal a um campo magnético também oscilante, como mostra a Figura 2.



**Figura 2** – Representação esquemática uma onda eletromagnética

### 1.10 O ESPALHAMENTO DA LUZ

Quando um raio de luz atravessa um sistema particulado, esta luz se espalha em todas as direções, em que o comprimento de onda, ou a frequência da luz espalhada é o mesmo do raio de luz original. Este efeito possui graus diferentes de energia para a luz espalhada com diferentes comprimentos de onda.

Assim, quanto menor o comprimento de onda, maior será a energia. Portanto, se um raio de luz que possui todas as cores do espectro, atravessar um sistema particulado, os raios de maior energia serão mais espalhados com maior intensidade do que os raios de menor energia. Este fenômeno recebeu o nome de “Efeito Tyndall” (EWING, 1972).

Lord Rayleigh foi quem estudou este efeito e postulou a hipótese de que a cor do céu é azul com o sol em ângulos de incidência próximos a  $90^\circ$ , e observou que o avermelhado do alvorecer e do crepúsculo é causado pelo espalhamento da luz através de

partículas de água e poeira presentes na atmosfera. O azul do céu seria neste caso o espalhamento da luz em todas as direções, enquanto que o avermelhado seria a luz do sol que atravessa em ângulo rasante a atmosfera. Mais tarde, em 1899, Rayleigh sugeriu que o fenômeno em questão seria provocado pelas próprias moléculas dispersas na atmosfera (SALA, 1996).

Em 1914, Cabannes mostrou experimentalmente com sucesso, que gases puros, ou seja, livres de poeira, também tinham a capacidade de espalhar os raios de luz.

Uma avaliação minuciosa do espalhamento de luz de substância líquidas, sólidas e gasosas, não obedecia exatamente à regra, como mostra o efeito Tyndall. A hipótese, basicamente formada aparecerá envolvida dentro de outra idéia, em que os raios espalhados sofriam um deslocamento no comprimento de onda. Esta divergência foi ponto de partida para estudar a natureza do espalhamento de luz.

O Físico Sir Chandrasenkara Venkata Raman procurou achar explicação das anomalias na simetria observada nas moléculas. Durante estes trabalhos no fenômeno do espalhamento, Raman fez em 1928, uma inesperada e altamente surpreendente descoberta, em que a luz espalhada continha não somente a radiação derivada da luz primitiva, mas também radiação com comprimentos de onda, diferentes da luz incidente. (SALA, 1996).

A fim de estudar com mais profundidade esta observação, Raman usou uma lâmpada de mercúrio cuja luz emitida foi filtrada para se obter um único comprimento de onda. A luz espalhada desse raio por um meio particulado foi registrada em um espectrógrafo. Raman encontrou no espectrograma, várias outras linhas situadas de ambos os lados da linha de mercúrio. Através deste experimento, Raman chegou à conclusão que um feixe de luz monocromático (um único comprimento de onda) ao se chocar com sistemas particulados, se espalha dando origem a feixes de luz policromáticos (vários comprimentos de onda) (SALA, 1996).

Em 1930 a academia de ciências concedeu o prêmio Nobel para Raman pela

descoberta do efeito no espalhamento de luz, e em sua homenagem, este espalhamento recebeu o seu nome, “Espalhamento Raman”, também conhecido como espalhamento inelástico.

## 1.11 A ESPECTROSCOPIA

A espectroscopia estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria, tendo em vista como um de seus principais objetivos a determinação dos níveis de energia de átomos e moléculas.

A energia total de uma molécula é a soma das energias eletrônicas, vibracionais e rotacionais ( $E_{\text{tot}}=E_{\text{elet}}+E_{\text{vib}}+E_{\text{rot}}$ ). As energias eletrônicas aparecem nas regiões ultravioleta-visível, as energias vibracionais aparecem na região do infravermelho e as energias rotacionais aparecem na região das microondas. As energias eletrônicas englobam as energias vibracionais e rotacionais, e as energias vibracionais englobam as rotacionais.

Os níveis energéticos de uma molécula, quando comparados entre si, mostram valores bem diferentes, isto faz com que cada espectro possa ser estudado separadamente.

Neste trabalho foi usada a espectroscopia Raman que nos fornecem informações na região do infravermelho, por este motivo, vamos nos focar nesta região do espectro eletromagnético (SKOOG; HOLLER, 2002).

### 1.11.1 A região do infravermelho

A região espectral do infravermelho está situada antes da região do visível no espectro eletromagnético, portanto não conseguimos enxergar nesta região, mas podemos senti-la, pois a região no infravermelho está associada ao “calor” (SKOOG; HOLLER, 2002).

### 1.11.2 O modelo clássico

Podemos considerar a ligação química em uma molécula diatômica como se fosse constituída por duas bolas, as quais representam os átomos, e uma mola que representa a ligação química.

Uma descrição matemática apropriada para o modelo físico de bolas e molas é feita considerando-se as de molas e bolas como um oscilador harmônico. Através desta aproximação podemos obter os níveis de energia vibracionais de moléculas diatômicas. Para moléculas poliatômicas também pode se obter estes níveis de energia, entretanto outras aproximações e considerações relativas à simetria molecular e ao sistema de coordenadas devem ser feitas (SKOOG; HOLLER, 2002).

## 1.12 A ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL

Existem dois tipos de espectroscopia vibracional, a espectroscopia no

infravermelho e a espectroscopia Raman. As duas técnicas nos dão informações na região do infravermelho, mas o mecanismo de obtenção destas informações, isto é, dos espectros são diferentes. Esta diferença se dá basicamente por dois motivos básicos: o tipo da fonte que gera a radiação e a posição do monocromador no instrumento.

### 1.12.1 Espectros no infravermelho

Vimos até o momento que as ligações químicas em uma molécula vibram com frequências e energias características. Este fato analisado isoladamente não nos mostra como uma molécula pode absorver energia da radiação eletromagnética que sobre ela, incidir. Para que uma molécula absorva a radiação eletromagnética é necessário que além de vibrar esta molécula apresente, simultaneamente, uma variação periódica do seu momento de dipolo elétrico permanente  $\mu$ . Somente nestes casos é possível, que a molécula absorva radiação eletromagnética na sua frequência de ressonância. Vale ressaltar, que não é necessário que a molécula possua um momento de dipolo permanente, mas que apresente variação no momento de dipolo durante um modo de vibração (SALA, 1996; SKOOG; HOLLER, 2002).

Neste item do trabalho descrevemos como uma molécula absorve radiação eletromagnética no infravermelho e, portanto temos os fundamentos de como se originam os espectros no infravermelho. Através de espectros no infravermelho podemos obter informações sobre os níveis vibracionais das moléculas sob análise, todavia este não é o único método de se obter tais informações.

Uma maneira indireta de se obter informações sobre os níveis de energia vibracionais de moléculas é transferir para a região do visível e ultravioleta as informações que tradicionalmente só seriam obtidas no infravermelho. Tal transferência é feita através da

espectroscopia Raman, isto é, através do espalhamento inelástico da radiação eletromagnética que interage com as moléculas. As frequências vibracionais são determinadas pelas diferenças entre as frequências das radiações espalhadas e a da radiação incidente.

Embora os mesmos valores de frequências vibracionais obtidos através de espectros no infravermelho e Raman sejam os mesmos o mecanismo que estes espectros são obtidos são diferentes. Nos espectros obtidos no infravermelho é suficiente que haja variação do momento dipolar durante uma vibração. Já nos espectros Raman o momento de dipolo é induzido pela própria radiação eletromagnética incidente e, portanto deve haver polarizabilidade da ligação durante a vibração. Assim a polarizabilidade torna-se o ponto chave para o entendimento e aplicação da espectroscopia Raman (SALA, 1996).

Visto a importância da polarizabilidade na espectroscopia Raman, passaremos a tratá-la com mais rigor no próximo item deste trabalho com objetivo de finalmente aplicarmos todo o desenvolvimento que fizemos sobre vibrações moleculares para entendermos claramente, como se “*originam*” os espectros Raman.

### 1.12.2 A magnitude do espalhamento Raman

A causa básica do espalhamento Raman é a polarização induzida na molécula pelo campo elétrico oscilante da radiação eletromagnética incidente. Este dipolo induzido espalha a radiação com ou sem alteração da energia vibracional da molécula. A polarização  $P$ , induzida na molécula depende da polarizabilidade desta molécula  $\alpha$  e do campo elétrico da radiação eletromagnética incidente  $E$ , como apresentado na Equação abaixo.

$$P = \alpha E \quad \text{eq. 1}$$

A polarizabilidade dos elétrons de uma molécula dependerá da frequência de vibração molecular e, portanto podemos considerar como uma aproximação bastante razoável que o potencial que governa esta variação na polarizabilidade é o mesmo que governa as vibrações.

Na espectroscopia Raman, tanto moléculas diatômicas heteronucleares como moléculas diatômicas homonucleares apresentam atividade, pois em ambos os casos ocorrem variações na polarizabilidade durante a vibração. Por exemplo, a polarizabilidade da ligação dupla carbono-carbono varia significativamente durante a vibração molecular e, portanto seu espalhamento Raman é forte, já na ligação dupla carbono-oxigênio a variação da polarizabilidade não é tão intensa, pois esta ligação já possui um momento de dipolo permanente intenso. No infravermelho ocorre justamente o contrário, a absorção da ligação dupla carbono-carbono é fraca e a absorção da ligação dupla carbono-oxigênio é forte. Fatos como este levaram a generalização equivocada de espécies ativas no infravermelho são inativas na espectroscopia Raman.

No espectro Raman tem-se simetria em relação à linha Rayleigh, uma banda do lado de frequências mais baixas, as Stokes, e uma do lado das frequências mais altas, as anti-Stokes. As linhas Stokes e anti-Stokes deveriam ter as mesmas intensidades, mas observa-se, experimentalmente, que as linhas Stokes são mais intensas.

### 1.13 QUIMIOMETRIA

São métodos matemático-estatísticos aplicados em problemas químicos. Estes métodos visam o planejamento, a otimização de experimentos, classificação e também o modelamento de dados experimentais (GEMPERLINE, 1997).

## 1.14 PRÉ-PROCESSAMENTO DE SINAIS ANALÍTICOS

### 1.14.1 A remoção do ruído experimental: o filtro de transformada de Fourier

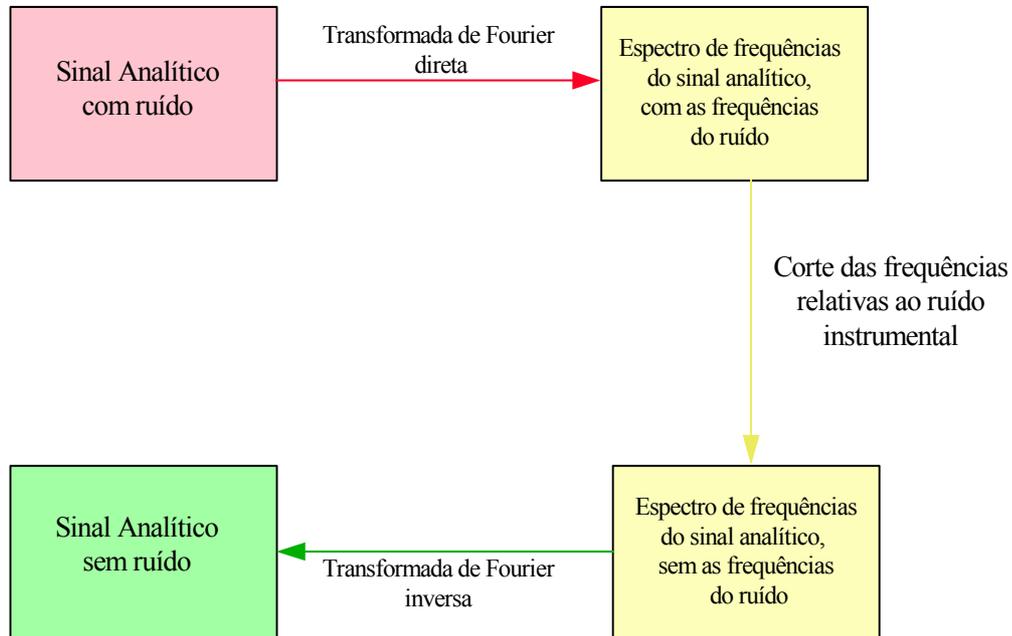
Para entendermos melhor de modo qualitativo a remoção de ruídos experimentais usando a transformada de Fourier, vamos supor que o sinal analítico original (o espectro) seja uma orquestra sinfônica composta, por instrumentos afinados e desafinados os quais representam respectivamente as bandas espectrais e os ruídos instrumentais. Quando se aplica a transformada de Fourier direta, esta operação matemática nos permite ouvir cada instrumento musical separadamente, e aí sim sabemos quais os instrumentos que estão desafinados, uma vez localizados estes instrumentos, podemos retirá-los. Após a remoção destes instrumentos, aplica-se a transformada de Fourier inversa para obtermos a orquestra sinfônica composta apenas pelos instrumentos afinados, isto é, pelas bandas espectrais. Assim sendo faremos uma breve introdução sobre o filtro de transformada de Fourier, como segue no próximo item desta dissertação de mestrado.

### 1.14.2 O filtro de transformada de Fourier

Uma vez obtido o espectro de frequências do sinal analítico, devemos cortar as frequências altas, visto serem estas frequências, na grande maioria dos casos, relacionadas ao ruído instrumental.

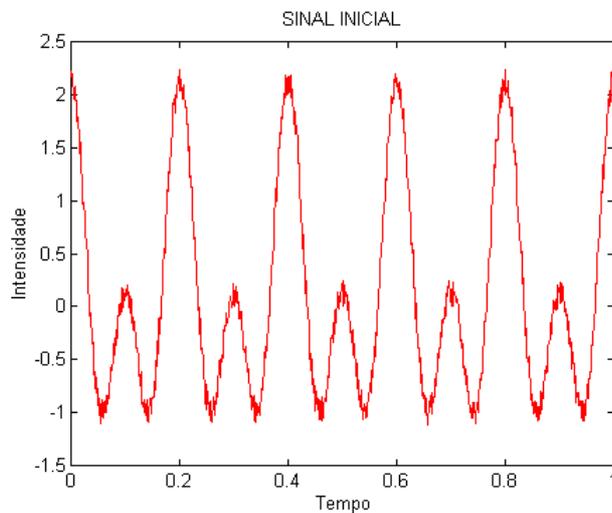
A seqüência de operações utilizada no processo de remoção de ruído, através da transformada de Fourier, podem ser facilmente entendidas se observarmos a Figura 3

(BRACEWELL, 1965; NUSSBAUMER, 1982).



**Figura 3** – Representação esquemática da seqüência de operações utilizada na aplicação do Filtro de transformada de Fourier

Para exemplificarmos a aplicação do filtro de transformada de Fourier escolhemos um sinal complexo, em que muitas frequências estão envolvidas. Este sinal não é proveniente de nenhum processo analítico, mas permitirá ilustrar, de modo didático, alguns aspectos importantes do filtro de transformada de Fourier. Vejamos o exemplo.

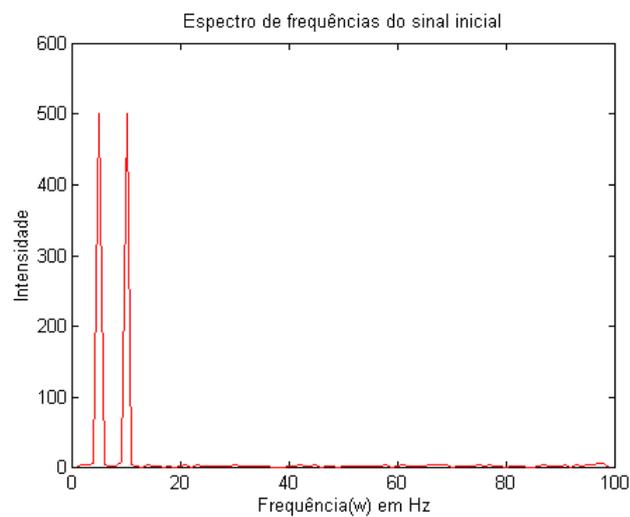


**Figura 4** – Sinal original, isto é, sinal + ruído

*Espectro de frequências do sinal inicial*

No espectro de frequências pode-se observar claramente que o sinal é formado pelas seguintes frequências características:

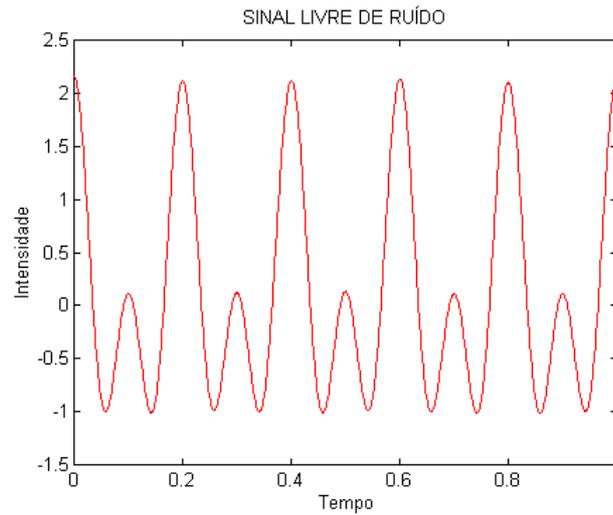
- 5 Hz
- 10 Hz
- Frequências altas, relativas a ruído.



**Figura 5** – Espectro de frequências do sinal original

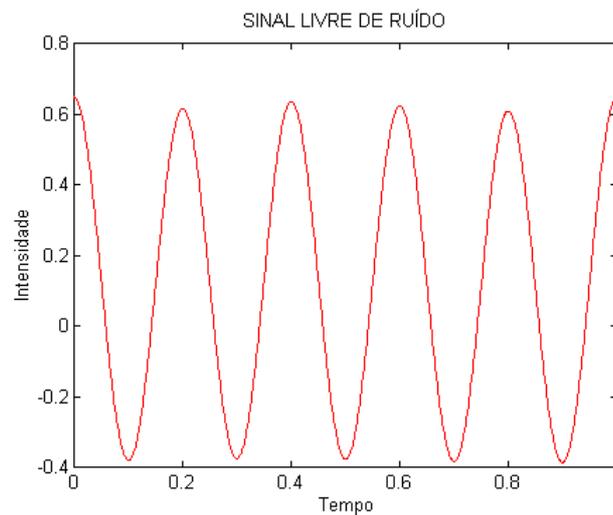
*Corte de frequências superiores a 10 Hz e retorno ao domínio do tempo*

Nesta etapa devemos cortar frequências superiores a 10 Hz. Para tanto, multiplicamos o espectro de frequências pelo valor 1, até a frequência 10 Hz, acima desta frequência multiplicamos por zero. Efetuado o corte de frequências, aplicamos a transformada de Fourier inversa e obtemos o sinal livre de ruído.



**Figura 6** – Sinal livre do ruído

Se o corte de frequências for efetuado em uma posição errada, corre-se o risco de eliminar informação útil do sinal. Na Figura 7 ilustramos o que ocorreria se, por algum motivo, fosse cortado do espectro de frequências da Figura 5, todas frequências acima de 5 Hz e em seguida fosse aplicada a transformada de Fourier inversa.



**Figura 7** – Sinal distorcido em função de um corte errado nas frequências

Conforme pode ser observado na Figura 7, uma escolha errada da frequência crítica de corte, produz uma distorção catastrófica no sinal. O sinal tratado com o filtro de

transformada de Fourier, neste caso, não apresenta nenhuma relação com o sinal original.

Felizmente, a escolha da frequência crítica é geralmente uma tarefa muito simples, pois o ruído geralmente apresenta frequências altas e o sinal útil, frequências baixas. Na dúvida, devemos efetuar o corte bem longe das frequências baixas. Neste caso, talvez não estejamos cortando todo o ruído, mas certamente uma parcela será eliminada e não corremos o risco de distorcer o sinal (BRACEWELL, 1965; NUSSBAUMER, 1982).

### 1.14.3 Correção de espalhamento de luz (MSC)

O método MSC (Multiplicative Scattering Correction) é uma técnica usada para corrigir o efeito do espalhamento de luz em espectros de reflectância difusa. O fundamento do método está no fato de que a dependência funcional, em relação ao comprimento de onda do espalhamento de luz, é diferente daquela observada para a reflectância difusa. Assim, é possível utilizar um grande número de comprimentos de onda para diferenciar o espalhamento de luz da reflectância difusa. No método MSC a interferência relativa ao espalhamento de luz é minimizada corrigindo-se os espectros de reflectância difusa de modo que todos os espectros possuam o espalhamento “ideal” e por ideal entenda-se médio, visto ser este o único espalhamento possível de ser calculado. A técnica é muito simples e pode ser facilmente entendida se acompanharmos a seqüência de operações abaixo.

Matematicamente, e resumindo, a correção é feita da seguinte forma:

1. A partir do conjunto total de espectros de reflectância difusa, calcula-se o espectro médio  $\bar{X}$ .
2. Faz-se a regressão linear para cada um dos espectros do conjunto total de espectros.

### 3. Correção final.

O método MSC, quando bem aplicado é capaz de reduzir significativamente os efeitos relativos ao espalhamento de luz (MELLO, 1997).

#### 1.14.4 A ortogonalização de espectros

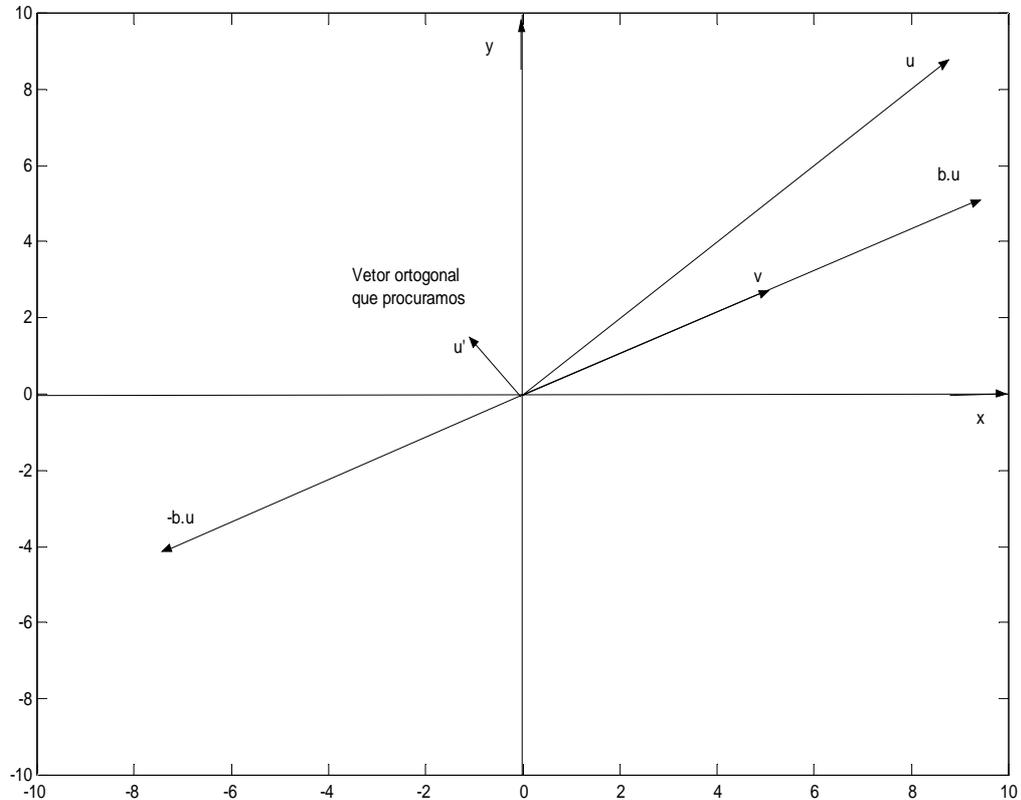
A partir deste ponto faremos uma breve revisão da teoria relacionada ao principal método de pré-processamento de espectros, a qual seja: a ortogonalização de espectros. Basicamente a ortogonalização é feita usando-se o método de Gram-Schmidt (ARFKEN, 1995).

##### 1.14.4.1 O método Gram-Schmidt

Dados dois vetores linearmente independentes no espaço  $n$ -dimensional  $R^n$  podemos obter um vetor ortogonal a qualquer um deles. Por exemplo, suponha que um espectro qualquer (obtido em qualquer região do espectro eletromagnético) seja um dos vetores, aqui chamado de  $\mathbf{u}$ , e o outro vetor o espectro dos interferentes, isto é, aquilo se deseja eliminar do espectro  $\mathbf{u}$ , por exemplo, espectro do solvente e cubeta, fluorescência da matriz, ruído branco, ou seja, tudo que não for correlacionado a medida de interesse, aqui chamado de  $\mathbf{v}$ .

Sabendo-se o que se deseja eliminar ( $\mathbf{v}$ ) o próximo passo é projetar o espectro  $\mathbf{u}$  na direção do espectro  $\mathbf{v}$ . Assim conheceremos, dentro de um certo limite numérico

computacional, a contribuição de  $v$  em  $u$ , como representado na Figura 13 (ARFKEN, 1995; BUTKOV, 1982).



**Figura 8** – Ortogonalização de vetores para remoção da fluorescência usando o método de Gram-Schmidt

Agora, se subtrairmos o vetor  $u'$  (espectro  $u'$ ) do espectro  $u$ , teremos o espectro  $u$  sem a contribuição do espectro  $v$  dos interferentes. Bom isto é o que é feito no método de Gram-Schmidt. Agora traduzindo o método para a matemática, podemos escrever:

“Dados dois vetores linearmente independentes  $(v_1, v_2, v_3, \dots, v_n)$  definidos no  $R^n$ , podemos obter vetores ortogonais  $(v_1^*, v_2^*, v_3^*, \dots, v_r^*)$ , como segue:”

$$v_1^* = v_1$$

$$v_2^* = v_2 - \frac{v_1^* \cdot v_2}{v_1^* \cdot v_1^*} \cdot v_1^*$$

$$v_3^* = v_3 - \frac{v_1^* \cdot v_3}{v_1^* \cdot v_1^*} \cdot v_1^* - \frac{v_2^* \cdot v_3}{v_2^* \cdot v_2^*} \cdot v_2^*$$

⋮

$$v_r^* = v_r - \frac{v_1^* \cdot v_r}{v_1^* \cdot v_1^*} \cdot v_1^* - \frac{v_2^* \cdot v_r}{v_2^* \cdot v_2^*} \cdot v_2^* - \dots - \frac{v_{r-1}^* \cdot v_r}{v_{r-1}^* \cdot v_{r-1}^*} \cdot v_{r-1}^*$$

Assim sendo fica claro que a correção nada mais é que o método de Gram-Schmidt.

## 1.15 PROCESSAMENTO DE SINAIS ANALÍTICOS

### 1.15.1 Compressão de dados: a análise de componentes principais (PCA)

Os instrumentos analíticos nos permitem medir simultaneamente, de modo rápido e eficiente uma enorme quantidade de dados de um sistema químico. Com o avanço e a chegada de computadores em laboratórios, e com o interfaceamento entre instrumentos e computadores, aliados a poderosas ferramentas matemáticas deram ao químico analítico uma grande habilidade em transformar dados em informações úteis, pois nem sempre o aumento no número de dados, aumentam as informações sobre o sistema de interesse, uma vez que

nem todos os dados possuem informações relevantes sobre o sistema.

Assim, é necessária a utilização de métodos matemáticos que nos permitam a compressão deste conjunto de dados obtidos do sistema em questão, em um conjunto de dados ainda muito menor, mas que possua as mesmas informações realmente úteis, para a análise e modelamento do sistema. Existe uma série de métodos destinados à compressão de dados, entretanto, o mais usado é o método fundamentado na análise dos componentes principais (PCA) (BEEBE; KOWALSKI, 1987).

#### 1.15.2 A compressão de dados através da Análise de Componentes Principais (PCA): a fundamentação teórica

A idéia básica da análise de componentes principais é achar combinações lineares entre as variáveis independentes, de modo a reduzir a sua dimensão em um conjunto muito menor de dados, que ainda contenha as principais informações sobre o sistema em questão. Na análise de componentes principais, a matriz das variáveis independentes é decomposta em uma soma de matrizes menores, que não podem mais ser reduzidas, mais uma matriz de erros, como se segue:

$$X = t_1 p_1^T + t_2 p_2^T + \dots + t_k p_k^T + E \quad \text{eq. 2}$$

em que  $E$  é uma matriz de erros  $t_i$  e  $p_i^T$  são os escores e loadings, respectivamente, da matriz das variáveis independentes (BEEBE; KOWALSKI, 1987; MARTES; NAES, 1989).

Esta é a definição que se encontra em boa parte dos livros e artigos sobre calibração multivariada. Entretanto apresentaremos, no próximo item, uma visão alternativa.

### 1.15.3 A compressão dos espectros

Um conjunto de espectros pode ser matematicamente “visto” em forma de matrizes. Estes espectros, isto é, a matriz é chamada de espaço vetorial  $R^m$ . Para que esta matriz seja comprimida, devemos achar o subespaço vetorial  $R^n$ , em que  $n < m$ . Este subespaço, ou seja, esta nova base, onde a matriz será projetada são os autovetores ou componentes principais.

Para se obter os autovalores, deve-se achar primeiramente os autovalores da matriz, pois para cada autovalor obtido há um autovetor correspondente. O maior autovalor corresponde ao maior autovetor, o qual captura a maior parte da variância na matriz, o segundo maior autovalor, corresponde ao segundo maior autovetor, que captura o resíduo da variância a qual não faz parte da variância do primeiro autovetor. Esta variância capturada é acumulativa. No entanto, vale lembrar que devemos pegar os autovetores responsáveis por 95% da variância na matriz dos espectros, sendo que devemos levar em consideração 5% para erros aleatórios (BEEBE; KOWALSKI, 1987; MARTES; NAES, 1989).

### 1.15.4 Autovalores e Autovetores

A Equação

$$Ax = y \quad \text{eq. 3}$$

pode ser considerada uma Equação linear que transforma um vetor  $x$  em um novo vetor  $y$  múltiplo de si mesmo. Para achar estes vetores, fazemos:

$$y = \lambda x \quad \text{eq. 4}$$

onde  $\lambda$  é um fator de proporcionalidade escalar. Substituindo a Equação 4 na Equação 3, temos:

$$Ax = \lambda x \quad \text{eq. 5}$$

$$Ax - \lambda x = 0 \quad \text{eq. 6}$$

$$(A - \lambda I)x = 0 \quad \text{eq. 7}$$

Os autovalores, que vão gerar os autovetores, são as raízes do polinômio característico denominado polinômio de Caley-Hamilton partindo da Equação 8:

$$\det(A - \lambda I) = 0 \quad \text{eq. 8}$$

Para facilitar a compreensão, vamos achar os autovalores e os autovetores de uma matriz  $A$  qualquer de ordem dois por dois (ARFKEN, 1995; LIPSCHUTZ, 1994).

$$A = \begin{bmatrix} 1 & 4 \\ 2 & 3 \end{bmatrix}$$

1º PASSO: *achar os autovalores de A*

$$\det(A - \lambda I) = 0$$

$$\begin{bmatrix} 1 & 4 \\ 2 & 3 \end{bmatrix} - \lambda \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} = 0$$

$$\begin{bmatrix} 1 & 4 \\ 2 & 3 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} \lambda & 0 \\ 0 & \lambda \end{bmatrix} = 0$$

$$\begin{bmatrix} 1-\lambda & 4 \\ 2 & 3-\lambda \end{bmatrix} = 0$$

$$(1-\lambda) \times (3-\lambda) - 8 = 0$$

$$\lambda^2 - 4\lambda - 5 = 0$$

$$\lambda = \frac{4 \pm \sqrt{36}}{2} = \frac{4 \pm 6}{2} \rightarrow \lambda_1 = 5 \text{ e } \lambda_2 = -1$$

Temos dois autovalores  $\lambda = 5$  e  $\lambda = -1$  portanto teremos dois autovetores.

2º PASSO: *achar os autovetores*

Cálculo do primeiro autovetor usando o maior autovalor:

$$\begin{bmatrix} 1-5 & 4 \\ 2 & 3-5 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} -4 & 4 \\ 2 & -2 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} -4x_1 + 4x_2 \\ 2x_1 - 2x_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

As matrizes podem ser escritas em forma de sistemas:

$$\begin{cases} -4x_1 + 4x_2 = 0 \\ 2x_1 - 2x_2 = 0 \end{cases} \rightarrow x_1 - x_2 = 0 \rightarrow x_1 = x_2$$

O autovalor  $\lambda = 5$ , gera as componentes do autovetor:  $x_1 = 1$  e  $x_2 = 1$

Cálculo do segundo autovetor usando o segundo autovalor:

$$\begin{bmatrix} 1 - (-1) & 4 \\ 2 & 3 - (-1) \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} 2 & 4 \\ 2 & 4 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

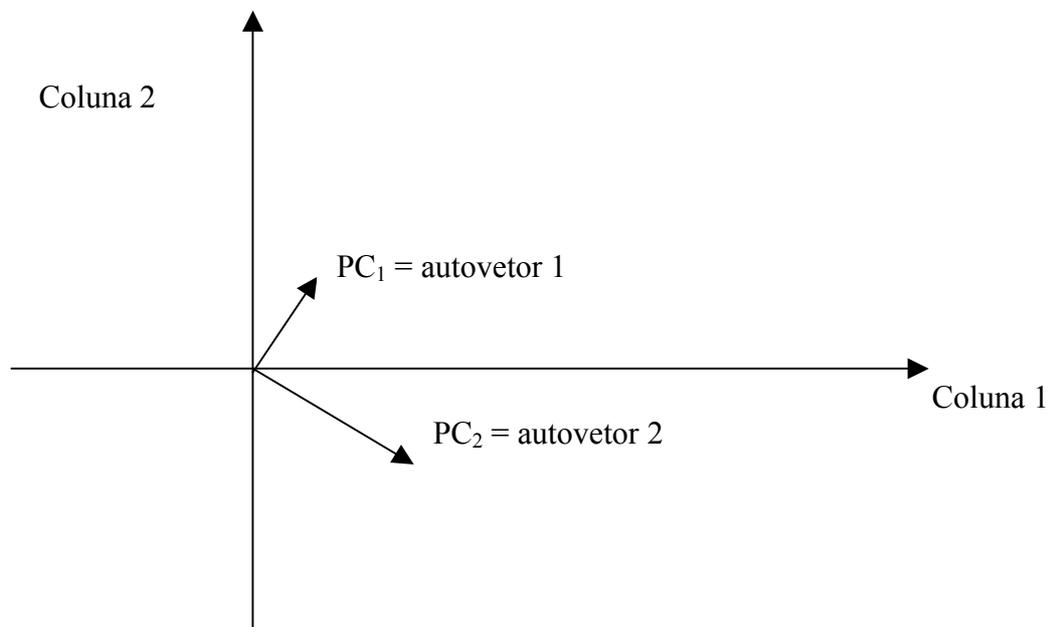
$$\begin{bmatrix} 2x_1 + 4x_2 \\ 2x_1 + 4x_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

$$+ \begin{cases} 2x_1 + 4x_2 = 0 \\ 2x_1 + 4x_2 = 0 \end{cases}$$


---


$$4x_1 + 8x_2 = 0 \rightarrow x_1 = -2x_2$$

O autovalor  $\lambda = -1$ , gera as componentes do autovetor:  $x_1 = 2$  e  $x_2 = -1$



**Figura 9** – Representação esquemática do processo de obtenção da nova base do espaço vetorial. Em que  $PC_1$  e  $PC_2$  geram a nova base vetorial

Quando projetarmos a matriz dos espectros nessa nova base, ou seja, nos

autovetores, (esta projeção nada mais é que uma multiplicação) obteremos a matriz reduzida chamada *escores* e os *loadings* que significam as regiões de maior importância (de maior peso) dos *escores*. Em outras palavras, os *loadings* nada mais são que o grau de rotação dos eixos principais.

Os *escores* e os *loadings* são obtidos através do desenvolvimento da Equação 9:

$$RV = U \quad \text{eq. 9}$$

$$(RR^T)V = UR^T \quad \text{eq. 10}$$

$$(RR^T)(RR^T)^{-1}V = UR^T(RR^T)^{-1} \quad \text{eq. 11}$$

$$V = U R^T (RR^T)^{-1} \quad \text{eq. 12}$$

em que  $U$  são os *escores*  $R^T(RR^T)^{-1}$  são os *loadings* (BEEBE; KOWALSKI, 1987).

### 1.16 O MÉTODO DOS MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS (PLS)

A base do PLS é decompor a matriz ( $X$ ) das variáveis independentes e a matriz ( $Y$ ) das variáveis dependentes, em um produto de duas matrizes menores mais uma matriz de erro, como segue:

$$X = TP + E \quad \text{eq. 13}$$

$$Y = UQ + F \quad \text{eq. 14}$$

em que as matrizes  $T$  e  $U$  são chamadas de matrizes dos escores;  $P$  e  $Q$  matrizes dos *loadings*;  $E$  e  $F$  as matrizes de erro de  $X$  e  $Y$  respectivamente. Esta decomposição é muito útil nos casos em que a matriz  $X$  é mal condicionada, ou ainda, quando o número de amostras é menor que o número de variáveis independentes visto que podemos utilizar uma matriz  $T$  de dimensão inferior a da matriz  $X$  sem perda de informação útil, eliminando ruído e colinearidade dos dados.

### 1.17 UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA RAMAN NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

O uso da espectroscopia Raman em produtos alimentícios e agrícolas só foi possível devido às inovações desta técnica nos últimos anos. Este tipo de técnica apresentava problemas, como o fato de ocasionar a emissão de fluorescência e possibilidade da amostra sofrer fotodecomposição ou fotoisomeração em virtude da forte iluminação do laser na região do visível. Um outro problema era que os antigos equipamentos apresentavam dificuldades na obtenção do espectro devido a maneira como os mesmos eram construídos. O surgimento da espectroscopia Raman com transformada de Fourier, empregando laser na região do infravermelho próximo, resolveu muitos dos problemas apresentados, tornando possível a aplicação desta técnica em novas situações (OZAKI et al., 1992).

Essa técnica mostrou-se econômica, não destrutiva podendo ser utilizada largamente na indústrias de alimentos, pois é um método rápido que determina mais de um componente ao mesmo tempo (MOLLER, 2004).

Henry (1985), Law (1985) e Czuchajowska, Szczodrak e Pomeranzy (1992) tentaram determinar  $\beta$  glucagon total contido no grão de cevada através da espectroscopia no infravermelho próximo, mas os resultados obtidos não foram satisfatórios. Dewiche, Graybosch e Peterson (1999) tentaram mostrar as possibilidades do uso do infravermelho próximo e análise multivariada para detectar a translocação de cromossomos do trigo e grão de centeio com maior precisão que quando feita na farinha da semente do trigo. O NIR (Infravermelho próximo) também tem sido usado para identificar a amilose e amilopectina em variedades de trigo (WANG; DOWELL; LANCEY, 1999). Campbell et al. (2000) usou o NIR para classificar o amido de variedades de milho utilizando PCA e PLS em diferentes intensidades. Também tem sido usado para determinar as proteínas e o teor de umidade dos cereais industrializados (MOLLER, 2004).

A espectroscopia Raman é adequada para investigar a concentração das amostras de sólidos, principalmente em produtos alimentícios compostos por géis e emulsões. Os estudos realizados mostraram que a técnica pode ser usada para uma análise rápida do grau de insaturação de lipídeos e diferenciação dos componentes de proteínas.

Em 1991, Van de Voort e Ismail revelam as vantagens do emprego da espectroscopia por reflexão atenuada (ATR) na análise quantitativa do leite. No ano seguinte, Van De Voort (1992) descreve as principais aplicações da espectroscopia ATR na análise do leite, carne, óleos, gorduras, manteiga, margarina leite condensado e frutas, avaliando tanto aspectos quantitativos quanto qualitativos, com a certificação de qualidade.

## **2 OBJETIVO**

Diferenciar soja convencional de soja transgênica através de espectroscopia Raman e métodos quimiométricos.

### 3 PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 MATERIAL E MÉTODOS

##### 3.1.1 Amostras

A soja utilizada neste trabalho foi fornecida pela Embrapa, safra 2005, cultivada na fazenda experimental da região de Uberaba-MG.

Foram utilizados quatro tipos de soja:

- Soja convencional (não transgênica): denominada Conquista (MG / BR46) mais plantada no Brasil atualmente;
- Soja BRS valiosa RR (soja geneticamente modificada, essencialmente derivada da Conquista);
- Soja Msoy\_ 8888\_ RR (soja geneticamente modificada);
- Soja Sylvania \_ RR (soja geneticamente modificada);

A denominação dada as diversas variedades de soja utilizadas no trabalho, foram assim descritas pela Embrapa Soja e segundo o pesquisador Neylson Eustáquio (comunicação verbal, 2005), a soja BRS valiosa RR é a espécie mais próxima da soja convencional, recebendo apenas um par de genes. As outras duas variedades utilizadas Msoy e Sylvania receberam uma quantidade de genes maior que Valiosa. Não sendo relatada a quantidade exata.

### 3.1.2 Preparo das amostras

As amostras foram divididas em dois grupos, denominados de A e B.

- Grupo A (composto por 4 tipos de soja – sendo uma convencional e 3 tipos de soja transgênica): as amostras foram pesadas e em seguida trituradas, sem nenhum tratamento prévio.

Foi usado para tal procedimento liquidificador doméstico, tendo como resultado uma farinha amarela clara, com odor característico.

- Grupo B (composta por 4 tipos de soja, sendo uma convencional e 3 tipos de soja transgênica): as amostras foram submetidas à calor seco (180° C) em forno doméstico durante 25 minutos , mexendo a cada 5 minutos para não queimar.

A quantidade total utilizada foi de 250 g (de convencional) e 250 g (de cada variedade de soja transgênica). Após o processo de torrefação a soja convencional foi pesada, apresentando valor igual 235g (perda de 15 g); duas variedades de soja transgênica pesaram 240 g (com perda de 10 g após o processo de torrefação), apenas a variedade Silvania RR perdeu 5 g.

Após o processo de torrefação, as amostras foram trituradas em liquidificador doméstico até se transformarem em farinha (PEREIRA; OLIVEIRA, 2004; EMBRAPA, 2005). O resultado obtido foi de uma farinha amarela escura.

Esse processo foi realizado no mesmo dia e em uma única tentativa.

### 3.1.3 Material

Foram utilizados os seguintes equipamentos para preparo das amostras: liquidificador doméstico (Walita®), forno, fogão convencional doméstico 4 bocas (DAKO®).

Para obtenção dos espectros utilizou-se um espectrômetro Raman de baixa resolução (Raman System, Inc) com laser diodo operando no infravermelho próximo (785 nm) e detector do tipo CCD de 2048 elementos e interface gráfica desenvolvida em ambiente MATLAB™.

### 3.1.4 Obtenção dos espectros Raman da farinha de soja

Uma vez que as oito amostras estavam preparadas, sendo quatro amostras do grupo A (amostra de farinha crua) e 4 amostras do grupo B (farinha torrada), o espectrômetro foi calibrado.

A sala estava com a temperatura controlada e portas fechadas para evitar qualquer alteração no momento do experimento.

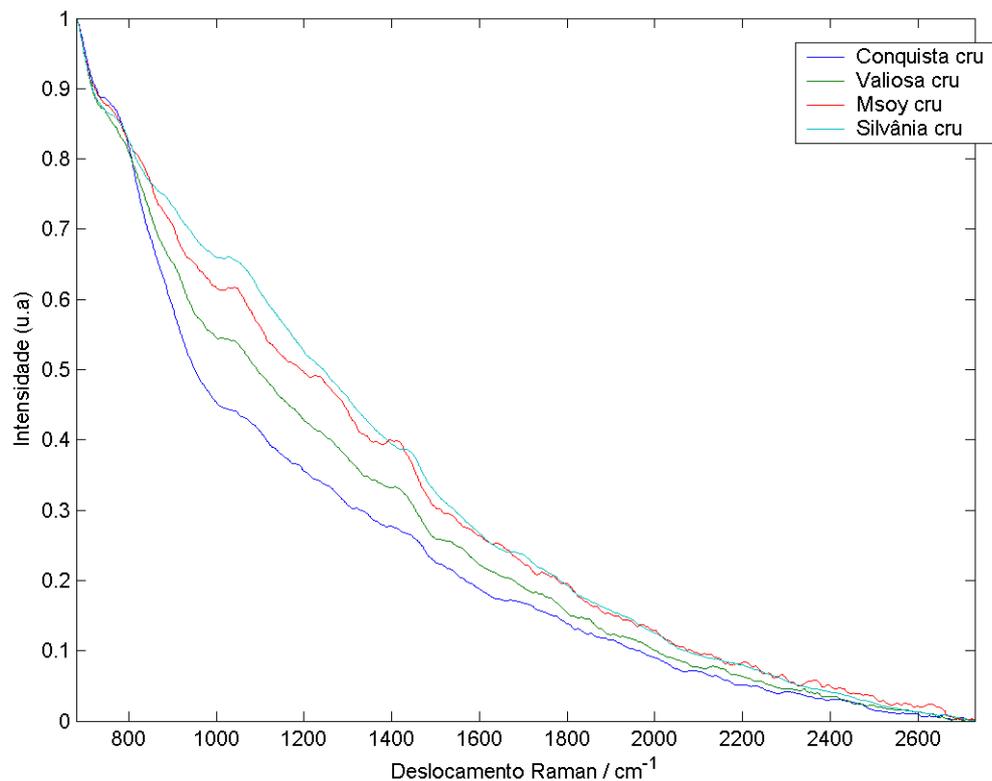
As amostras eram colocadas uma a uma com espátula em um recipiente de inox.

Para todos os tipos de amostra foram feitas correntes de escuro (a fim de eliminar ruídos e conseqüentemente alterar os resultados).

Posteriormente foi obtido o espectro final. Então, os dados foram tratados e foram aplicados cálculos matemáticos e os resultados são apresentados a seguir.

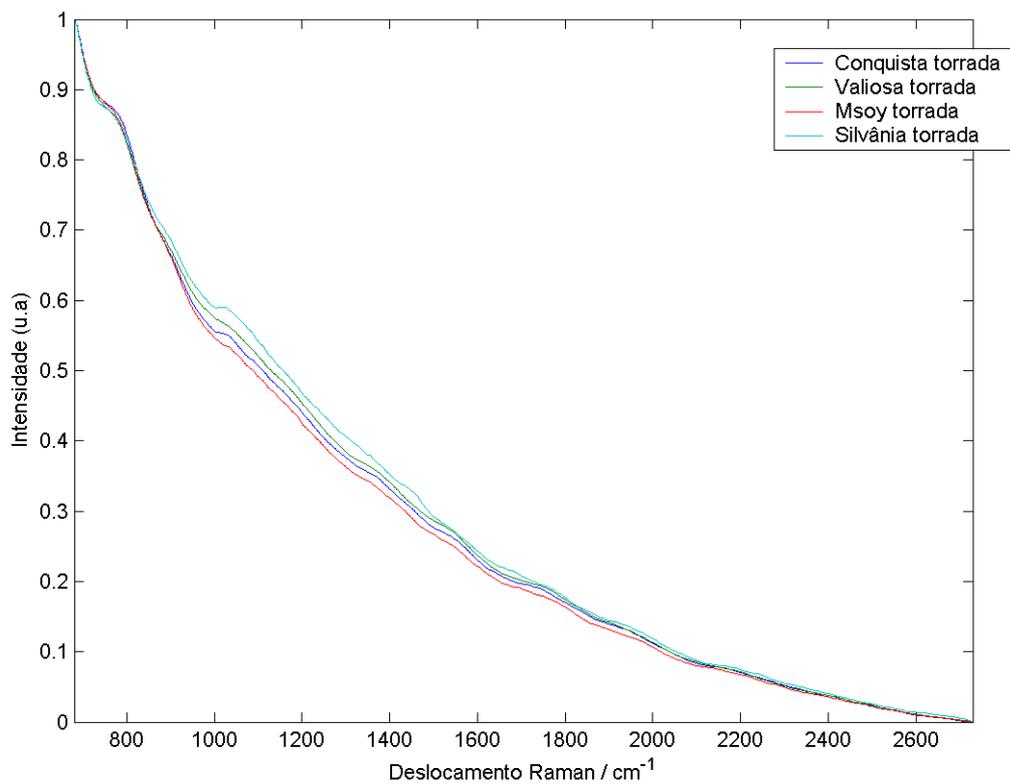
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste item desta dissertação demonstraremos através de espectros Raman e métodos quimiométricos as possíveis diferenças entre soja modificada geneticamente e soja convencional. Se observarmos somente o fenótipo dos dois tipos de soja citados, não seremos capazes de estabelecer diferenças entre elas. Todavia, se observarmos suas constituição química através da espectroscopia Raman as diferenças são um pouco mais visíveis e só a partir da aplicação dos cálculos matemáticos que ela se torna evidente.



**Figura 10** – Espectros Raman da Farinha crua de soja não transgênica (soja conquista, linha azul) e das farinhas de soja transgênicas linhas verde, azul e vermelha

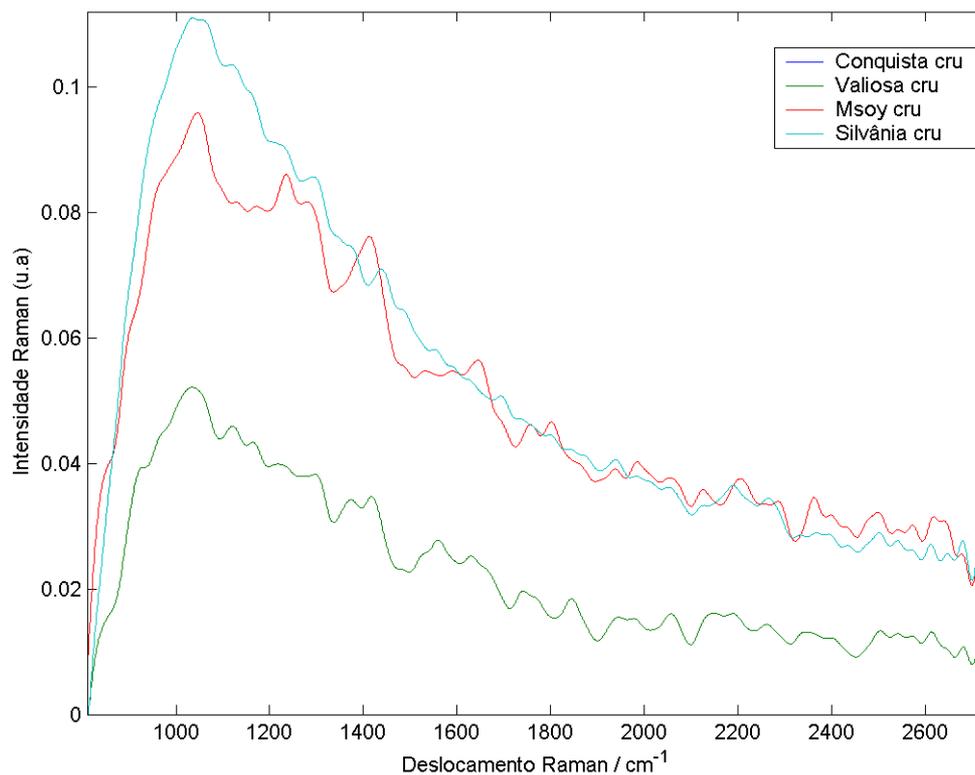
Fazendo uma análise da Figura 10, não há nenhuma revelação, uma vez que os espectros Raman são muito semelhantes. Assim sendo, não é possível afirmar que existem diferenças entre as farinhas de soja crua transgênica ou não. A situação torna-se ainda mais complexa quando observamos os espectros das farinhas de soja torradas, apresentados na Figura 11, como segue:



**Figura 11** – Espectros Raman da Farinha torrada de soja não transgênica (soja conquista, linha azul) e das farinhas de soja transgênicas linhas verde, azul e vermelha.

Neste espectro, não é possível observar diferenças entre as variedades transgênicas e a não transgênica. Tal fato deve-se possivelmente ao processo de torrefação, o qual causa perda de lipídios e desnaturação de proteínas, tornando as diferenças entre os tipos de soja ainda menores. Assim sendo, devemos utilizar métodos quimiométricos para se obter informação útil destes conjuntos de espectros Raman.

Um método muito útil é o método de ortogonalização de Gram-Schmidt. Neste método escolhemos um espectro como espectro de referência e fazemos a ortogonalização em relação a ele, o espectro de referência em nosso caso é o espectro da soja não transgênica. Deixando a matemática de lado por um instante, o que se faz no método de Gram-Schmidt é “remover” o espectro da soja não transgênica dos espectros das sojas transgênicas. Fazendo-se isso, obtemos as diferenças entre a soja normal e a soja transgênica, nos casos em que este fato ocorrer. Na Figura 12, a seguir, apresentamos os espectros tratados pelo método de Gram-Schmidt para a farinha de soja crua e para a farinha de soja torrada.

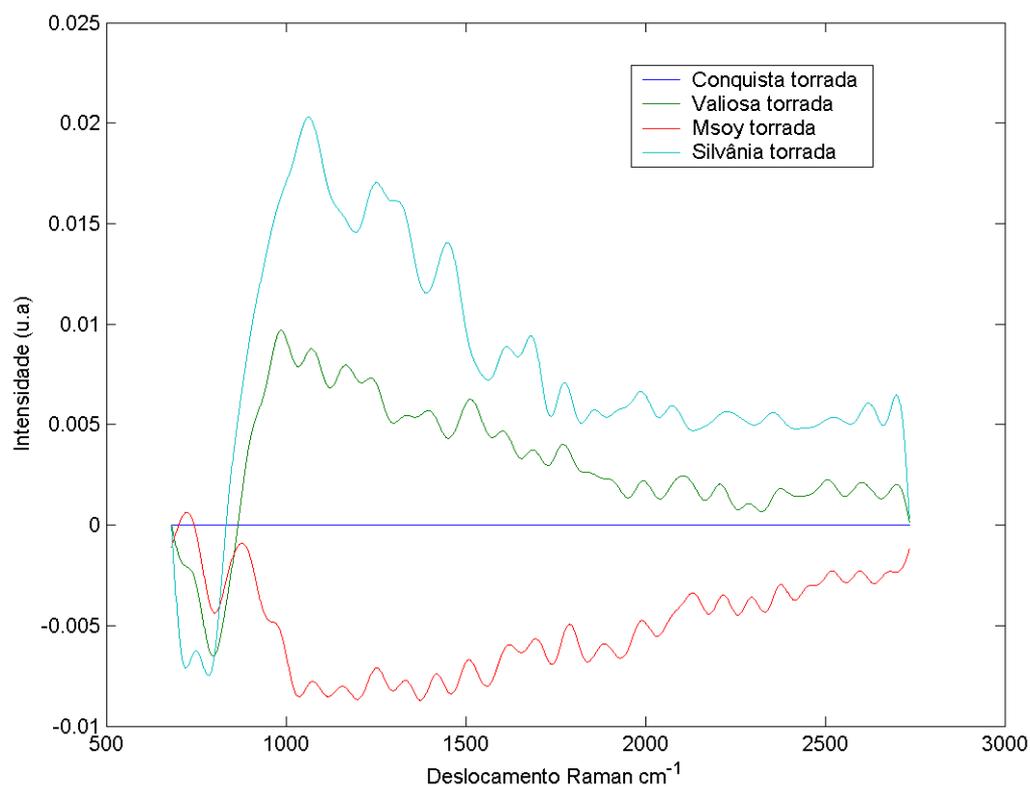


**Figura 12** – Espectros Raman tratados pelo método de Gram-Schmidt, para as farinhas soja crua.

Uma inspeção visual rápida dos espectros da Figura 12 é possível observar claramente que as farinhas de soja transgênicas são diferentes das farinhas de soja não

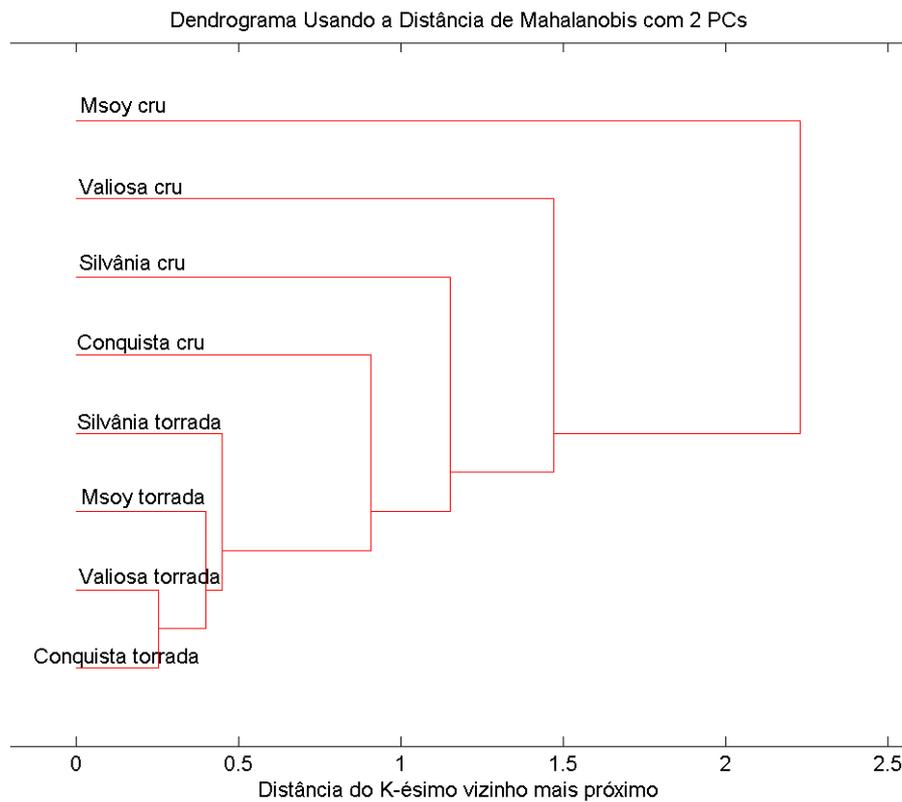
transgênica e quanto a isso é possível traçar discussões pertinentes. Observando a Figura 12 podemos concluir que o método de Gram-Schmidt realmente funciona muito bem neste caso, haja vista que a referência utilizada no método, isto é, o espectro Raman da farinha de soja crua, da variedade conquista (não transgênica) foi removida completamente do conjunto de espectros, restando somente as variedades transgênicas. Uma vez que mesmo após a aplicação do método de Gram-Schmidt ainda temos espectros das variedades transgênicas, isto nos indica que a inserção do gene que torna a soja transgênica resistente ao pesticida alterou-se também outras características químicas da soja transgênica, como é possível observar no espectro apresentado na Figura 12. Analisando os espectros da Figura 12 podemos observar que os teores de lipídeos observados nos comprimentos de onda em torno de  $850\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento da ligação  $\nu(\text{C-O-C})$  estão alterados, podemos supor que os teores de lipídios estão aumentados nas sojas, contudo não podemos afirmar categoricamente este fato, pois para isto deveríamos executar outras técnicas analíticas. Também é possível observar que os teores de proteínas estão alterados na soja transgênica uma vez que existem bandas de absorção na região em torno de  $1680\text{ cm}^{-1}$  indicando a presença de proteínas. Novamente neste caso não podemos afirmar categoricamente que houve um aumento no teor de proteínas, mas uma alteração neste teor. Restringiremos nossa análise as proteínas e aos lipídios, entretanto é esperada uma mudança no teor e tipo de flavonóides uma vez que o espectro é alterado completamente. Para confirmarmos tal suposição deveríamos utilizar técnicas de análise estrutural como, por exemplo, RMN-H, o que está além desta dissertação de mestrado.

Até o momento fizemos uma análise detalhada dos espectros da farinha de soja crua, passaremos a seguir para a análise de farinhas torradas de soja transgênica e não transgênica.



**Figura 13** – Espectros Raman tratados pelo método de Gram-Schmidt, para as farinhas soja torrada.

Analisando os espectros da Figura 13 podemos observar, novamente que as variedades transgênicas (Valiosa, Msoy e Silvânia) são diferentes da variedade não transgênica (Conquista). Neste caso também temos lipídios e proteínas em quantidades diferentes daquela observada na soja convencional uma vez que temos os mesmos as mesmas bandas de absorção observadas na análise feita para a farinha de soja crua, todavia devemos observar que a escala no caso das farinhas torradas é menor, possivelmente a perda de lipídios e proteínas ocorridas durante o processo de torrefação, este fato pode ser verificado fazendo-se a análise de agrupamento ou dendograma apresentado na Figura 14.



**Figura 14** - Análise Hierárquica (HCA) das farinhas utilizadas neste trabalho

Na Figura 14 podemos observar claramente que as farinhas torradas formam um agrupamento disto das farinhas cruas.

Além dos fatos citados anteriormente, deve ocorrer também nas sojas transgênicas e não transgênicas alterações nas quantidades e tipos de flavonóides presentes na soja, todavia estas são de difícil interpretação em espectros Raman, dada complexidade do material analisado.

## CONCLUSÃO

Por meio desta pesquisa, podemos concluir seguramente que a inserção do gene que torna a soja transgênica resistente ao pesticida, altera também outras propriedades da soja como, por exemplo, o teor de lipídeos e proteínas. Outros componentes da soja como as isoflavonas e fatores antinutricionais, também devem ser estudados posteriormente pois podem diminuir ou potencializar a ação dos mesmos. Isso ocorre possivelmente devido a inserção do gene em uma dada posição ocorrer de forma não absolutamente controlável, fazendo com que expresse outras características além da desejada. Estudos desta natureza não são normalmente utilizados na avaliação da qualidade de novas variedades de soja desenvolvidas através de técnicas convencionais de melhoramento genético, trabalha-se apenas com a hipótese que a incorporação genética da tolerância ao herbicida não altera sua saudabilidade.

Assim produtos comercializados com soja transgênica deveriam no mínimo apresentar rótulos indicando que nem todas as propriedades do produto são conhecidas, após a inserção do gene utilizado para controlar uma determinada propriedade.

## REFERÊNCIAS

ALBERTAZZI, P.; PANSINI, F.; BONACCORSI, G. et al. The effect of dietary soy supplementation on hot flushes. **Obstet. Gynecol.**, n. 9, p. 6-11, 1998.

ANDERSON, J. J. B.; GARNER, S. C. The effects of phytoestrogens on bone. **Nutr. Res.**, n. 17, p. 1617-1632, 1997.

ANDERSON, J. W.; JOHNSTONE, B. M.; COOK-NEWELL, M. E. Meta analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. **New Engl. J. Med.**, n. 333, p. 276-282, 1995.

ARFKEN, G. B. **Weber mathematical Methods for Physicists**. 4. ed. New York: Academia Press, 1995.

AVIES, S. J. et al. Partial substitution of fish meal and full- fat soybean meal with gluten and influence of lysine supplementation in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (walbum). **Aquacult. Res.**, Oxford, v. 28, p. 317-328, 1997.

AZEVEDO, J. L.; FUNGARO, M. H. P.; VIEIRA, C. M. L. Transgênicos e evolução dirigida. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, v. 7, n. 2, p. 451-464, jul./out. 2000.

ANZFA. Australia New Zealand Food Authority. GM foods and the consumer – ANZFA's safety assessmt process for genetically modified foods. ANZFA Occasional Paper Series, june 2000. Disponível em: <[http://www.anzfa.gov.au/documents/pub02\\_00.pdf](http://www.anzfa.gov.au/documents/pub02_00.pdf)> Acesso em: 18 jul. 2000.

BEEBE, K. R.; KOWALSKI, K. R. **Analytical Chemistry**, v. 59, p. 17, 1987.

BERTOL, T. R. et al. Proteínas de soja processadas de diferentes modos em dietas para desmame de leitões. **Rev. Soc. Brs. Zootec.**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 150-157, 2001.

BISOTTO, V.; FARIAS, A. D. Algumas considerações sobre a cultura da soja. In: REUNIÃO DE PESQUISA DA SOJA NO RIO GRANDE DO SUL E EM SANTA CATARINA.

FUNDACEP-FECOTRIGO. Cruz Alta- RS: 2002. p. 6-19.

BONATO, E. R.; BONATO, L. V. A soja no Brasil: história e estatística. Londrina: Embrapa – CNPSO, 1987. 61p. (Embrapa – CNPSO, documento 21).

BOREM, A. Desenvolvimento de alimentos GM. In: COSTA, N. M. B.; BOREM, A.; ROSA, C. O. B. **Alimentos transgênicos: saúde e segurança**. Viçosa: Folha de Viçosa, 2005.

BRACEWELL, R. **The fast Fourier Transform e its application**. New York: McGraw-Hill, 1965.

BRASIL. Decreto nº3871, de 18 de julho de 2001. Disciplina a rotulagem de alimentos que contenham ou sejam produzidos com organismos geneticamente modificados e dá outras providências. Diário Oficial, Brasília, Seção 2, p. 2, 19 de jun. 2001.

\_\_\_\_\_. Decreto nº 4680, de 24 de abril de 2003. Regulamenta o direito à informação quanto aos alimentos e ingredientes destinados ao consumo humano e animal que contenham ou sejam produzidos a partir de OGM e dá outras providências. Diário Oficial, Brasília, Seção 1, p. 1, 28 de abr. 2003.

BURKS, A. W.; FUCHS, R. Assessment of the endogenous allergens in glyphosate – tolerant and commercial soybean varieties. **J. Allergy Clin. Immunology**, v. 96, p. 1008- 1010, 1995.

BUTKOV, E. **Física matemática**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982.

CAMPBELL, M. R.; SYKES, J.; GLOVER, D. V. Classification of single and double mutant corn endosperm genotypes by near infrared transmittance spectroscopy. **Cereal Chemistry**, v. 77, p. 774-778, 2000.

CARVALHO, M. R. B.; KIRSCHNIK, P. G.; PAIVA, K. C.; AIURA, F. C. Avaliação da atividade dos inibidores de tripsina após digestão enzimática em grãos de soja tratados termicamente. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 15, n. 3, p. 267-272, set./dez. 2002.

CONAB. Disponível em: <<http://conab.gov.br/download/safra/sojaseriehist.xls>>. Acesso em: 20 set. 2005.

CZUCHAJOWSKA, Z.; SZCZODRAK, J.; POMERANZY, Y. Characterization and estimation of barley polysaccharides by near –infrared spectroscopy. I. Barleys, starches and  $\beta$ -D- glucans. **Cereal chemistry**, n. 69, p. 413-418, 1992.

DALL'AGNOL. The impact of soybeans on the Brazilian economy. **AGJacto**, n. 2, p. 16-17, Aug. 2000.

DELWICHE, S. R.; GRAYBOSCH, R. A.; PETERSON, C. J.; Identification of wheat lines possessing the 1AL,1RS or 1BL,1RS wheat – rye translocation by near – infrared reflectance spectroscopy. **Cereal Chemistry**, v. 76, p. 255-260, 1999.

EMBRAPA. Disponível em: <[http://cnpso.embrapa.br/receitas/mostrar\\_receitas](http://cnpso.embrapa.br/receitas/mostrar_receitas)>. Acesso em: 12 abr. 2005.

EMBRAPA. Disponível em: <[http://cnpso.embrapa.br/index.php?op\\_page104ecod\\_pai=152](http://cnpso.embrapa.br/index.php?op_page104ecod_pai=152)>. Acesso em: 20 set. 2005

ERDMAN, J. W.; POTTER, S. M. Soy and bone health. **The soy connection**, v. 5, n. 2, p. 1-4, 1997.

EWING, G. W. **Métodos instrumentais de análise química**. São Paulo: Edgard Blücher, 1972.

GEMPERLINE, P. J. Chemom. AndIntel. **Lab Sys**, v. 39, p. 29, 1997.

GUERRANTE, R. S. **Transgênicos uma visão estratégica**. Rio de Janeiro: Interciências, 2003.

HENRY, R. J. Near – Infrared Reflectance analysis of carbohydrates and its application to the determination of ( 1-3 ), ( 1- 4 ) -  $\beta$ -D- glucan in barley. **Carbohydrate Research**, v. 141, p. 13-19, 1985.

HODGSON, J. M.; PUDDEY, I. B.; BEILIN, L. J.; MORIN, T. A.; CROFT, K. D. Supplementation with isoflavonoid phytoestrogens does not alter serum lipid concentrations: A randomized controlled trial in humans. **J. Nutr.**, v. 128, p. 728-732, 1998.

IBGE. Estudo Nacional da Despesa Alimentar: tabela de composição de alimentos. 4. ed. Rio de Janeiro, 1996.

KUIPER, H. A.; KLETER, G. A.; NOTEBORN, H. P. J.; KOK, E. J. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. **The Plant Journal**, v. 27, n. 6, p. 503-528, 2001.

LAW, D. P. Selection for malting quality in barley breeding using near infrared reflectance. In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON NEAR INFRARED REFLECTANCE SPECTROSCOPY, 1., 1985. **Proceedings...** Melbourne, Austrália: Royal Australian Chemical Institute, Cereal Chemistry Division, 1985.

LAJOLO, F. M.; NUTTI, M. R. **Transgênicos: base científica da sua segurança.** São Paulo: SBAN, 2003.

LIPSCHTZ, S. **Álgebra linear.** 2a. ed. McGraw-Hill do Brasil, 1994. (Coleção Schaum).

MARTES, H.; NAES, T. **Multivariate calibration.** Chichester: John Wiley & Sons, 1989.

MELO, F. H. Expansão agrícola na região dos cerrados In: **Gazeta Mercantil**, 21 ago. 2001. Oil World. Annual de 2003 (ISTA). Disponível em: <<http://www.oilworld.biz/app.php>>. Acesso em: 18 jul. 2004.

MELLO, C. **Redes neurais e técnicas de pré-processamento de sinais em espectroscopia de reflectância difusa no infravermelho próximo.** 1997. Tese (Doutorado em Química) - UNICAMP, Instituto de Química, Campinas.

MENASCHE, R. Os grãos da discórdia e o trabalho da mídia. **Opinião Pública**, Campinas, v. 11, n. 1, mar. 2005.

MESSINA, M.; BARNES, S. The role of soy products in reducing risk of cancer. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 83, p. 541-546, 1991.

MESSINA, M.; MESSINA, V.; STCHELL, K. The simple soybean and your health. **Garden City Park Avery**, p. 107-112, 1994.

MESSINA, M.; BARNES, S.; SETCHELL, K. D. R. Phitoestrogens and breast cancer. **Lancet.**, v. 350, p. 971-972, 1997.

MIURA, E. M. Y.; BINOTTIM, A. R.; CAMARGO, D. S. et al. Avaliação biológica de soja com baixa atividade de inibidores de tripsina e ausência do inibidor Kunitz. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 51, n. 2, p. 1-8, 2001.

MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A soja no Brasil.** Campinas: ITAL, 1981. 1062p.

MOLLER, B. P. **Screening analyses for quality criteria in barley – Predicting**

**germinative and physical-chemical properties by spectroscopy evaluated by multivariate data analysis.** Thesis PhD. The Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark, 2004.

MONTEIRO, M. R. P.; COSTA, N. M. B.; OLIVEIRA, M. G. A. et al. Qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do inibidor de tripsina Kunitz e das isoenzimas lipoxigenases. **Rev. Nut. Campinas**, v. 17, n. 2, p. 195-205, abr./jun. 2004.

MORAIS, A. A. C.; SILVA, A. L. Valor nutritivo e funcional da soja. **Rev. Bras. de Nutr. Clínica**, v. 15, n. 2, p. 306-315, 2000.

NESTLE, P. J.; YAMASHITA, T.; SASAHARA, T. et al. Soy isoflavones improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal and perimenopausal women. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 17, p. 3392-3398, 1997.

NODORI, R. O.; GUERRA, M. P. Implicações dos Transgênicos na sustentabilidade ambiental e agrícola. **História, Ciências e Saúde – Manguinhos**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 2, p. 451-464, jul./out. 2000.

NODORI, R. O.; GUERRA, M. P. Plantas transgênicas e seus produtos: impactos , riscos e segurança alimentar. **Rev. Nut.**, v. 16, n. 1, p. 105-116, 2003.

NUSSBAUMER, J. H. **The fast fourier transform e convolution algorithms.** New York: Springer-Verlag, 1982.

OZAKI, Y.; CHAO, R.; IKEGAYA, K. et al. Potencial of near – infrared fourier Transform Raman Spectroscopy in food analysis. **Appl. Spectrosc.**, v. 46, p. 1503-1507, 1992.

ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética:** seleção e preparo de alimentos. 7. ed. São Paulo: Atheneu, 2001.

PADGETTE, S. R.; TAYLOR, N. B.; NIDA, D. L. et al. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. **Journal of Nutrition**, v. 126, p. 702-726, 1996.

PEREIRA, C. S.; OLIVEIRA, F. B. **Soja, alimento e saúde:** valor nutricional e preparo. Viçosa: UFV, 2004.

PESSOA, H. L. F.; COSTA, M. J. C.; COSTA, F. E. C. et al. Alimentos Transgênicos: uma visão atual. **Revista Bras. Nut. Clínica.**, v. 16, p. 121-124, 2001.

PHILLIPI, S. T. **Nutrição e técnica dietética**. Barueri: Manole, 2003.

POTTER, S. M. Soy protein and cardiovascular disease: the impact of bioactive components in soy. **Nutr. Rev.**, v. 56, n. 8, p. 231-235, 1998.

RAYAS-DUARTE, P.; BERGERON, D.; NIELSEN, S. S. Screening of hest – sable inhibitor trypsins in dry beans and their partial purification from great Northern beans (*Phaseolus vulgaris*) using anhydrotrypsin sepharose affinity cromatography. **Journal Agrigult. Food Chemistry**, Washington, D. C., v. 40, n. 2, p. 32-42, 1992.

SALA, O. **Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho**. São Paulo: UNESP, 1996.

SGARBIERI, V. C. **Propriedades físico – químicas e nutricionais de proteína de feijão (*Phaseolus vulgaris*) variedade Rosinha G2**. 1979. 207 p. Tese (Livre Docência) - UNICAMP, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Campinas.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

VAN DE VOORT, F. R. Fourier Transform Infrared spectroscopy applied to food analysis. **Food Research Internacional**, v. 25, p. 397-403, 1992.

VASCONCELOS, I. M.; MAIA, A. A. B.; SIEBRA, E. A. et al. Nutricional study of two Brazilian soybean (*Glycine max* ) cultivars differing in the contents of antinutritional and toxic proteins. **J. Nutr. Biochem.**, v. 12, p. 55-62, 2001.

VERRIPS, C. T.; WARMOESKERKEN, M. M. C. G.; POST, J. A. General introduction to the importance of genomics in food biotechnology and nutrition. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 12, p. 483-487, 2001.

WANG, D.; DOWELL, F. E.; LANCEY, R. E. Predicting the number of dominant R- alleles in single wheat kernels using visible and near – infrared reflectance spectra. **Cereal Chemistry**, v. 76, p. 6-8, 1999.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)